

УДК 636.082

DOI: 10.33284/2658-3135-103-4-96

Влияние однонуклеотидных полиморфизмов LEP C528T и LEP C73T гена лептина на оценку качества туш и выход мясных отрубов у коров и тёлочек абердин-ангусской породы

Н.П. Герасимов, В.И. Колпаков, К.М. Джуламанов, А.А. Лапина

Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук (г. Оренбург)

Аннотация. Важнейшей задачей мясного скотоводства является выявление молекулярных маркеров, связанных с ростом и развитием, формированием мясной продуктивности крупного рогатого скота, которые можно использовать в селекционно-племенной работе. Цель исследований состояла в изучении связи однонуклеотидных полиморфизмов LEP C528T и LEP C73T гена лептина на оценку качества туш и выход мясных отрубов у коров и тёлочек абердин-ангусской породы. Исследования выполнялись на откормочной площадке и мясокомбинате ГК «Заречное» на поголовье коров (n=30) после первого отёла и тёлочек (n=50) в возрасте 20 мес. Генотипирование животных с учётом полиморфизмов LEP C528T и LEP C73T гена лептина показало неравномерность распределения туш по категориям в зависимости от генотипа. Максимальная доля (16,7 %) туш высшей оценки «Prime» была получена при убое тёлочек с генотипом LEP^{CC} (C528T), превышение относительно других вариантов гена составляло 4,2-8,3 %. При полиморфизме в области второго экзона LEP C73T наиболее желательным генотипом гена лептина является LEP^{TT}. Туши высшей категории «Prime» на 1,5 % чаще встречались среди носителей этого варианта гена лептина. Однако максимальное количество наиболее ценных туш было получено при убое особей с гетерозиготными генотипами по изучаемым полиморфизмам гена лептина. Градации «Prime» и «Top Choice» были присвоены 66,7 % и 58,8 % туш в случае нуклеотидных замен LEP C528T и LEP C73T соответственно. Таким образом, нуклеотидные замены в последовательности гена лептина LEP C528T и LEP C73T связаны с формированием мраморности и выходом мясных отрубов у коров и тёлочек абердин-ангусской породы.

Ключевые слова: корова, тёлочка, абердин-ангусская порода, MAS-селекция, генотип, однонуклеотидный полиморфизм, ген лептина, качество мяса, мясная продуктивность.

UDC 636.082

Influence of single nucleotide polymorphisms LEP C528T and LEP C73T of the leptin gene on the assessment of the quality of carcasses and the yield of meat cuts in the Angus cows and heifers

Nikolay P Gerasimov, Vladimir I Kolpakov, Kinispay M Dzhulamanov, Alexandra A Lapshina

Federal Research Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of the Russian Academy of Sciences (Orenburg, Russia)

Summary. The most important task of beef cattle breeding is the identification of molecular markers associated with the growth and development, the formation of beef productivity of cattle, which can be used in selection and breeding work. The aim of the research was to study the relationship between single nucleotide polymorphisms LEP C528T and LEP C73T of the leptin gene to assess the quality of carcasses and the yield of meat cuts in cows and heifers of the Angus breed. The studies were carried out at the feedlot and meat processing plant of the Zarechnoye Group of Companies on the livestock of cows (n = 30) after the first calving and heifers (n = 50) at the age of 20 months. Genotyping of animals taking into account the polymorphisms LEP C528T and LEP C73T of the leptin gene showed an uneven distribution of carcasses by categories depending on the genotype. The maximum proportion (16.7%) of carcasses of the highest rating "Prime" was obtained after slaughter of heifers with the LEP^{CC} genotype (C528T), the excess relative to other gene variants was 4.2-8.3%. In the case of polymorphism in the region of the second exon of

LEP C73T, the most desirable genotype of the leptin gene is LEP^{TT}. Carcasses of the highest category "Prime" were 1.5% more frequent among carriers of this variant of the leptin gene. However, the maximum amount of the most valuable carcasses was obtained by slaughtering animals with heterozygous genotypes for the studied polymorphisms of the leptin gene. The "Prime" and "Top Choice" grades were assigned to 66.7% and 58.8% of the carcasses in the case of the LEP C528T and LEP C73T nucleotide substitutions, respectively. Thus, nucleotide substitutions in the sequence of the leptin gene LEP C528T and LEP C73T are associated with the formation of marbling and the yield of meat cuts in the Angus cows and heifers.

Key words: cow, heifer, Angus breed, MAS selection, genotype, single nucleotide polymorphism, leptin gene, meat quality, meat productivity.

Введение.

Селекция с помощью маркеров (MAS) – это отбор животных с высоким генетическим потенциалом продуктивности с использованием однонуклеотидных полиморфизмов, полиморфизмов длины рестрикционных фрагментов и микросателлитов. По мнению Rocha JL с коллегами (1992), выявление степени генетического эффекта маркера на развитие хозяйственно-полезного признака будет способствовать повышению точности отбора высокоценных животных. Традиционная селекция по множеству экономически значимых признаков затрудняется низкой наследуемостью, сложностью и высокой стоимостью измерения селекционируемых качеств животных (Davis GP and DeNise SK, 1998). Поэтому внедрение маркер-ориентированной селекции в животноводство обеспечит значительный прогресс в селекционной работе, что будет способствовать улучшению экономической эффективности отрасли в целом (MacNeil MD and Grosz MD, 2001). На практике MAS-селекция представляет собой генотипирование животных в раннем возрасте и последующий отбор носителей желательного генотипа. При этом производители определяют генетический потенциал молодняка и выносят решение по дальнейшему использованию животных.

Важнейшей задачей мясного скотоводства за последние десятилетия стало выявление молекулярных маркеров связанных с ростом и развитием, формированием мясной продуктивности крупного рогатого скота (Dekkers JCM, 2004). Однако экспрессия количественных признаков, в том числе весовой рост и мясная продуктивность, зачастую детерминирована действием множества генов, что усложняет изучение закономерностей наследуемости и экспрессии (Zhao Q et al., 2004). Современные исследования в прикладной генетике начали использовать подход генов-кандидатов. При этом оценивается биологическая роль генов с известными физиологическими функциями на изменчивость хозяйственно-полезных признаков. После установления значительной связи изучаемых генов-кандидатов с продуктивными качествами животных их тестируют в разных популяциях и природно-климатических условиях для повышения достоверности полученных результатов.

В отечественном животноводстве данное направление исследований находится на начальном этапе своего развития. Так, внедрение молекулярно-генетических маркеров в селекционный процесс проводится в овцеводстве (Селионова М.И. и др., 2020; Deniskova TE et al., 2018), свиноводстве (Костюнина О.В. и др., 2020), молочном скотоводстве (Сермягин А.А. и др., 2020). В мясном скотоводстве также имеется некоторый опыт маркер-ориентированной селекции (Макаев Ш.А. и др., 2019; Dubovskova MP et al., 2019; Tyulebaev SD et al., 2019).

Особое внимание при организации MAS-селекции в мясном скотоводстве уделяют полиморфным вариантам гена лептина. Ген лептина локализован на 4 хромосоме крупного рогатого скота. Продуктом этого гена является гормон лептин (Stone RT et al., 1996), который синтезируется преимущественно адипоцитами. По мнению Houseknecht KL с коллегами (1998) и Baile CA с соавторами (2000), ген лептина играет роль в регуляции пищевой активности, энергетического обмена и оказывает влияние на состав тела животных.

Цель исследований.

Изучение связи однонуклеотидных полиморфизмов LEP C528T и LEP C73T гена лептина на оценку качества туш и выход мясных отрубов у коров и тёлочек абердин-ангусской породы.

Материал и методы исследований

Объект исследования. Коровы после первого отёла и тёлки в возрасте 20 мес. абердин-ангусской породы.

Обслуживание животных и экспериментальные исследования были выполнены в соответствии с инструкциями и рекомендациями Russian Regulations, 1987 (Order No. 755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C. 1996)». При выполнении исследований были предприняты усилия, чтобы свести к минимуму страдания животных и уменьшения количества используемых опытных образцов.

Схема эксперимента. Исследования выполнялись на откормочной площадке и мясокомбинате ГК «Заречное» (Рамонский район, Воронежская область, Россия). Коров после первого отёла (n=30) и тёлок в возрасте 20 мес. (n=50) группировали в зависимости от генотипа по гену лептина и полиморфизма LEP C528T и LEP C73T. Для генотипирования из цельной крови животных изолировали ДНК с помощью коммерческого набора Проба-ГС (ДНК-технология, Россия) согласно прилагаемой инструкции. Качество выделенной ДНК оценивали с помощью горизонтального электрофореза «SE-2» («Helicon», Россия) в 1,5 % агарозном геле «Agarose, Biotechnology grade» («Helicon», Россия).

Количественную полимеразную цепную реакцию проводили на Bio-Rad CFX 96 (Bio-rad, USA). Смешивали в пробирке 0,2 мл следующие компоненты: готовая смесь для ПЦР qPCRmix-HS (Евроген, Россия) – 5 мкл, 5 мкМ прямой праймер – 1 мкл; 5 мкМ обратный праймер – 1 мкл; 5 мкМ каждого из двух зондов – 1 мкл; ДНК матрица – 2 мкл; деионизованная вода – до 25 мкл. ПЦР проводили по следующему протоколу: первоначальный прогрев +37 °С в течение 5 мин; денатурация при +94 °С в течение 5 мин; далее 40 циклов: +94 °С – 15 сек; +60 °С – 1 мин.

Для генотипирования SNP использовали праймеры и зонды:

1. Для идентификации SNP в позиции 528 экзона 2 промотора гена LEP (Nkrumah JD et al., 2005) использовали разработанные ранее нуклеотидные последовательности праймеров и зондов:

F: 5'-AGGTGCCCAGGGACTCA-3';

R: 5'-CAACAAAGGCCGTGTGACA-3';

Зонд 1: FAM-CAAGCTCTAGAGCCTGTGT-BHQ1.

Зонд 2: HEX-AAGCTCTAGAGCCTATGT-BHQ1.

2. Для идентификации SNP 73C/T экзона 2 промотора гена LEP (Buchanan FC et al., 2002) использовали разработанные нами праймеры и зонды:

F: 5'-GGACCCCTGTWTCGATTCCT-3';

R: 5'-TGTCTTGATGAGGGTTTTGG-3';

Зонд 1: FAM-CTGTGCCCATCCGCAAGGTCCA-BHQ1.

Зонд 2: HEX-CTGTGCCCATCTGCAAGGTCCA-BHQ1.

Совпадение последовательности зонда и целевой последовательности ДНК приводит к амплификации, во время которой происходит расщепление и высвобождение репортерного красителя. Существенное увеличение сигнала флуоресценции для одного или другого из двух красителей указывает на гомозиготность по определённому аллелю, тогда как увеличение флуоресценции обоих красителей указывает на гетерозиготность аллеля.

Контрольный убой подопытных животных проведён на мясокомбинате ГК «Заречное» (Рамонский район, Воронежская область, Россия) в соответствии с ГОСТ Р 54315-2011 «Крупный рогатый скот для убоя. Говядина и телятина в тушах, полутушах и четвертинах». Разделку и обвалку туш проводили в соответствии с ГОСТ 31797-2012 «Мясо. Разделка говядины на отрубы». Классификацию туш, полученных от маточного поголовья, проводили в соответствии с американскими стандартами (United States Standards for Grades of Carcass Beef, 2017). Определение мраморности мясной продукции – по развитию внутримышечного жира на срезе длиннейшей мышце спины между 12 и 13 ребрами (Hale DS et al., 2013).

Оборудование и технические средства. Электронные весы «ВСП4 1000.2 А9 1515» (Россия) для взвешивания животных. Для выделения ДНК из лейкоцитов использовали набор реагентов «DIAtom™DNAprep 200» (IsoGeneLab, Москва). Для проведения полимеразной цепной реакции использовали набор qPCRmix-HS (Евроген, Россия), термоциклер Bio-Rad CFX 96 («BioRad», США), трансиллюминатор «UVT-1» («Биоком», Россия), гель-документирующая система «VITranv.1.0».

Статистическая обработка. При обработке экспериментальных данных использовали методы вариационной статистики с помощью офисного программного комплекса «Microsoft Office» с применением программы «Excel» («Microsoft», США) с обработкой данных в «Statistica 10.0» («StatSoft Inc.», США). Значимость межгрупповых различий оценивали апостериорным методом «критерий Тьюки для неравных N». Достоверными считали значения при $P \leq 0,05$.

Результаты исследований.

Оценка качества туш коров и тёлочек абердин-ангусской породы свидетельствует, что послеубойная градация значительно определяется как половозрастной группой, так и генотипом животных (рис. 1, 2).

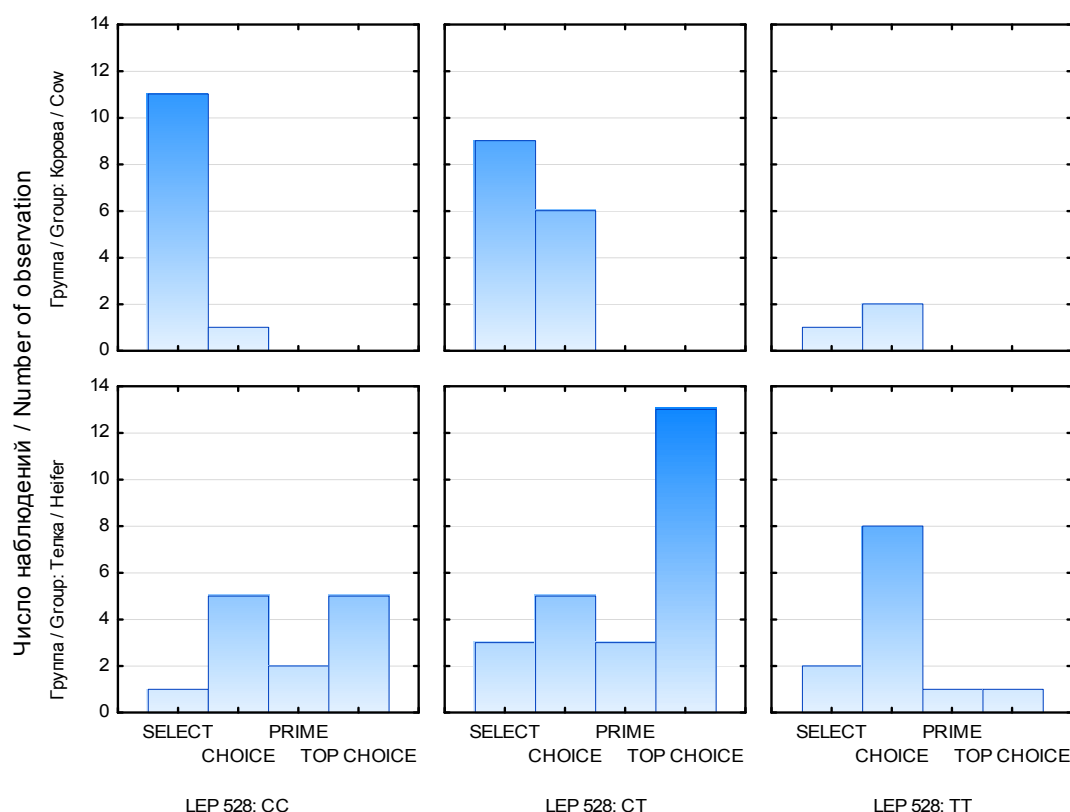


Рис. 1 – Распределение туш по категориям в зависимости от генотипа по гену LEP C528T
Figure 1 – Distribution of carcasses by categories depending on the genotype for the gene LEP C528T

Особенностью североамериканской системы определения качества говядины является комплексная оценка туш мясного скота, базирующаяся на анализе физиологической зрелости и возраста животных, мраморности и выхода мякоти. В связи с этим туши при убое коров не получали высшие категории «Top Choice» и «Prime». Напротив, среди туш, полученных от абердин-ангус-

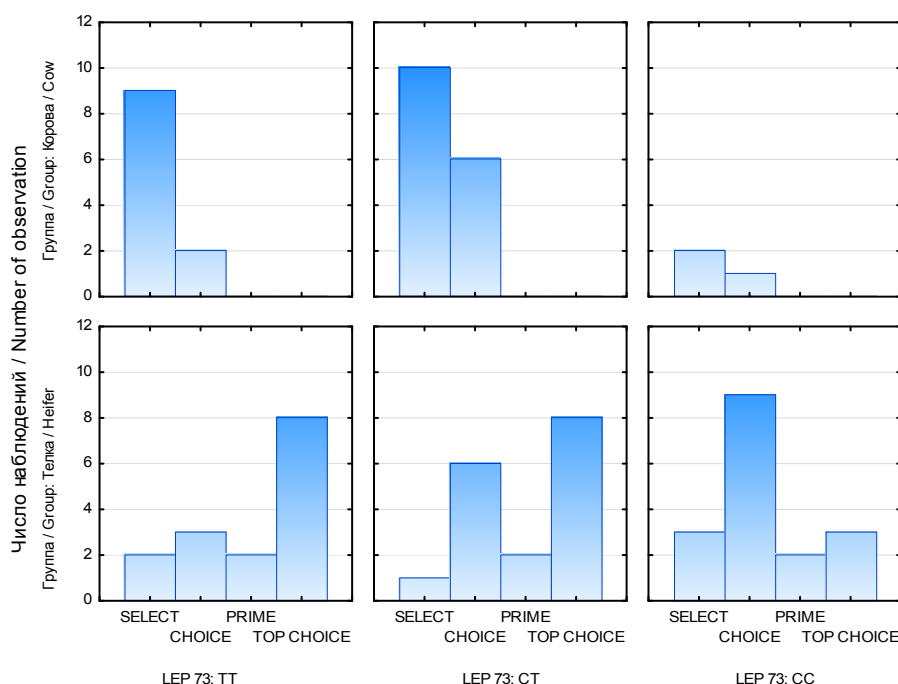


Рис. 2 – Распределение туш по категориям в зависимости от генотипа по гену LEP 73T
Figure 2 – Distribution of carcasses by categories depending on the genotype for the gene LEP 73T

ских тёлков, 12,24 % (6 гол.) соответствовали стандарту «Prime» и 38,78 % (19 гол.) – «Top Choice». Следовательно, туши молодняка характеризовались хорошей мраморностью и высоким выходом мякоти.

Генотипирование животных с учётом полиморфизмов LEP C528T и LEP 73T гена лептина показало неравномерность распределения туш по категориям в зависимости от генотипа. Так, в группе коров нуклеотидная замена в промоторной области (LEP C528T) с образованием гетерозиготного генотипа СТ ассоциировалась с лучшим качеством туш. Из 15 носителей варианта LEP^{CT} туши от 40,0 % (6 гол.) оценены категорией «Choice», тогда как среди носителей LEP^{CC} данное соотношение составляло лишь 8,3 % (1 гол.). Однако неодинаковая частота встречаемости альтернативных аллелей и ограниченная шкала категорий качества туш в группе коров не позволяют в полной мере оценить влияние полиморфизма LEP C528T на характеристику полученной продукции.

Контрольный убой тёлков и результаты генетического анализа с учётом полиморфизма гена лептина в промоторной области (LEP C528T) свидетельствуют о положительном влиянии аллели С на мраморность и выход мякоти. При этом носители LEP^{TT} отличались худшим показателем качества туш: только 16,7 % особей были оценены высшими категориями «Top Choice» (8,33 %) и «Prime» (8,33 %). При убое тёлков с гетерозиготным генотипом СТ лишь треть туш (33,3 %) отнесены к низшим классам «Select» (12,5 %) и «Choice» (20,8 %), а более половины (54,2 %) по развитию мраморности и выходу мякоти принадлежали в категории «Top Choice». Максимальная доля (16,7 %) туш высшей оценки «Prime» была получена при убое носителей генотипа LEP^{CC}, превышение относительно других вариантов гена составляло 4,2-8,3 %.

Результаты генотипирования с учётом полиморфизма LEP 73T и контрольный убой животных показали схожее распределение туш по категориям. Однако предпочтительным аллелем при нуклеотидной замене в области 2-го экзона являлся Т-аллель, приводящий к аминокислотной замене Arg→Cys.

Так, анализируя результаты убоя коров, следует отметить, что туши от носителей гетерозиготного генотипа СТ характеризовались сравнительно лучшим качеством. Среди особей LEP^{CT} 37,5 % туш были отнесены к категории «Choice», у сверстниц с вариантом гена LEP^{CC} – 18,2 %.

С точки зрения формирования мраморности и повышенного выхода мякоти у тёлочек наиболее желательным генотипом гена лептина является LEP^{TT} при полиморфизме в области второго экзона LEP C73T. Среди носителей этого варианта гена лептина на 1,5 % чаще встречались туши высшей категории «Prime» относительно сверстниц с генотипами СТ и СС. Кроме того, существенное преимущество установлено по доле туш с оценкой «Top Choice», которое составляло 6,2-35,7 %. В целом туши, полученные от тёлочек гомозиготного генотипа LEP^{TT}, на 66,7 % соответствовали высшим категориям «Top Choice» и «Prime». Также значительно поголовье с наиболее ценными тушами получено от гетерозиготного генотипа LEP^{CT} – 58,8 %.

Межгрупповые различия по формированию мраморности и выхода мякотной части туши, обусловленные генотипом по гену лептина у тёлочек, нашли выражение в разнице по массе отдельных отрубов и анатомических частей тела (табл. 1, 2). При этом максимальная массивность туш установлена у гетерозиготных тёлочек по изучаемым полиморфизмам гена лептина. Наиболее выраженное превосходство по массе охлаждённой туши зафиксировано при группировке животных по полиморфизму LEP C528T, которое достигало 7,8-9,6 кг (2,52-3,12 %; P≥0,05) относительно гомозиготных СС и ТТ особей.

Таблица 1. Результаты обвалки передней четвертины туш от тёлочек разных генотипов для розничной торговли (X±Sx), кг

Table 1. Results of deboning of forequarter carcasses from heifers of different genotypes for retail trade (X±Sx), kg

Показатель/Indicator	Полиморфизм гена лептина/ <i>Leptin gene polymorphism</i>					
	LEP C528T			LEP C73T		
	СС	СТ	ТТ	СС	СТ	ТТ
Масса охлажденной туши / <i>Cooled carcass weight</i>	307,3±5,39	316,9±4,40	309,1±4,08	311,7±4,61	314,3±5,41	311,8±4,79
Голяшка без кости / <i>Shank meat</i>	11,24±0,197	11,60±0,161	11,31±0,149	11,41±0,169	11,50±0,198	11,41±0,175
Мраморная говядина Биф-Стикс / <i>Beef Steaks</i>	1,20±0,021	1,24±0,017	1,21±0,016	1,22±0,018	1,23±0,021	1,22±0,019
Межрёберное мясо / <i>Intercostal Meat</i>	1,57±0,028	1,62±0,022	1,58±0,021	1,59±0,024	1,60±0,028	1,59±0,024
Подлопаточный отруб / <i>Chuck Eye Roll</i>	8,30±0,146	8,56±0,119	8,35±0,110	8,42±0,124	8,49±0,146	8,42±0,129
Нижняя часть реберного отруба / <i>Bottom rib cut</i>	6,98±0,122	7,19±0,100	7,02±0,092	7,08±0,104	7,13±0,123	7,08±0,109
Наружная часть лопатки / <i>Top Blade</i>	3,56±0,063	3,68±0,051	3,58±0,047	3,62±0,053	3,65±0,063	3,62±0,056
Задняя часть лопатки / <i>Clod</i>	5,81±0,102	5,99±0,083	5,84±0,077	5,89±0,087	5,94±0,102	5,89±0,091
Передняя часть лопатки / <i>Chuck Tender</i>	2,06±0,036	2,12±0,030	2,07±0,027	2,09±0,031	2,11±0,036	2,09±0,032
Вырезка из лопатки / <i>Shoulder Tender</i>	0,34±0,006	0,35±0,050	0,34±0,004	0,34±0,005	0,35±0,006	0,34±0,005
Филей подлопаточной части / <i>Chuck Roll</i>	3,47±0,061	3,58±0,050	3,49±0,046	3,52±0,052	3,55±0,061	3,52±0,054
Грудной отруб / <i>Brisket, Deckle Off</i>	11,59±0,203	11,95±0,166	11,65±0,154	11,75±0,174	11,85±0,204	11,75±0,181
Стейк «Флэнк» / <i>Flank Steak</i>	1,41±0,025	1,46±0,020	1,42±0,019	1,43±0,021	1,45±0,025	1,43±0,022
Сырьё для гуляша / <i>Meat for goulash</i>	1,47±0,026	1,52±0,021	1,48±0,020	1,50±0,022	1,51±0,026	1,50±0,023
Стейк «Вегас Стрип» / <i>Vegas Strip Steak</i>	1,08±0,019	1,11±0,015	1,08±0,014	1,09±0,016	1,10±0,019	1,09±0,017
Стейк «Мачете» / <i>Outside Skirt</i>	1,04±0,018	1,08±0,015	1,05±0,014	1,06±0,016	1,07±0,018	1,06±0,016
Рёбра кальби / <i>Kalbi/Flanken Style Ribs</i>	3,60±0,063	3,71±0,052	3,62±0,048	3,65±0,054	3,68±0,063	3,64±0,056
Стейк из диафрагмы / <i>Inside Skirt</i>	1,81±0,032	1,87±0,026	1,82±0,024	1,84±0,027	1,85±0,032	1,84±0,028
Грудинка для запекания / <i>Plate Meat</i>	0,98±0,017	1,01±0,014	0,99±0,013	1,00±0,015	1,01±0,017	1,00±0,015
Стейк мясника / <i>Hanging Tender</i>	0,55±0,010	0,57±0,008	0,56±0,007	0,56±0,008	0,57±0,010	0,56±0,009
Котлетное мясо / <i>Trimnings</i>	64,94±1,140	66,97±0,930	65,31±0,862	65,87±0,974	66,41±1,140	65,88±1,012

Полиморфизм LEP C73T гена лептина в меньшей степени влиял на различия тёлочек по массе туши, межгрупповая разница варьировала в пределах 2,5-2,6 кг (0,80-0,83 %; P≥0,05).

Таблица 2. Результаты обвалки задней четвертины туш от тёлочек разных генотипов для розничной торговли (X±Sx), кг
 Table 2. Results of deboning of the hindquarter of carcasses from heifers of different genotypes for retail trade (X±Sx), kg

Показатель/Indicator	Полиморфизм гена лептина/ <i>Leptin gene polymorphism</i>					
	LEP C528T			LEP C73T		
	CC	CT	TT	CC	CT	TT
Спинной отруб без кости / <i>Ribeye Lip On</i>	6,88±0,121	7,10±0,099	6,92±0,091	6,98±0,103	7,04±0,121	6,98±0,107
Спинной отруб на кости / <i>Rib Roast Ready</i>	0,34±0,006	0,35±0,005	0,34±0,004	0,34±0,005	0,35±0,006	0,34±0,005
Спинной отруб без кости Экстра / <i>Ribeye Roll</i>	2,55±0,045	2,63±0,037	2,57±0,034	2,59±0,038	2,61±0,045	2,59±0,040
Поясничный отруб без кости / <i>Strip loin</i>	6,05±0,106	6,24±0,087	6,09±0,080	6,14±0,091	6,19±0,107	6,14±0,094
Поясничный отруб на кости / <i>Short loin</i>	0,55±0,010	0,57±0,008	0,56±0,007	0,56±0,008	0,57±0,010	0,56±0,009
Поясничный отруб на кости с вырезкой / <i>Short loin</i>	2,34±0,041	2,41±0,033	2,35±0,031	2,37±0,035	2,39±0,041	2,37±0,036
Поясничный отруб без кости Экстра / <i>Strip loin</i>	1,29±0,023	1,33±0,018	1,30±0,017	1,31±0,019	1,32±0,023	1,31±0,020
Мраморная говядина для гриля / <i>Meat for Barbeque</i>	1,48±0,026	1,52±0,021	1,48±0,020	1,50±0,022	1,51±0,026	1,50±0,023
Внутренняя часть тазобедренного отруба / <i>Topside, Inside</i>	13,98±0,245	14,42±0,200	14,06±0,186	14,18±0,210	14,30±0,246	14,19±0,218
Верхняя часть тазобедренного отруба / <i>Top Sirloin Butt</i>	4,92±0,086	5,07±0,070	4,94±0,065	4,99±0,074	5,03±0,087	4,99±0,077
Боковая часть тазобедренного отруба / <i>Knuckle</i>	9,34±0,164	9,63±0,134	9,40±0,124	9,48±0,140	9,55±0,164	9,48±0,146
Вырезка / <i>Tenderloin Defatted</i>	2,95±0,052	3,04±0,042	2,97±0,039	2,99±0,044	3,02±0,052	2,99±0,046
Вырезка, головная часть / <i>Tenderloin</i>	0,25±0,004	0,25±0,004	0,25±0,003	0,25±0,004	0,25±0,004	0,25±0,004
Наружная часть бедра для запекания / <i>Rump Roast</i>	7,90±0,139	8,15±0,113	7,94±0,105	8,01±0,118	8,08±0,139	8,01±0,123
Филей верхней части бедра / <i>Top Sirloin Cap</i>	4,06±0,071	4,18±0,058	4,08±0,054	4,11±0,061	4,15±0,071	4,12±0,063
Говядина для запекания / <i>Cap Meat</i>	2,12±0,037	2,19±0,030	2,13±0,028	2,15±0,032	2,17±0,037	2,15±0,033
Нижняя часть костреца / <i>Flap boneless</i>	2,58±0,045	2,66±0,037	2,60±0,034	2,62±0,039	2,64±0,045	2,62±0,040
Стейк «Паук» / <i>Spider Steak</i>	0,25±0,004	0,25±0,004	0,25±0,003	0,25±0,004	0,25±0,004	0,25±0,004
Мякоть Трай-Тип / <i>Tri-Tip Steak</i>	1,60±0,028	1,65±0,023	1,61±0,021	1,62±0,024	1,63±0,028	1,62±0,025
Филей наружной части бедра / <i>Eye of Round</i>	3,96±0,070	4,09±0,056	3,99±0,053	4,02±0,059	4,05±0,070	4,02±0,062

При разделке передней четвертины без спинной части с пашиной наиболее существенные межгрупповые различия установлены по выходу голяшки на кости, превосходство гетерозиготных особей относительно сверстниц составляло 0,29-0,36 кг (2,56-3,20 %; P≥0,05), подлопаточного отруба – 0,21-0,26 кг (2,51-3,13 %; P≥0,05), грудного отруба – 0,30-0,36 кг (2,58-3,11 %; P≥0,05) и выходу котлетного мяса – 1,66-2,03 кг (2,54-3,13 %; P≥0,05). Эта разница была обусловлена полиморфизмом LEP C528T, в то время как полиморфизм во втором экзоне гена лептина (LEP C73T) не оказал заметного влияния на развитие отрубов передней четвертины туш тёлочек.

При обвалке задней четвертины туши установлены различия по развитию внутренней части тазобедренного отруба на 0,36-0,44 кг (2,56-3,15 %; $P \geq 0,05$), боковой части тазобедренного отруба – 0,23-0,29 кг (2,45-3,10 %; $P \geq 0,05$) и наружной части бедра для запекания – на 0,21-0,25 кг (2,64-3,16 %; $P \geq 0,05$) в пользу генотипа LEP^{CT}. Выход остальных отрубов pistolетной части не характеризовался значительными межгрупповыми различиями.

Обсуждение полученных результатов.

Ген лептина отличается весьма высокой полиморфностью, нуклеотидные замены в котором ассоциированы с широким спектром экономически значимых признаков у мясного скота. Так, Schenkel FS с соавторами (2005) обнаружили два однонуклеотидных полиморфизма во втором экзоне гена E2JW ($P \leq 0,01$) и E2FB ($P \leq 0,05$), которые достоверно ассоциировались с выходом мякоти и жира, мраморностью мяса и нежностью длиннейшей мышцы спины у мясного скота. В то время как полиморфизмы UASMS1 и UASMS2 не были связаны с изменчивостью показателей мясной продуктивности. Кроме того, DeVuyst EA с коллегами (2008) выявили связь нуклеотидной замены в позиции 305 п. н. второго экзона гена лептина с молочной продуктивностью коров и отъёмной живой массой телят. По их данным генотипы СТ и ТТ достоверно детерминировали весовой рост молодняка в подсосный период по сравнению с гомозиготными (ТТ) сверстниками. В свою очередь Русакова Е.А. и Косян Д.Б. (2019) установили связь полиморфизма LEP/A80V с показателями естественной резистентности у бычков герефордской породы.

В наших исследованиях мы изучали связь двух полиморфизмов LEP C528T и LEP C73T с формированием качества туш и выхода мясных отрубов у коров и тёлочек абердин-ангусской породы. По данным Ларионовой П.В. (2006), при полиморфизме LEP C73T имеет место точечная мутация С→Т в позиции 73 в экзоне 2 (генный банк AF120500), что приводит к аминокислотной замене Arg→Cys. Однонуклеотидный полиморфизм LEP C528T сопровождается точечной мутацией С→Т в позиции 528 в 5'-нетранслируемой области промотора (генный банк AB070368). При исследовании молочных стад по полиморфизму LEP C73T доля животных с генотипом СС варьировала в довольно широком диапазоне от 0 % в группе чистопородного сычевского скота до 38,89 % – в группе швицкого скота немецкой селекции, а частота аллеля С изменялась от 6,9 % у чёрнопёстрого скота до 61,1 % – у швицкого скота. Это согласовывалось с результатами наших исследований, когда распространение генотипа СС находилась в пределах 10,0-34,0 % при встречаемости аллеля С от 38,0 до 51,0 % соответственно у коров и тёлочек абердин-ангусской породы.

В основу качественной оценки мясного сырья в западных странах положено определение физиологической зрелости и возраста животных, мраморности и выхода мякоти (Легошин Г.П. и др., 2014). При этом мясному скоту до 30-месячного возраста присваивается класс «А». Поэтому предубойная оценка подопытных тёлочек (20 мес.) соответствовала высшей категории «А» с точки зрения зрелости и возраста животных. Дальнейшее распределение туш, полученных от тёлочек, проводили после убоя по выраженности мраморности и выходу мякоти. Результаты контрольного убоя тёлочек показали, что развитие мраморности, равно как и выход мякоти у подопытных животных, были на достаточно высоком уровне, о чём свидетельствует отнесение 51 % туш к двум высшим стандартам «Prime» и «Top Choice». В то же время классификация животных, подлежащих убоя, на возрастные группы не позволила присвоить подопытным коровам высшую категорию «А». Поэтому туши от коров распределялись между двумя градациями «Select» и «Choice» в зависимости от развития мраморности и выхода мякоти.

Генотипирование подопытного поголовья показало, что наиболее ценными тушами характеризовались особи с гетерозиготными генотипами по изучаемым полиморфизмам гена лептина. Так, 40 % туш от гетерозиготных коров по полиморфизму LEP C528T были отнесены к категории «Choice», по полиморфизму LEP C73T – 37,5 %. Гораздо лучше гетерозиготность по гену лептина отразилась на формировании качества туш у тёлочек. При этом градации «Prime» и «Top Choice» были присвоены 66,7 % и 58,8 % туш, в случае нуклеотидных замен LEP C528T и LEP C73T соответственно.

В исследованиях Салихова А.А. с коллегами (2013) показана различная биологическая ценность групп мышц в зависимости от локализации. По мнению Афанасьевой Е. с соавторами (2012), такой подход обеспечивает получение наибольшей прибыли для товаропроизводителя, повышает заинтересованность в выращивании высокопродуктивного молодняка и производства отечественной высококачественной говядины. В результате разделки туш от подопытных животных на 41 естественно-анатомическую часть установлено также превосходство гетерозиготных особей с учётом изучаемых полиморфизмов гена лептина. Наиболее выраженные межгрупповые различия получены при группировке тёлочек по варианту LEP C528T. Однако разница между отдельными генотипами молодняка не достигала достоверного уровня значимости.

Выводы.

Нуклеотидные замены в последовательности гена лептина LEP C528T и LEP C73T связаны с формированием мраморности и выходом мясных отрубов у коров и тёлочек абердин-ангусской породы. При этом наиболее предпочтительными являлись гетерозиготные генотипы по изученным однонуклеотидным полиморфизмам.

Исследования выполнены в соответствии с планом НИР ФГБНУ ФНЦ БСТ РАН (№ 0761-2019-0009)

Литература

1. Возрастные изменения абсолютной массы мышц молодняка КРС симментальской породы / А.А. Салихов, В.И. Косилов, А.Ф. Буравов, Е.А. Никонова // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2013. № 2. С. 63-65. [Salikhov AA, Kosilov VI, Buravov AF, Nikonova YeA. Aged changes in absolute weight of muscles in cattle young stock of Simmental breed. Vestnik of the Russia Agricultural Sciences. 2013;2:63-65. (In Russ)].
2. Генетическая характеристика казахского белоголового скота / Ш.А. Макаев, Р.Ш. Тайгузин, О.А. Ляпин, А.В. Фомин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2019. № 6(80). С. 281-285. [Makayev ShA, Taiguzin RSh, Lyapin OA, Fomin AV. Genetic characteristic of the Kazakh White-Headed cattle. Izvestiya of Orenburg State Agrarian University. 2019;6(80):281-285. (In Russ)].
3. Ларионова П.В. Разработка и экспериментальная апробация систем анализа полиморфизма генов-кандидатов липидного обмена у крупного рогатого скота: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Дубровицы, 2006. 23 с. [Larionova PV. Razrabotka i eksperimental'naya aprobatsiya sistem analiza polimorfizma genov-kandidatov lipidnogo obmena u krupnogo rogatogo skota: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Dubrovicy; 2006:23 p. (In Russ)].
4. Методологические принципы оценки мясной продуктивности и качества мяса крупного рогатого скота / Е. Афанасьева, Г. Легошин, О. Могиленец, И. Сусь, Т. Миттельштейн // Молочное и мясное скотоводство. 2012. № 7. С. 6-8. [Afanasyeva E, Legoshin G, Mogilenets O, Sus I, Mittelshtein T. Methodological principles of beef productivity evaluation of cattle and meat quality. Dairy and Beef Cattle Farming. 2012;7:6-8. (In Russ)].
5. Оценка геномной variability продуктивных признаков у животных голштинизированной чёрно-пёстрой породы на основе GWAS анализа и ROH паттернов / А.А. Сермягин, О.А. Быкова, О.Г. Лоретц, О.В. Костюнина, Н.А. Зиновьева // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. № 2. С. 257-274. doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.257rus [Sermyagin AA, Bykova OA, Lorets OG, Kostyunina OV, Zinovieva NA. Genomic variability assess for breeding traits in holsteinized Russian Black-and-White cattle using GWAS analysis and ROH patterns. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2020;55(2):257-274. (In Russ)]. doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.257eng
6. Поиск геномных областей, несущих летальные рецессивные варианты у свиней породы дюрок / О.В. Костюнина, А.С. Абдельманова, Е.У. Мартынова, Н.А. Зиновьева // Сельскохозяйственная биология. 2020. Т. 55. № 2. С. 275-284. doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.275rus [Kostyunina OV, Abdelmanova AS, Martynova EU, Zinovieva NA. Search for genomic regions carrying the lethal genetic

variants in the Duroc pigs. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]. 2020;55(2):275-284. (*In Russ*). doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.275eng

7. Полиморфизм генов CAST, GH, GDF9 овец горно-алтайской породы / М.И. Селионова, Л.Н. Чижова, Е.С. Суржикова, Н.А. Подкорытов, А.Т. Подкорытов // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2020. Т. 50. № 1. С. 92-100. [Selionova MI, Chizhova LN, Surzhikova ES, Podkorytov NA, Podkorytov AT. Polymorphism of CAST, GH, GDF9 genes of Gorno-Altai sheep breed. Siberian Herald of Agricultural Science. 2020;50(1):92-100. (*In Russ*). doi: 10.26898/0370-8799-2020-1-11

8. Русакова Е.А., Косян Д.Б. Взаимосвязь полиморфизма гена LEP/A80V с гематологическими показателями и характеристикой неспецифического иммунитета крупного рогатого скота // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2019. № 4. 10 с. [Rusakova EA, Kosyan DB. Relationship of LEP/A80V gene polymorphism with hematological parameters and characteristic of non-specific immunity of cattle. Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN. 2019;4:10. (*In Russ*). doi: 10.24411/2304-9081-2019-14027

9. Стандартизация высококачественной говядины в России / Г.П. Легошин, О.Н. Могиленец, Е.С. Афанасьева, Т.М. Миттельштейн // Молочное и мясное скотоводство. 2014. № 3. С. 2-3. [Legoshin GP, Mogilenets ON, Afanaseva ES, Mittelshtein TM. Classification of high-quality beef. Dairy and Beef Cattle Breeding. 2014;3:2-3. (*In Russ*)].

10. Baile CA, Della-Fera MA, Martin RJ. Regulation of metabolism and body fat mass by leptin. Annu Rev Nutr. 2000;20:105-127. doi: 10.1146/annurev.nutr.20.1.105

11. Buchanan FC, Fitzsimmons CJ, Van Kessel AG, Thue TD, Winkelman-Sim DC, Schmutz SM. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. Genet Sel Evol. 2002; 34(1):105-116. doi: 10.1051/gse:2001006

12. Davis GP, DeNise SK. The impact of genetic markers on selection. Journal of Animal Science. 1998;76(9):2331-2339. doi: 10.2527/1998.7692331x

13. Dekkers JCM. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. Journal of Animal Science. 2004;82(13):E313-E328.

14. Deniskova TE, Kostyunina OV, Selionova MI, Petrov SN, Kharzinova VR, Brem GG, Zinoveva NA. Assessment of genetic susceptibility to classical and atypical scrapie in five Russian locally derived sheep breeds. Journal of Animal Science. 2018;96(S3):468. doi: 10.1093/jas/sky404.1022

15. DeVuyst EA, Bauer ML, Cheng FC, Mitchell J, Larson D. The impact of a leptin gene SNP on beef calf weaning weights. Animal Genetics. 2008;39(3): 284-286. doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01730.x

16. Selionova MI, Dubovskova MP, Chizhova LN, Mikhailenko AK, Surzhikova ES, Plakhtyukova VR. Fatty acid composition of blood lipids of young beef cattle of different genotypes of CAPN1, GH, TG5, LEP genes. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science. 2019;341:012079. doi: 10.1088/1755-1315/341/1/012079

17. Hale DS, Goodson K, Savell JW. USDA Beef Quality and Yield Grades. [Internet]. Department of Animal Science, Texas A&M AgriLife Extension Service College Station, 2013. Available from: <https://meat.tamu.edu/beefgrading/> (accessed 15 september 2020)

18. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME. The biology of leptin: A review. Journal of Animal Science. 1998;76(5):1405-1420. doi: 10.2527/1998.7651405x

19. MacNeil MD, Grosz MD. Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford × Composite double backcross populations. Journal of Animal Science. 2002;80(9):2316-2324.

20. Nkrumah JD, Li C, Yu J, Hansen C, Keisler DH, Moore SS. Polymorphism in the bovine leptin gene promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. Journal of Animal Science. 2005;83(1):20-28. doi: 10.2527/2005.83120x

21. Rocha JL, Baker JF, Womack JE, Sanders JO, Taylor JF. Statistical associations between restriction fragment length polymorphisms and Quantitative traits in beef cattle. Journal of Animal Science. 1992;70(11):3360-3370. doi: 10.2527/1992.70113360x

22. Schenkel FS, Miller SP, Ye X, Moore SS, Nkrumah JD, Li C, Yu J, Mandell IB, Wilton JW, Williams JL. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*. 2005;83(9):2009-2020. doi: 10.2527/2005.8392009x
23. Stone RT, Kappes SM, Beattie CW. The bovine homologue of the obese gene maps to chromosome 4. *Mamm Genome*. 1996;7(5):399-400. doi: 10.1007/s003359900119
24. Tyulebaev SD, Kadyshcheva MD, Litovchenko VG, Kosilov VI, Gabidulin VM. The use of single-nucleotide polymorphism in creating a crossline of meat simmentals. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 2019;341:012188. doi: 10.1088/1755-1315/341/1/012188
25. United States Standards for Grades of Carcass Beef. United States Department of Agriculture; 2017:16 p.
26. Zhao Q, Davis ME, Hines HC. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *Journal of Animal Science*. 2004;82(8):2229-2233. doi: 10.2527/2004.8282229x

References

1. Salikhov AA, Kosilov VI, Buravov AF, Nikonova YeA. Aged changes in absolute weight of muscles in cattle young stock of Simmental breed. *Vestnik of the Russia Agricultural Sciences*. 2013;2:63-65.
2. Makayev ShA, Taiguzin RSh, Lyapin OA, Fomin AV. Genetic characteristic of the Kazakh White-Headed cattle. *Izvestiya of Orenburg State Agrarian University*. 2019;6(80):281-285
3. Larionova PV. Development and experimental testing of systems for the analysis of polymorphism of candidate genes for lipid metabolism in cattle: author. dis. ... Cand. biol. sciences. Dubrovitsy; 2006:23 p.
4. Afanasyeva E, Legoshin G, Mogilenets O, Sus I, Mittelshtein T. Methodological principles of beef productivity evaluation of cattle and meat quality. *Dairy and Beef Cattle Breeding*. 2012;7:6-8
5. Sermyagin AA, Bykova OA, Loretts OG, Kostyunina OV, Zinovieva NA. Genomic variability assess for breeding traits in holsteinized Russian Black-and-White cattle using GWAS analysis and ROH patterns. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2020;55(2):257-274. doi: 10.15389/agrobiol.2020.2.257eng
6. Kostyunina OV, Abdelmanova AS, Martynova EU, Zinovieva NA. Search for genomic regions carrying the lethal genetic variants in the Duroc pigs. *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2020;55(2):275-284. doi: 10.15389/agrobiol.2020.2.275eng
7. Selionova MI, Chizhova LN, Surzhikova ES, Podkorytov NA, Podkorytov AT. Polymorphism of CAST, GH, GDF9 genes of Gorno-Altai sheep breed. *Siberian Herald of Agricultural Science*. 2020;50(1):92-100. doi: 10.26898/0370-8799-2020-1-11
8. Rusakova EA, Kosyan DB. Relationship of LEP/A80V gene polymorphism with hematological parameters and characteristic of nonspecific immunity of cattle. *Bulletin of the Orenburg Research Centre of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences*. 2019;4:10. doi: 10.24411/2304-9081-2019-14027
9. Legoshin GP, Mogilenets ON, Afanaseva ES, Mittelshtein TM. Classification of high-quality beef. *Dairy and Beef Cattle Breeding*. 2014;3:2-3.
10. Baile CA, Della-Fera MA, Martin RJ. Regulation of metabolism and body fat mass by leptin. *Annu Rev Nutr*. 2000;20:105-127. doi: 10.1146/annurev.nutr.20.1.105
11. Buchanan FC, Fitzsimmons CJ, Van Kessel AG, Thue TD, Winkelman-Sim DC, Schmutz SM. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genet Sel Evol*. 2002; 34(1):105-116. doi: 10.1051/gse:2001006
12. Davis GP, DeNise SK. The impact of genetic markers on selection. *Journal of Animal Science*. 1998;76(9):2331-2339. doi: 10.2527/1998.7692331x
13. Dekkers JCM. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science*. 2004;82(13):E313-E328.

14. Deniskova TE, Kostyunina OV, Selionova MI, Petrov SN, Kharzinova VR, Brem GG, Zinoveva NA. Assessment of genetic susceptibility to classical and atypical scrapie in five Russian locally derived sheep breeds. *Journal of Animal Science*. 2018;96(S3):468. doi: 10.1093/jas/sky404.1022
15. DeVuyst EA, Bauer ML, Cheng FC, Mitchell J, Larson D. The impact of a leptin gene SNP on beef calf weaning weights. *Animal Genetics*. 2008;39(3): 284-286. doi: 10.1111/j.1365-2052.2008.01730.x
16. Selionova MI, Dubovskova MP, Chizhova LN, Mikhailenko AK, Surzhikova ES, Plakhtyukova VR. Fatty acid composition of blood lipids of young beef cattle of different genotypes of CAPN1, GH, TG5, LEP genes. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 2019;341:012079. doi: 10.1088/1755-1315/341/1/012079
17. Hale DS, Goodson K, Savell JW. USDA Beef Quality and Yield Grades. [Internet]. Department of Animal Science, Texas A&M AgriLife Extension Service College Station, 2013. Available from: <https://meat.tamu.edu/beefgrading/> (accessed 15 september 2020)
18. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME. The biology of leptin: A review. *Journal of Animal Science*. 1998;76(5):1405-1420. doi: 10.2527/1998.7651405x
19. MacNeil MD, Grosz MD. Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford × Composite double backcross populations. *Journal of Animal Science*. 2002;80(9):2316-2324.
20. Nkrumah JD, Li C, Yu J, Hansen C, Keisler DH, Moore SS. Polymorphism in the bovine leptin gene promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of carcass merit. *Journal of Animal Science*. 2005;83(1):20-28. doi: 10.2527/2005.83120x
21. Rocha JL, Baker JF, Womack JE, Sanders JO, Taylor JF. Statistical associations between restriction fragment length polymorphisms and Quantitative traits in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 1992;70(11):3360-3370. doi: 10.2527/1992.70113360x
22. Schenkel FS, Miller SP, Ye X, Moore SS, Nkrumah JD, Li C, Yu J, Mandell IB, Wilton JW, Williams JL. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. *Journal of Animal Science*. 2005;83(9):2009-2020. doi: 10.2527/2005.8392009x
23. Stone RT, Kappes SM, Beattie CW. The bovine homologue of the obese gene maps to chromosome 4. *Mamm Genome*. 1996;7(5):399-400. doi: 10.1007/s003359900119
24. Tyulebaev SD, Kadysheva MD, Litovchenko VG, Kosilov VI, Gabidulin VM. The use of single-nucleotide polymorphism in creating a crossline of meat simmentals. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*. 2019;341:012188. doi: 10.1088/1755-1315/341/1/012188
25. United States Standards for Grades of Carcass Beef. United States Department of Agriculture; 2017:16 p.
26. Zhao Q, Davis ME, Hines HC. Associations of polymorphisms in the Pit-1 gene with growth and carcass traits in Angus beef cattle. *Journal of Animal Science*. 2004;82(8):2229-2233. doi: 10.2527/2004.8282229x

Герасимов Николай Павлович, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела разведения мясного скота, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, сот.: 8-912-35-89-617, e-mail: nick.gerasimov@rambler.ru

Колпаков Владимир Иванович, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник лаборатории селекции мясного скота, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, тел.: 8(3532)30-81-74, e-mail: vkolpakov056@yandex.ru

Джуламанов Киниспай Мурзагулович, доктор сельскохозяйственных наук, заведующий лабораторией селекции мясного скота, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29, сот.: 8-987-840-49-28, e-mail: kinispai.d@yandex.ru

Лапшина Александра Андреевна, аспирант, селекционно-генетический центр по мясным породам скота, Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук, 460000, г. Оренбург, ул. 9 Января, 29

Поступила в редакцию 11 декабря 2020 г.; принята после решения редколлегии 14 декабря 2020 г.; опубликована 31 декабря 2020 г. / Received: 11 December 2020; Accepted: 14 December 2020; Published: 31 December 2020