

Анализ молочной продуктивности (рисунок) показал, что самый высокий надой за 305 дней первой лактации был в кроссбредных коров с генотипом АВ и на 670 кг преобладал с достоверной разницей ($p < 0,001$) аналогичный показатель коров этой же группы с генотипом АА. Уровень надоя у коров с генотипами АА и АВ у первотелок УЧеРМ и УЧРМ мало отличался.

В группе коров монбельярдской породы высокий уровень удоя, ассоциированный с каппа-казеиновым генотипом ВВ (6938 кг), превышал удой коров с генотипом АА на 288 кг со статистически значимой разницей ($p < 0,01$). От коров пород УЧеРМ, УЧРМ, М с гетерозиготным генотипом АВ получено на 47-56 кг удой выше, чем от животных с генотипом АА. В группе коров УЧеРМ×М разница между генотипами АВ и АА оказалась существенно значимой ($p < 0,05$) – 670 кг.

Таким образом, можно отметить, что генотипы АВ могут иметь большее влияние на определенные лактогенные признаки коров молочного направления продуктивности.

Заключение. Полученные результаты исследований полиморфизма гена каппа-казеина в украинских породах молочного направления продуктивности свидетельствуют о том, что в популяциях коров украинской селекции преобладает генотип АА. Объяснить это можно тем, что создание этих пород происходило путем воспроизводительного скрещивания с голштинской породой, в популяциях которых процент аллеля гена каппа-казеина ВВ достаточно низкий. У коров монбельярдской породы концентрация В-аллельного варианта выше, чем концентрация А-варианта. В генотипах кроссбредных коров отсутствует гомозиготный вариант ВВ, хотя гетерозиготный генотип АВ почти вдвое превышает гомозиготный АА, что все-таки свидетельствует о более высокой концентрации аллеля В по сравнению с животными пород УЧеРМ и УЧРМ. Результаты наших исследований, как и исследований других авторов, свидетельствуют, что информация о распределении вариантов генотипов и аллелей гена каппа-казеина является дополнительной характеристикой стада, что позволяет селекционерам создать стада с желательными признаками молочной продуктивности.

Литература. 1. Bech, A. M. Milk protein polymorphism in Danish dairy cattle and the influence of genetic variants on milk yield / A. M. Bech, K. R. Kristiansen // – J Dairy Sci, 1990. – №. 57. – P. 53-63. 2. Ng-Kwai-Hang, K .F. Genetic polymorphism of milk proteins: Relationship with production traits, milk composition and technological properties / K .F. Ng-Kwai-Hang // – Can J Anim Sci, 1998. – Vol. 78 (Suppl). – P.131-147. 3. Robitaille G. Quantitative analysis of β -lactoglobulin A and B genetic variants in milk of cows β -lactoglobulin AB throughout lactation / G. Robitaille, M. Britten, J. Morisset, D., Petitclerc // J Dairy Sci, 2002. – Vol. 69. – P. 651-65.

УДК636.1.082

ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА БЕТА-КАЗЕИНА НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

Парамонова М.А., Валитов Ф.Р., Кононенко Т.В.

ФГБОУ ВО Башкирский государственный аграрный университет, Уфа, Россия

В работе проведено исследование показателей молочной продуктивности коров черно-пестрой породы (n=82) Республики Башкортостан, Россия. Были определены генотипы гена бета-казеина (CSN2) с помощью метода ПЦР-ПДРФ. В изучаемой выборке коров частота встречаемости аллелей составляет $A1 = 0,85$ и $A2 = 0,15$. Было отмечено, что частотное распределение генотипов не соответствует равновесию Харди-Вайнберга. Большое значение статистики Хи-квадрат свидетельствует в пользу существенных различий между частотой встречаемости генотипов гена бета-казеина и свидетельствует о значительном снижении гетерозиготности. Установлено влияние полиморфизма CSN2 на молочную продуктивность. Статистический анализ ассоциации между генотипами CSN2 и количеством

удоев показывает на доминирующее влияние гетерозиготного генотипа A^1A^2 по гену бета-казеина на молочную продуктивность коров нашей выборки. **Ключевые слова:** бета-казеин, полиморфизм, генотип, аллель, $A1$, $A2$, молочная продуктивность, черно-пестрая порода.

INFLUENCE OF BETA-CASEIN GENE POLYMORPHISM ON DAIRY PRODUCTIVITY OF BLACK AND WHITE CATTLE IN THE REPUBLIC OF BASHKORTOSTAN

Paramonova M.A., Valitov F.R., Kononenko T.V.
Bashkir state agrarian university, Ufa, Russia

*The purpose of this study was to identify genotype variants in the beta-casein (CSN2) gene using the PCR-RFLP method in a population of 82 black and white cattle in the Republic of Bashkortostan, Russia. In the population, the genotypic frequencies for CSN2 were $A1 = 0.85$ and $A2 = 0.15$. It was noted that the frequency distribution of the genotypes was not in Hardy-Weinberg equilibrium. Chi-square statistic is high for beta-casein gene, suggesting that there is a significant decrease in heterozygosity. The association of these variants is further assessed with milk production. The statistical association analysis between genotypes of CSN2 and milk production reveals that the dominant effect of the A^1A^2 -genotype of the beta-casein gene on milk production is identified within our population sample. **Keywords:** beta-casein, polymorphism, genotype, allele, $A1$, $A2$, milk productivity, black and white cattle.*

Введение. Перед современным животноводством стоит ряд важных задач, основной из которых является создание условий для производства высококачественной продукции по объему, соответствующему постоянно растущим потребностям населения страны. С этой целью в сельскохозяйственных организациях и крестьянско-фермерских хозяйствах регулярно проводятся работы по улучшению племенных качеств животных, созданию высокопродуктивных стад и увеличению объемов производимой животноводческой продукции.

Основная цель молочного животноводства – получение высокопродуктивных коров, дающих молоко с хорошими технологическими свойствами и с высоким содержанием жира и белка. В настоящее время с развитием молекулярной генетики и молекулярной биологии появилась возможность идентифицировать гены, прямо или косвенно связанные с молочной продуктивностью животных. Выявление вариантов таких генов позволит, помимо традиционного отбора животных, провести селекцию на уровне технологий дезоксирибонуклеиновой кислоты. Полученные полиморфные рестриктные фрагменты ДНК являются специфическими генетическими маркерами. В нашем исследовании таким молекулярно-генетическим маркером является ген молочного белка бета-казеина [2].

Среди казеиновых белков бета-казеин (CSN2) является вторым по распространенности и по содержанию в молоке коров уступает только казеину альфа-S1. Его доля в молочном белке составляет 25-35%. Молекула CSN2 состоит из одной полипептидной цепи, содержащей 209 аминокислотных остатков, в том числе 5 остатков фосфосерина [8]. Молекулярная масса составляет 23983 Да. Ген имеет длину 10338 п.о. и состоит из 9 экзонов и 8 интронов [4].

Данный молочный белок является полиморфным, и его варианты различаются по аминокислотному составу и электрофоретической подвижности. В настоящее время у крупного рогатого скота описано 13 генетических вариантов гена бета-казеина: A^1 , A^2 , A^3 , B, C и т. д., первичная структура которых также определена. Изменения последовательности аминокислот у вариантов бета-казеина представлены в таблице 1 [9].

У всех пород крупного рогатого скота наиболее распространены варианты гена A^1 и A^2 . Исходной формой β -казеина молока коров является аллель A^2 , который больше похож на все другие известные β -казеины у млекопитающих. Варианты A^1 и A^2 имеют одну аминокислотную разницу в своей структурной последовательности, которая влияет на результирующую вторичную структуру, а также на ее ферментативное расщепление, а именно $CSN2^{A1}$ содержит аминокислоту гистидин в 67-й позиции, тогда как $CSN2^{A2}$ содержит пролин [6].

Таблица 1 – Изменения аминокислотной последовательности вариантов CSN2

Аллели	Изменения аминокислотной последовательности													
	18	25	35	36	37	67	72	88	93	106	117	122	137	138
A ²	Ser-P	Arg	Ser-P	Glu	Glu	Pro	Glu	Leu	Gln	His	Gln	Ser	Leu	Pro
A ¹						His								
A3										Gln				
B						His						Arg		
C			Ser		Lys	His								
D	Lys													
E				Lys										
F						His								Leu
G						His						Leu		
H ¹		Cys						Ile						
H ²							Gln		Leu					Glu
I									Leu					

Полиморфизм гена бета-казеина молока является важным хозяйственным признаком для молочного животноводства. Его отдельные генетические варианты достаточно хорошо изучены отечественными и зарубежными учеными в связи с возможным влиянием на качественный состав и молочную продуктивность у разных пород крупного рогатого скота [1, 5, 6, 10]. Однако недостаточно изучен вопрос о целесообразности выбора аллелей A¹ или A² в качестве критерия селекционного отбора для молочного скота и связи полиморфизма A¹/A² с племенной ценностью по продуктивным признакам животных.

Преыдушие исследования описали различные результаты взаимосвязи между полиморфизмом A¹/A² и молочной продуктивностью. Ряд исследователей отмечают, что аллель A² β-казеина положительно влияет на удои молока [7, 9]. Результаты, полученные Дуйфуйс-Ривера и Ханусовой с соавторами, показали, что не было выявлено значительных различий по количеству удоев у коров с разными генотипами по гену CSN2 [5, 6]. Моли с соавторами сообщили о благоприятном воздействии гетерозиготного генотипа бета-казеина A¹A² на молочную продуктивность [10].

Данных о вариантах бета-казеина A¹ и A² у поголовья крупного рогатого скота Башкортостана в доступной литературе недостаточно, что подтверждает необходимость проведения исследований в этом направлении. В племенных хозяйствах республики черно-пестрая порода крупного рогатого скота занимает лидирующую позицию по поголовью среди общего числа плановых пород (более 70%) [1]. Таким образом, исследования, проведенные на выборке коров названной породы, являются актуальными.

Целью данной работы является выявление влияния различных генотипов по гену бета-казеина на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы Республики Башкортостан.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследования была выбрана группа коров черно-пестрой породы ООО «Агропредприятие имени Калинина» Стерлитамакского района Республики Башкортостан (n = 82). Сведения об удоях были получены из базы данных программного продукта для зоотехнического и племенного учета «СЕЛЭКС - Молочный» (ООО «ПЛИНОР»). Генотипирование животных по гену молочного белка бета-казеина производилось в лаборатории молекулярной генетики Башкирского ГАУ. Выделение ДНК осуществлялось с использованием набора реагентов «ДНК-Экстран» (НПК «Синтол», г. Москва). Полиморфизм генов CSN2 определяли методом ПЦР-ПДРФ с применением праймеров:

CSN2F: 5` - cct-tct-ttc-cag-gat-gaa-ctc-cag-g - 3`

CSN2R: 5` - gag-taa-gag-gag-gga-tgt-ttt-gtg-gga-ggc-tct - 3`

(сайт рестрикции Ddel) с последующим электрофоретическим разделением рестрикционных фрагментов в 7,5% ПААГе. Определение длины аллелей проводили при использовании маркера молекулярных масс pUC/Msp1, предоставленного фирмой «Сибэнзим». Для анализа изображения гелей после электрофореза в ПААГе применяли гельдокументирующую систему GelDoc XR и прилагаемое к ней программное обеспечение ImageLab версия 2.0 «DNA-analyser».

Размеры рестрикционных фрагментов составили: $CSN2^{A1A1}$ – 121 пн; $CSN2^{A1A2}$ – 121; 86; 35 пн; $CSN2^{A2A2}$ – 86; 35 пн.

Частоту встречаемости генотипов определяли по общепринятым формулам. Статистическую ошибку для частот генов определяли по формуле 1:

$$mp = mq = \sqrt{p * q / 2 * n}, \quad (1)$$

где p – частота аллеля $A1$, q – частота аллеля $A2$, n – общее число аллелей.

Для оценки соответствия фактического и ожидаемого распределения генотипов в изучаемых выборках животных использовали коэффициент χ^2 , который вычисляли по формуле 2:

$$\chi^2 = \sum_{k} (O - E)^2 / E, \quad (2)$$

где O и E – наблюдаемые и теоретически ожидаемые количества генотипов определённого типа, k – число генотипических классов.

Достоверность различий между средними величинами сравниваемых групп оценивали по критерию Стьюдента с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты исследований. Для определения частоты встречаемости генотипов и аллелей по гену $CSN2$ случайным способом была произведена выборка коров черно-пестрой породы ($n=82$). Результаты исследования аллельного полиморфизма и частоты генотипов гена бета-казеина в изученной группе крупного рогатого скота представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Частота аллелей и генотипов гена $CSN2$ изученной выборки скота черно-пестрой породы

Показатель	n	Частота генотипов						Частота аллелей		χ^2
		A^1A^1		A^1A^2		A^2A^2		A^1	A^2	
		n	%	n	%	n	%			
O	82	64	78,05	12	14,63	6	7,31	0,85±0,02	0,15±0,02	21,59*
E		44	53,67	32	39,02	6	7,31			

Примечание: * - $p < 0,01$.

O – фактически наблюдаемый показатель, E – теоретически ожидаемый показатель

В изученной выборке коров черно-пестрой породы по гену $CSN2$ выявлено, что наблюдается явное преобладание числа гомозиготного A^1A^1 -генотипа (около 78%). Доля коров с гетерозиготным A^1A^2 -генотипом гена составила 14%; коров с генотипом A^2A^2 данного гена $CSN2$ – 7%. Таким образом, частота встречаемости аллеля $CSN2^{A1}$ (0,85) более чем в 5 раз превышает частоту аллеля $CSN2^{A2}$ (0,15). Для наглядности ниже представлены диаграммы данных показателей (рисунок).

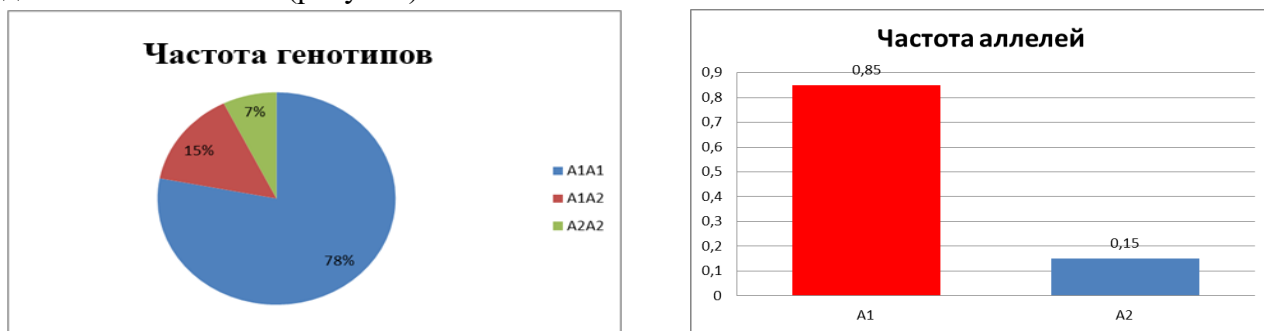


Рисунок – Частота встречаемости генотипов и аллелей по гену $CSN2$ в изученной группе коров

Что касается фактически наблюдаемых и теоретически ожидаемых частот генотипов в изученной группе коров черно-пестрой породы, то анализ соответствия выявил избыток количества фактически наблюдаемого гомозиготного генотипа $CSN2^{A^1A^1}$ и недостаток гетерозиготного $CSN2^{A^1A^2}$ – генотипа. Вычисленное значение χ^2 (21,59) указывает на отклонение генетической структуры ($p < 0,01$) в изученной группе животных от состояния равновесия.

Сравнительный анализ молочной продуктивности коров изученной выборке с разными генотипами по гену бета-казеина представлен в таблице 3.

Таблица 3 – Молочная продуктивность коров черно-пестрой породы с различными генотипами по гену $CSN2$

Показатель		Генотип по гену $CSN2$			Разница между генотипами		
		A^1A^1 (n=64)	A^1A^2 (n=12)	A^2A^2 (n=6)	A^1A^1 / A^2A^2	A^1A^1 / A^1A^2	A^1A^2 / A^2A^2
Удой	M±m	6858,8±119,3	7296,9±180,9	7218,7±165,1	-359,8	-438,1*	+78,3
	σ	1115,17	834,58	796,26			
	Cv,%	16,26	11,44	11,03			

Примечание: * - $p < 0,05$.

По данным из таблицы 3 можно сделать вывод, что наивысшие показатели по удою отмечались в группе животных с генотипом A^1A^2 . Коровы этой группы превосходили животных с генотипом A^1A^1 на 438 кг молока ($p < 0,05$), с генотипом A^2A^2 на 78 кг. Причем различия в пользу гетерозиготного генотипа по отношению к гомозиготному A^1A^1 являются значительными и достоверными. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о положительном влиянии гетерозиготного генотипа бета-казеина A^1A^2 на молочную продуктивность коров изученной выборки коров черно-пестрой породы. Что согласуется с данными предыдущих исследований, указанных выше.

Заключение. В результате исследований нами были получены данные об определенном влиянии полиморфных вариантов гена молочного белка $CSN2$ на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы анализируемой выборки. Статистический анализ генотипов и количеством удоев, скорректированных до 305 дней, выявил, что гетерозиготный генотип генотипов бета-казеина оказал наибольшее благоприятное влияние на продуктивность коров данной выборки. В целом, можно сделать вывод, что аллель A^2 может быть выбран в качестве критерия селекционного отбора для улучшения племенной ценности по продуктивным признакам коров черно-пестрой породы, разводимой в условиях Республики Башкортостан.

Литература. 1. Валитов, Ф. Р. Ассоциация полиморфизма гена бета-казеина с молочной продуктивностью коров плановых пород Республики Башкортостан / Ф. Р. Валитов // Известия Оренбургского ГАУ. – 2017. – № 1 (63). – С. 207-209. 2. Калашикова, Л. А. Рекомендации по геномной оценке крупного рогатого скота: методическое пособие / Л. А. Калашикова [и др.]. – Лесные поляны: ВНИИплем, 2015. – 35 с. 3. Катмаков, П. С. Биометрия: учебное пособие для вузов / П. С. Катмаков, В. П. Гавриленко, А. В. Бушов; под общ. ред. П. С. Катмакова. Изд. 2-е, перераб. и доп. – М.: Юрайт, 2019. – 177 с. 4. Хаертдинов, Р. А. Белки молока / Р. А. Хаертдинов, М. П. Афанасьев, Р. Р. Хаертдинов. – Казань: Изд. «Идел-Пресс». – 2009. – 256 с. 5. Duifhuis-Rivera, T. Polymorphisms in beta and kappa-casein are not associated with milk production in two highly technified populations of Holstein cattle in Mexico // T. Duifhuis-Rivera, C. Lemus-Flores, M. Á. Ayala-Valdovinos. – J. of Animal & Plant Sci., 24(5), 2014, pp. 1316-1321. <http://www.thejaps.org.pk/docs/v-24-5/07.pdf>. 6. Hanusová, E. Genetic Variants of Beta-Casein in Holstein Dairy Cattle. / E. Hanusová, M. Oravcová // Slovak J. Animal Sci., 43, 2010 (2), pp. 63-66. http://www.cvzv.sk/slju/10_2/Hanusova.pdf. 7. Heck, J. M. L. Effects of milk protein variants on the protein composition of bovine milk. / J. M. L. Heck, H. J. F. van Valenberg, H. Schennink, M. H. P. W. Visker Bovenhuis, J. A. M. van Arendonk, A. C. M. van Hooijdonk // J. Dairy Sci. 92(3), 2009, pp. 1192 – 1202. <https://www.researchgate.net/publication/24031628/ Heck2009.J.DairySci1192-1202.pdf>. 8. Huppertz, P. The caseins: Structure, stability, and functionality / P. Huppertz, F. Fox, A. L. // Kelly Proteins in Food Processing. A volume in Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Book, 2-nd Edition, 2018, pp. 49-92. <https://www.researchgate.net/publication/322184429>. 9. Kamiński, S. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health. / S. Kamiński, A. Cieslińska, E. Kostyra // J. Appl. Genet. 48(3), 2007, pp. 189-198. <https://doi.org/10.1007/s11882-007-0007-1>. 10. Molee, A. The effect of beta and kappa casein genes on milk yield and milk composition in different percentages of Holstein in crossbred dairy cattle / A. Molee, L. Boonek, N. Rungsakinnin // Animal Sci. J. 82(4), 2011, pp. 512 – 516. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21794007/>.