

Зоотехния и ветеринария

УДК 575.174.015.3

DOI 10.31857/S2500262724060095 EDN RUTANH

ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА β -КАЗЕИНА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА УРАЛЬСКОГО РЕГИОНА

© 2024 г. О. С. Шаталина, старший научный сотрудник, кандидат биологических наук,
А. А. Ярышкин, научный сотрудник, кандидат биологических наук

Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр
Уральского отделения Российской академии наук
620061, Екатеринбург, пос. Исток, ул. Главная, 21
E-mail: shatalinao@list.ru

β -казеин – это белок, состоящий из цепочки 224 аминокислот, на долю которого приходится около 30 % от всех молочных белков. Существует два основных аллеля гена β -казеина: A1 и A2. Вариант A1 отличается от A2 всего одной аминокислотой. Выявлена ассоциация между носительством генотипа A2A2 β -казеина у коров и отсутствием аллергии на молоко у потребляющих его людей, а также влияние полиморфизма гена β -казеина на показатели молока, необходимые для сыроделия. Цель исследования – изучение полиморфизма гена β -казеина у коров голштинской породы Свердловской области в 2023 г. на 221 особи крупного рогатого скота голштинской породы. Генотипирование ДНК животных по гену β -казеина осуществляли на приборе 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystem) с использованием программы 7500 Software V.2.0.1. Данные по молочной продуктивности коров взяты из программы ИАС «СЕЛЭКС» – Молочный скот. Частота встречаемости генотипа A1A1 в исследованном поголовье составила 15,4 %, A1A2–42,5 %, A2A2–42,1 %, аллеля A1–36,7 %, A2–63,3 %. Удой за 305 дней первой лактации носительниц генотипа A1A1 был равен 11 697 кг, A1A2–11 639 кг, A2A2–11 378 кг. Массовая доля жира в молоке у коров с генотипом A1A1–3,65 %, A1A2–3,73 %, A2A2–3,69 %. Существенных различий между показателями по удою и массовой доле жира между носительницами разных генотипов β -казеина не установлено. Массовая доля белка в молоке у коров с генотипом A2A2 составила 3,16 %, что на 0,02 % ($p \leq 0,05$) больше, чем у носительниц генотипа A1A2, и на 0,09 % ($p \leq 0,001$), по сравнению с особями с генотипом A1A1.

POLYMORPHISM OF THE β -CASEIN GENE AND ITS EFFECT ON THE DAIRY PRODUCTIVITY OF CATTLE THE URAL REGION

O. S. Shatalina, A. A. Yaryshkin

Ural Federal Agrarian Scientific Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences,
620061, Yekaterinburg, pos. Istok, ul. Glavnay, 21
E-mail: shatalinao@list.ru

β -casein is a protein consisting of a chain of 224 amino acids, which accounts for about 30 % of all milk proteins. There are two main alleles of the β -casein gene: A1 and A2. Variant A1 differs from A2 by only one amino acid. Researchers have revealed an association between the carrier of the A2A2 β -casein genotype in cows and the absence of milk allergy in people who consume it, as well as the effect of the β -casein gene polymorphism on milk parameters necessary for cheese making. The aim of the study was to study the polymorphism of the β -casein gene in Holstein cows of the Sverdlovsk region and its effect on milk productivity. The work was carried out in 2023 on 221 individuals of Holstein cattle belonging to a breeding agricultural organization in the Sverdlovsk region. The genotyping of animal DNA by the β -casein gene was carried out using the 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystem) device using the 7500 Software V.2.0.1 program. Data on dairy productivity of cows were taken from the IAS «SELEX» program – Dairy cattle. The frequency of occurrence of the A1A1 genotype was 15.4 %, the A1A2 genotype was 42.5 % and the A2A2 genotype was 42.1 %. The frequency of the A1 allele was 36.7 %, the A2 allele was 63.3 %. Milk yield for 305 days of the first lactation of carriers of the A1A1 genotype was 11697 kg, A1A2–11639 kg, A2A2–11378 kg. The mass fraction of fat in cows with the A1A1 genotype is 3.65 %, A1A2 is 3.73 %, and A2A2 is 3.69 %. There was no significant difference between the indicators of milk yield and fat mass fraction between carriers of different beta-casein genotypes. The mass fraction of protein in cows with the A2A2 genotype was 3.16 %, which is 0.02 % ($p < 0.05$) more carriers of the A1A2 genotype and 0.09 % ($p < 0.001$) more carriers of the A1A1 genotype.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, β -казеин, генотип, удой, массовая доля жира, массовая доля белка.

Keywords: cattle, β -casein, genotype, milk yield, mass fraction of fat, mass fraction of protein.

Маркерная селекция в последние годы набирает широкое распространение в животноводстве. Определение генофонда животных в раннем возрасте и последующий отбор молодняка с лучшими генотипами несут значительные перспективы для селекции и формирования стад крупного рогатого скота [1]. В молочном скотоводстве ежегодно выявляются новые гены-кандидаты – маркеры молочной продуктивности, воспроизводства, здоровья [2].

Более 95 % белков коровьего молока состоят из казеина и сывороточных белков. Среди казеинов второй

по частоте встречаемости в молоке – бета-казеин. На его долю приходится до 45 % от общего количества казеинов. Этот белок отличается от α -казеина сильной зависимостью от температуры, а также растворимостью в присутствии ионов кальция при определенной температуре. β -казеин включает 209 аминокислотных остатков, из которых 16,7 % приходится на пролин, равномерно распределенный вдоль полипептида, что ограничивает образование α -спирали. Распознано 12 генетических вариантов, которые по-разному выделя-

ются с помощью электрофореза, в зависимости от того используются кислотные или щелочные условия [3]. Варианты A1 и A2 встречаются наиболее часто. Варианты A можно отличить от B, C и D с помощью электрофореза: B, C и D определяются в щелочных условиях, A могут быть отделены только в кислых условиях. Варианты A1 и A2 β -казеина различаются заменой в гене, благодаря которой A1 содержит аминокислоту гистидин в 67-й позиции, а A2 – пролин [4].

Согласно результатам исследования генетической структуры различных пород крупного рогатого скота по гену β -казеина и его связи с хозяйственно-полезными признаками показатель РТАМ (прогнозируемая передающая способность по молочной продуктивности – прогноз среднего показателя молочной продуктивности дочерей быка сверх или ниже уровня генетической базы породы на каждый период лактации) выше у быков с генотипом A2A2 [5]. β -казеин A2A2 способствует усиленной выработке глутатиона у людей [6]. Молоко, полученное от коров с генотипом A2A2, менее аллергенно, и его употребление способствует сокращению количества случаев некоторых заболеваний [7].

Цель исследования – изучение полиморфизма гена β -казеина у коров голштинской породы Свердловской области и его влияния на показатели молочной продуктивности для ведения дальнейшей селекции.

Методика. Исследования проводили в 2023 г. на 221 особи крупного рогатого скота голштинской породы 2015–2020 гг. рождения. Коровы происходили от 49 отцов – выдающихся быков-производителей. Количество дочерей одного быка варьировало от одной до шестнадцати. Животные принадлежали племенной сельскохозяйственной организации в Свердловской области. Выделение ДНК осуществляли с использованием наборов ООО «Синтол» согласно методике изготовителя. Генотипирование ДНК животных по гену β -казеина проводили на приборе 7500 Real Time PCR System (Applied Biosystem) с использованием программ 7500 Software V.2.0.1.

Состав микса для проведения ПЦР на одну пробу: буфер – 1,08 мкл, dNTP – 0,31 мкл, CSN2 RT F – 0,63 мкл, CSN2 RT R – 0,63 мкл, CSN2 RT P1 – 0,35 мкл, CSN2 RT P2 – 0,35 мкл, MgCl2 – 0,2 мкл, Taq-полимераза – 0,25 мкл, деионизированная вода – 3,6 мкл. Микс разносили по 7,1 мкл + 3 мкл ДНК.

Время RealTime ПЦР 2 мин – 95 °C; 11 циклов 95 °C – 30 с, 60 °C – 1 мин, 72 °C – 30 с; 27 циклов с детекцией 95 °C – 30 с, 60 °C – 1 мин, 72 °C – 30 с.

Данные по молочной продуктивности коров брали из программы ИАС «СЕЛЭКС» – Молочный скот. Частоту встречаемости генотипов гена β -казеина рассчитывали по формулам Р. Фишера. Частоту аллелей определяли по формуле:

$$A1 = 2A1A1 + A1A2 / 2N, A2 = 2A2A2 + A1A2 / 2N,$$

где A1 и A2 – частоты встречаемости соответствующих аллелей; A1A1, A1A2, A2A2 – количество особей с соответствующими генотипами; N – общее число особей.

В процессе селекции происходит общее увеличение молочной продуктивности коров. Поэтому животные, рожденные позже, характеризуются более высокими показателями. Для демонстрации влияния генотипа коровы были разделены по годам рождения. Анализ показателей молочной продуктивности в зависимости от происхождения проводили на основе данных по потомству трех быков-производителей с наибольшим количеством дочерей в выборке.

Биометрическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel. Достоверность различий определяли с использованием критерия Стьюдента, уровни значимости: $p \leq 0,05$, $p \leq 0,01$ и $p \leq 0,001$.

Результаты и обсуждение. Частота встречаемости генотипа A1A1 в исследуемой выборке коров составила 15,4 %, A1A2 – 42,5 %, A2A2 – 42,1 %. Генотип A1A1 у исследованных животных встречался реже, чем остальные, а распространение генотипов β -казеина A1A2 и A2A2 было практически одинаковым (разница 0,4 %). Частота аллеля A1 составила 36,7 %, аллеля A2 – 63,3 %. Аллель A2 получил большее распространение в этой выборке крупного рогатого скота голштинской породы.

Табл. 1. Динамика частоты встречаемости генотипов β -казеина

Год рождения (количество)	Генотип	Частота встречаемости, %
2016 (n=11)	A1A1	9,2
	A1A2	45,4
	A2A2	45,4
2017 (n=34)	A1A1	6,0
	A1A2	47,0
	A2A2	47,0
2018 (n=60)	A1A1	21,6
	A1A2	43,4
	A2A2	35,0
2019 (n=77)	A1A1	14,4
	A1A2	42,8
	A2A2	42,8
2020 (n=36)	A1A1	19,5
	A1A2	33,3
	A2A2	47,2

Определение встречаемости генотипов β -казеина коров с учетом их года рождения свидетельствует об отсутствии какой-либо значительной динамики (табл. 2). Генотип A1A1 неизменно остается наименее распространенным, а A1A2 и A2A2 встречаются примерно с одинаковой частотой в интервале от 33 до 47,2 %.

Табл. 2. Влияние генотипов β -казеина на показатели молочной продуктивности коров за первую лактацию (n=201, X $\pm$ Sx)

Генотип	n	Удой, кг	МДЖ, %	МДБ, %
A1A1	31	11697 $\pm$ 390	3,65 $\pm$ 0,03	3,07 $\pm$ 0,01
A1A2	87	11639 $\pm$ 162	3,73 $\pm$ 0,02	3,14 $\pm$ 0,01
A2A2	83	11378 $\pm$ 168	3,69 $\pm$ 0,03	3,16 $\pm$ 0,01

Популяции разных пород крупного рогатого скота отличаются по генетической структуре гена β -казеина. Так, в холмогорской породе крупного рогатого скота Республики Коми также преобладает аллель A2 с частотой встречаемости 41...59 % и генотип A1A2 с частотой 45 % [6]. У холмогорского скота Архангельской области установлено уменьшение количества животных с генотипом A1A2 и преобладание особей с генотипом A1A1 [7]. В красно-пестрой породе крупного рогатого скота племенных хозяйств Красноярского края (n=70) также наиболее распространен аллель A2 [8].

Табл. 3. Динамика показателей молочной продуктивности коров за 305 дней 1-й лактации (X $\pm$ Sx)

Год рождения	Генотип	Удой, кг	МДЖ, %	МДБ, %
2017 (n=34)	A1A1 (n=2)	11929 $\pm$ 2463	3,87 $\pm$ 0,17	3,18 $\pm$ 0,03
	A1A2 (n=16)	11129 $\pm$ 332	3,89 $\pm$ 0,05	3,21 $\pm$ 0,01
	A2A2 (n=16)	11302 $\pm$ 361	3,86 $\pm$ 0,06	3,23 $\pm$ 0,03
2018 (n=60)	A1A1 (n=13)	10876 $\pm$ 390	3,65 $\pm$ 0,02	3,07 $\pm$ 0,03
	A1A2 (n=26)	11441 $\pm$ 295	3,67 $\pm$ 0,03	3,09 $\pm$ 0,02
	A2A2 (n=21)	11358 $\pm$ 332	3,73 $\pm$ 0,05	3,12 $\pm$ 0,02
2019 (n=77)	A1A1 (n=11)	12091 $\pm$ 647	3,61 $\pm$ 0,07	3,08 $\pm$ 0,02
	A1A2 (n=33)	12308 $\pm$ 273	3,62 $\pm$ 0,03	3,15 $\pm$ 0,01
	A2A2 (n=33)	11401 $\pm$ 290	3,57 $\pm$ 0,04	3,17 $\pm$ 0,01

Табл. 4. Молочная продуктивность коров от различных отцов

Бык-производитель (число дочерей)	Генотип по β -казеину	Частота встречаемости, %	Удой, кг	МДЖ, %	МДБ, %
Аардема Маджист	A1A2 (n=3)	23,1	13140±1147	3,67±0,03	3,10±0,03
3129037660 (n=13)	A2A2 (n=10)	76,9	12204±620	3,59±0,08	3,18±0,02
Трой 71753166 (n=16)	A1A1 (n=3)	18,7	11174±1236	3,67±0,05	3,12±0,05
	A1A2 (n=9)	56,3	11017±305	3,69±0,11	3,12±0,04
	A2A2 (n=4)	25,0	11908±880	3,66±0,08	3,15±0,05
Мэнни 74307908 (n=16)	A1A1 (n=3)	18,7	11853±589	3,65±0,12	3,03±0,08
	A1A2 (n=9)	56,3	11414±663	3,56±0,09	3,15±0,02*
	A2A2 (n=4)	25,0	10087±1215	3,73±0,10	3,16±0,06

Изучение связи между полиморфизмом по гену β -казеина и молочной продуктивностью животных за 305 дней первой лактации коров показало, что удой у носительниц генотипа A1A1 составил 11 697 кг, A1A2 – 11 639 кг, A2A2 – 11 378 кг (табл. 3). Разница по величине этого показателя была равна 58...319 кг. Массовая доля жира у коров с генотипом A1A1 – 3,65 %, A1A2 – 3,73 %, A2A2 – 3,69 %, разница составила 0,04...0,08 %. Существенных различий между величинами показателей удоя и массовой доли жира между носительницами разных генотипов β -казеина не установлено. Некоторые авторы отмечают аналогичные результаты по удою [8], в то же время в других исследованиях установлены высокие показатели молочной продуктивности коров черно-пестрой породы с генотипом A2A2 [9].

Массовая доля белка у коров с генотипом A2A2 была равна 3,16 %, что на 0,02 % ($p \leq 0,05$) больше, чем у животных с генотипом A1A2, и на 0,09 % ($p \leq 0,001$), по сравнению с особями с генотипом A1A1. Выявленная связь генотипа A2A2 с повышенным содержанием белка в молоке согласуется с данными других исследований [8].

С каждым последующим годом рождения отмечено уменьшение содержание жира в молоке на 0,01...0,29 %. Также с течением времени наблюдается незначительное увеличение удоев на 50...300 кг. Отсутствие динамики изменения содержания белка в молоке позволяет предположить, что повышенная массовая доля белка связана с носительством коровами генотипа A2A2, а не со сроком их рождения. В группах животных каждого года рождения массовая доля белка в молоке коров – носительниц генотипа A2A2 на 0,05...0,09 % выше, чем у сверстниц ($p \leq 0,05$...0,001).

Содержание белка в молоке дочерей всех 3 быков-производителей, потомство которых было наиболее широко представлено в выборке, с генотипом A2A2 превышало величину этого показателя у коров аналогичного происхождения с другим генотипом на 0,03...0,13 %. Большинство дочерей быка Аардема Маджист 3129037660 в изученной выборке имело генотип A2A2, Трой 71753166 и Мэнни 74307908 – A1A2. Это дает возможность предположить, что быки Трой 71753166 и Мэнни 74307908 – носители генотипа A1A2 по гену β -казеина, а Аардема Маджист 3129037660 обладает ценным генотипом A2A2.

Выводы. Аллель A2 гена β -казеина имеет наибольшее распространение (63,3 %) среди животных голштинской породы в Свердловской области. Генотип A1A1 встречается реже (15,4 %), генотипы A1A2 и A2A2 распространены практически одинаково. Ген β -казеин оказывает влияние на массовую долю белка в молоке коров. Коровы-носительницы генотипа A2A2 и аллеля A2 – наиболее желательны для селекции крупного рогатого скота, так как этот генотип связан с высоким содержанием белка в молоке, что делает его наиболее пригодным для производства сыра. Разница между носительницами генотипа A2A2 и сверстницами по мас-

совой доле белка в молоке составляет 0,05...0,09 % ($p \leq 0,05$...0,001).

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ.

Источником финансирования являлось выполнение государственного задания по теме: «Изучить селекционно-генетические характеристики крупного рогатого скота Уральского региона с использованием биотехнологических методов в целях создания новых селекционных форм животных, обладающих высоким генетическим потенциалом молочной продуктивности, качества молока и продолжительности хозяйственного использования».

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ.

Авторы выражают благодарность сотрудникам отдела животноводства и генетических исследований Уральского НИИСХ – филиала ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН за помощь в подборе методики и подготовке проб ДНК.

Литература.

1. Полиморфизм гена лептина у коров молочного направления продуктивности / Л. Н. Чижова, Л. В. Кононова, Г. Н. Шарко, Г. П. Ковалева // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. Михайловск. 2017. Т. 2. № 10. С. 113–117.
2. Характеристика биологической эффективности и полноценности молочной продуктивности голштинских коров-первотелок с разными генотипами лептина (LEP) / Н. Ю. Сафина // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. № 4. С. 131–133.
3. Молекулярно-генетические модификации К-казеина / А. Г. Кручинин, С. Н. Туровская, Е. Е. Илларионова и др. // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2020. № 4 (376). С. 12–16. doi: 10.26297/0579-3009.2020.4.3.
4. Beta-Casein – an overview | Science Direct Topics URL: <https://www.sciencedirect.com/topics/food-science/beta-casein> (дата обращения: 28.09.2023).
5. Новые сочетания аллелей в вариантах генов казеинового кластера крупного рогатого скота и ревизия их номенклатуры / С. Б. Кузнецов, Е. В. Солоднева, М. Т. Семина и др. // Генетика. 2022. Т. 58. № 8. С. 889–901. doi: 10.31857/S0016675822080057.
6. Токарчук Т. А., Кожевникова И. С., Кудрина М. А. β -казеин *Bos taurus*: структура белка, полиморфизм гена, влияние на желудочно-кишечный тракт человека (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2023. Т. 58. № 4. С. 598–608. doi: 10.15389/agrobiology.2023.4.598rus.

7. Рыбалова Т. И. *A2 против A1 // Молочная промышленность. 2018. № 5. С. 50–52.*
8. Худякова Н. А., Кудрина М. А., Ступина А. О. *Частота встречаемости генотипов молочных белков у коров холмогорской породы // Молочная промышленность. 2022. № 12. С. 45–47. doi: 10.31515/1019-8946-2022-12-45-47.*
9. *Ассоциация генотипов коров холмогорской породы по бета-казеину с молочной продуктивностью / Е. В. Парыгина, Н. А. Худякова, О. В. Тулинова и др. // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. 2022. Т. 23. № 6. С. 877–883. doi: 10.30766/2072-9081.2022.23.6.877-883.*
10. *Молочная продуктивность коров красно-пестрой породы с разными генотипами бета-казеина / Л. А. Калашикова, Я. А. Хабибрахманова, А. И. Голубков и др. // Молочное и мясное скотоводство. 2022. № 2. С. 21–24. doi: 10.33943/MMS.2022.82.31.005.*
11. *Парамонова М. А. Влияние полиморфизма гена молочного белка CSN2 на продуктивные качества скота черно-пестрой породы // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2023. № 5 (103). С. 300–305. doi: 10.37670/2073-0853-2023-103-5-300-305.*

Поступила в редакцию 18.03.2024

После доработки 01.08.2024

Принята к публикации 22.10.2024