

ВЛИЯНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕНОТИПОВ КАППА-КАЗЕИНА В ДВУХ ПОКОЛЕНИЯХ НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ КОРОВ*

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Наталья Александровна Худякова, канд. с.-х. наук
Марина Александровна Кудрина, младший научный сотрудник
Инга Андреевна Классен, младший научный сотрудник
E-mail: labinnovrazv@yandex.ru

Федеральный исследовательский центр комплексного изучения Арктики им. академика Н. П. Лаверова РАН, г. Архангельск

Повышение качественных и количественных характеристик молока является одной из выжнх задач молочного животноводства. В настоящее время растущей популярностью пользуется маркерная селекция. Наиболее перспективным генетическим маркером является каппа-казеин. Генотипы АВ и ВВ гена каппа-казеина в научных работах связывают с высоким содержанием белка, повышенным выходом творога и сыра, а также улучшенными коагуляционными свойствами молока. Цель настоящего исследования состояла в выявлении закономерностей в наследовании желательного генотипа у потомства коров при различных генетических комбинациях их матерей, а также сопоставлении этих результатов с показателями их молочной продуктивности. Экспериментальная работа была осуществлена в 2023 году на матерях и их дочерях крупного рогатого скота холмогорской породы. В ходе исследования использовались животные, содержащиеся в ООО «Агрофирма «Холмогорская» и АО «Холмогорский племзавод». ДНК выделяли с помощью набора реагентов «МагноПрайм ВЕТ». Полиморфизм гена каппа-казеина проводили методом ПЦР-ПДФ. В результате исследования установили частоту встречаемости генотипов и аллелей гена каппа-казеина. В обоих хозяйствах отмечалась более высокая частота аллеля А как у коров-матерей, так и у их потомства, по сравнению с аллелем В. Установлено преобладание генотипа АА в обоих поколениях. В АО «Холмогорский племзавод» наиболее высокие показатели продуктивности были отмечены у потомства с гомозиготным генотипом по аллелю А, происходящего от матерей с гетерозиготным генотипом – 6741 кг, и у потомства с гомозиготным генотипом по аллелю В, также происходящего от матерей с гетерозиготным генотипом АВ – 6008 кг. В то время как в ООО «Агрофирма Холмогорская» наивысшие показатели молочной продуктивности наблюдались у потомства с гомозиготным генотипом ВВ, происходящего от матерей с гетерозиготным генотипом АВ – 7592 кг.

Ключевые слова: холмогорская порода, каппа-казеин, генотип, крупный рогатый скот, ген, молочная продуктивность, полиморфизм

Для цитирования: Худякова, Н. А. Влияние распределения генотипов каппа-казеина в двух поколениях на молочную продуктивность коров / Н. А. Худякова, М. А. Кудрина, И. А. Классен // Молочная промышленность. 2024. № 5. С 92–97. <https://www.doi.org/10.21603/1019-8946-2024-5-9>

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день повышение качественных и количественных характеристик молока является одной из первоочередных задач молочного животноводства. В связи с этим растущей популярностью пользуется маркерная селекция. Использование генетических маркеров, ассоциированных с качественными показателями молока, получило широкое распространение во всем мире. Среди них ген каппа-казеина является одним из самых востребованных [1].

Каппа-казеин представляет собой ген, связанный с признаками белкомолочности и технологическими свойствами молока. Он расположен на 6 хромосоме и имеет 2 экзона. В настоящее время известно 7 аллельных вариантов этого гена (А, В, С, Е, F, G, H), из которых наиболее часто встречающимися являются аллели А и В [2]. Эти вари-

анты отличаются между собой двумя точечными мутациями. У аллеля А в 136 положении происходит замена аминокислоты треонина на изолейцин, а у аллеля В происходит замена в 148 положении аспарагина на аланин¹. Генотипы АВ и ВВ связывают с высоким содержанием белка, большим выходом творога и сыра, а также улучшенными коагуляционными свойствами молока. Установлено, что твердые сыры высокого качества чаще всего изготавливаются из молока коров, несущих генотип ВВ. Проведенные исследования показали, что у животных с генотипом ВВ общая продолжительность свертывания молока на 0,57 минут меньше в сравнении с животными с генотипом АА [3, 4, 5, 6].

Для формирования стада с предпочтительным генотипом по гену каппа-казеина необходимо проводить тщательный отбор и селекцию, учитывая генетиче-

*Статья подготовлена в рамках выполнения темы государственного задания ФГБУН ФИЦКИА УрО

РАН «Молекулярно-генетическая оценка сельскохозяйственных животных по селекционным и хозяйственно-полезным признакам в условиях арктических и субарктических территорий РФ» (FUUW-2024-0006).

¹Рекомендации по геномной оценке крупного рогатого скота / Л. А. Калашникова, Я. А. Хабибрахманова, И. Ю. Павлова [и др.]. – Лесные Поляны : Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела, 2015. – 33 с. <https://www.elibrary.ru/vkxbqd>

ские характеристики. Оценка и выбор племенных коров-матерей играют важную роль в этом процессе. Международный опыт разведения молочного скота показывает, что наиболее эффективным методом обеспечения желаемого генотипа потомства является скрещивание быков с генотипом ВВ с коровами, имеющими аналогичный генотип [7].

Цель исследования состояла в выявлении закономерностей в наследовании желательного генотипа у потомства коров при различных генетических комбинациях их матерей, а также сопоставлении этих результатов с показателями их молочной продуктивности.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа проведена в 2023 году на двух поколениях представителей крупного рогатого скота холмогорской породы. В ходе исследования использовались животные, содержащиеся в ООО «Агрофирма «Холмогорская» и АО «Холмогорский племзавод». Для выбора исследуемой группы животных были составлены пары дочь-мать. В выборку входили коровы дочери, которые в данный период лактировали в стаде. Их общее количество составило 206 голов. Для проведения отбора цельной крови у животных использовался метод забора образца из яремной вены и последующее помещение в вакуумные пробирки с антикоагулянтом КЗ ЭДТА. Для извлечения ДНК использовались реагенты из набора «МагноПрайм ВЕТ» в соответствии с установленным протоколом.

Для выявления полиморфизма гена каппа-казеина использовался метод ПЦР-ПДРФ, для этого были синтезированы праймеры с определенной нуклеотидной последовательностью:

5' -ATA-GCC-AAA-TAT-ATC-CCA-ATT-CAGT-3'
(прямой праймер);

5' -TTT-ATT-AAT-AAG-TCC-ATG-AAT-CTTG-3'
(обратный праймер).

Рестриктный анализ проводился при 37 °С в течение 19 часов с использованием экзонуклеазы рестрикции Hind III («SibEnzyme», Россия).

Визуализация результатов рестриктного анализа проводили путем горизонтального электрофореза в 3 % агарозном геле.

Таблица 1

Характеристика фрагментов ДНК аллельных вариантов CSN3

Амплификат CSN3, (п. н.)	Генотипы	Длина фрагментов рестрикции, (п. н.)
	AA	530
530	AB	530, 400, 130
	BB	400, 130

Частоту встречаемости генотипов рассчитывали согласно Е. К. Меркурьевой (1977) по формуле (1) [8]:

$$P = \frac{n}{N}, \quad (1)$$

где P – частота определенного генотипа; n – количество животных, имеющих определенный генотип; N – общее число животных.

Частоту отдельных аллелей определяли по формулам (2, 3):

$$p = \frac{(2n_{AA} + n_{AB})}{2N}, \quad (2)$$

$$q = \frac{(2n_{BB} + n_{AB})}{2N}, \quad (3)$$

где p – частота аллеля А; q – частота аллеля В; n_{AA}, n_{AB}, n_{BB} – количество животных с определенным генотипом; N – общее число животных.

Для прогнозирования ожидаемого распределения генотипов использовался закон Харди-Вайнберга, рассчитанный с помощью формулы (4)²:

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1, \quad (4)$$

где p – частота аллеля А; q – частота аллеля В. Для сопоставления фактического и ожидаемого распределения частот генотипов использовали критерий соответствия «хи-квадрат» (χ^2) (Меркурьева Е. К., 1977) (4) [9]:

$$\chi^2 = \sum \frac{(P_{\text{факт}} - P_{\text{теор}})^2}{P_{\text{теор}}}, \quad (5)$$

где p_{факт} – фактическое количество особей данного генотипа; p_{теор} – теоретически ожидаемое количество особей данного генотипа.

Для расчета статистических показателей использовалась программа Microsoft Excel 2021. Полученные результаты представлены в виде Me ± S (среднее значение ± ошибка среднего арифметического) [9].

² Айала, Ф. Современная генетика: в 3-х томах / Ф. Айала, Дж. Кайгер. – М.: Мир, 1987 – Т. 1. – 295 с.



Источник изображения: unsplash.com

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования была определена частота встречаемости различных генотипов и аллелей гена каппа-казеина у особей крупного рогатого скота породы холмогорской в двух поколениях. Результаты приведены в таблице 2.

Частота встречаемости аллелей в обоих хозяйствах и у матерей, и у дочерей практически одинаковая. В АО «Холмогорский племязавод» частота встречаемости аллеля А у коров-матерей составила 0,85, аллеля В – 0,15; у коров-дочерей аллель А составил 0,82, аллель В – 0,18. В ООО «Агрофирма «Холмогорская» у коров-матерей частота встречаемости аллеля А – 0,87, у коров-дочерей 0,90; аллель В – 0,13 и 0,10, соответственно.

Ожидаемые частоты встречаемости генотипов гена каппа-казеина практически идентичны наблюдаемым результатам, что указывает на преобладание случайного скрещивания в исследуемых популяциях. Расчетное значение χ^2 свидетельствует об отсутствии смещения генетического равновесия в изученной выборке животных.

Отмечается преобладание числа особей с генотипом АА в двух поколениях, что составляет 69,8 и 74,0 % среди коров-матерей и 66,0 и 82,0 % в потомстве соответственно (см. рис.).

В обеих организациях наблюдается увеличение частоты встречаемости генотипа ВВ в дочернем потомстве на примерно одинаковый процент: АО «Холмогорский племязавод» на 1,9 %, ООО «Агрофирма Холмогорская»

Таблица 2

Полиморфизм гена каппа-казеина крупного рогатого скота холмогорской породы

Поколение животных	Количество голов, n	Тип распределения генотипа	AA		AB		BB		Частота аллелей		χ^2
			n	%	n	%	n	%	A	B	
АО «Холмогорский племязавод»											
матери	53	Наблюдаемое	37	69,8	16	30,2	0	0	0,85	0,15	1,68
		Ожидаемое	38	72,1	14	25,6	1	2,3			
дочери	53	Наблюдаемое	35	66,0	17	32,1	1	1,9	0,82	0,18	0,43
		Ожидаемое	36	67,4	16	29,4	2	3,2			
ООО «Агрофирма «Холмогорская»											
матери	50	Наблюдаемое	37	74,0	13	26,0	0	0	0,87	0,13	1,12
		Ожидаемое	38	75,7	11	22,6	0	1,7			
дочери	50	Наблюдаемое	41	82,0	8	16,0	1	2,0	0,90	0,10	0,62
		Ожидаемое	41	81,0	9	18,0	0	1,0			

на 2,0 %, в то время как коровы-матери с данным генотипом отсутствуют, что свидетельствует о предпочтении в селекции быков-производителей, несущих аллель В. В ООО АО «Холмогорский племзавод» также наблюдается увеличение частоты встречаемости генотипа АВ в дочернем потомстве с 30,2 до 32,1 % и снижение частоты встречаемости генотипа АА, в то время как в ООО «Агрофирма «Холмогорская» наоборот в дочернем потомстве животных с генотипом АВ становится меньше, а количество животных с генотипом АА больше.

В таблице 3 представлены результаты распределения генотипов по гену каппа-казеина среди коров-дочерей.

В АО «Холмогорский племзавод» и в ООО «Агрофирма «Холмогорская» отмечается преобладание аллеля А в двух поколениях, что в свою очередь оказывает влияние на наследование генотипов, содержащих аллель А. В результате чаще встречается генотип АА.



Рисунок. Распределение частоты встречаемости генотипов каппа-казеина в исследуемых стадах



Источник изображения: unsplash.com

Таблица 3

Распределение частот аллелей и генотипов по каппа-казеину в дочернем потомстве

Поклоение животных	Количество голов, n	Тип распределения генотипа	Генотип дочерей						Частота аллелей		χ^2
			АА		АВ		ВВ		А	В	
			n	%	n	%	n	%			
АО «Холмогорский племзавод»											
АА	37	Наблюдаемое	30	81,1	7	18,9	0	0	0,91	0,09	0,40
		Ожидаемое	30	82,0	6	17,1	0	0,9			
АВ	16	Наблюдаемое	5	31,3	10	62,5	1	6,3	0,63	0,38	1,78
		Ожидаемое	6	39,1	8	46,9	2	14,1			
ООО «Агрофирма «Холмогорская»											
АА	37	Наблюдаемое	34	91,9	3	8,1	0	0	0,96	0,04	0,07
		Ожидаемое	34	92,1	3	7,8	0	0,2			
АВ	13	Наблюдаемое	7	53,8	5	38,5	1	7,7	0,73	0,27	0,01
		Ожидаемое	7	53,4	5	39,3	1	7,2			

Это свидетельствует о снижении вероятности наследования аллеля В потомством, что, в свою очередь, может привести к уменьшению числа особей с гомозиготным генотипом по данному аллелю в стаде.

Смещение генетического равновесия не обнаружено. Сопоставление фактического и предполагаемого распределения генотипов каппа-казеина указывает на преобладание случайного скрещивания в популяциях скота.

С целью определения наиболее перспективного генотипа для последующего отбора в рамках селекционных работ мы провели анализ молочной продуктивности крупного рогатого скота породы холмогорской у потомства в течение первой лактации, продолжительностью 305 дней. Проведенный анализ включал оценку удоя, содержания жира и белка в молоке в зависимости от генотипов матерей. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Из таблицы видно, что в АО «Холмогорский племзавод» наивысший показатель по удою за 305 дней первой лактации имели животные с генотипом АА от коров-матерей с генотипом АВ – 6741 кг, на втором месте дочери с генотипом ВВ от коров-матерей АВ – 6008 кг, далее идут коровы с генотипом АВ от коров-матерей с генотипом АВ – 5608 кг и коровы с генотипом АВ от коров матерей с генотипом АА – 5531 кг. Самый низкий показатель отмечен у животных с генотипом АА от коров-матерей с аналогичным генотипом – 5304 кг. Наиболее высокие показатели по жиру показали животные с генотипом АВ от матерей с генотипом АА – 4,07 %; дочери с генотипом АА от матерей с генотипом АА – 3,73 %. Самый низкий процент жира зарегистрирован у коров-дочерей с генотипом ВВ от коров-матерей с генотипом АВ. Самый высокий показатель белка – 3,34 % у животных с генотипом АВ от коров-матерей с генотипом АА, затем идут животные с генотипом АА от коров-матерей с генотипом АА – 3,16 %;

Таблица 4

Характеристика молочной продуктивности за 305 дней первой лактации при распределении генотипов по каппа-казеину в дочернем потомстве

Генотип матери	Генотип дочери	Количество голов дочерей, n	Показатель	Удой за 305 дней первой лактации, кг	Жир, %	Белок, %	Количество жира, кг	Количество белка, кг
АО «Холмогорский племзавод»								
АА	АА	11	М	5304	3,73	3,16	197,8*	167,6
			м	257	0,13	0,06	91	7,5
	АВ	3	М	5531	4,07	3,34	225,1*	184,7
			м	150	0,15	0,06	3,3	4,5
АВ	АА	3	М	6741	3,60	3,06	242,7	206,3
			м	918	0,17	0,09	31,8	25,2
	АВ	8	М	5608	3,56	3,13	199,6	175,5
			м	163	0,07	0,06	6,5	5,1
	ВВ	1	М	6008	3,43	3,01	206,1	180,8
			м	–	–	–	–	–
ООО «Агрофирма «Холмогорская»								
АА	АА	30	М	5067	3,60	3,07*	182,4	155,6
			м	177	0,03	0,03	5,9	4,7
	АВ	3	М	5682	3,69	2,97*	209,7	168,8
			м	261	0,09	0,03	14,9	9,3
АВ	АА	1	М	6583	3,49	2,95	229,8	194,2
			м	–	–	–	–	–
	АВ	5	М	5129	4,03	3,20	206,7	164,1
			м	338	0,15	0,07	15,3	11,9
	ВВ	1	М	7592	3,33	3,14	252,8	238,4
			м	–	–	–	–	–

Различия достоверны * $p \leq 0,05$

дочери с генотипом АВ от коров-матерей с генотипом АВ – 3,13 %; дочери с генотипом АА от коров-матерей с генотипом АВ – 3,06 % и наименьший показатель отмечен у коров с генотипом ВВ от коров-матерей с генотипом АВ – 3,01 %. Касательно количества жира наилучший показатель отмечен у коров-дочерей с генотипом АА от коров-матерей с генотипом АВ – 242,7 кг; у коров-дочерей с генотипом АВ от коров-матерей с генотипом АА – 225,1 %. Наилучшие показатели количества белка имели животные с генотипом АА от коров-матерей с генотипом АВ – 206,3 кг.

В ООО «Агрофирма «Холмогорская» самый лучший показатель по удою за 305 дней первой лактации у животных с генотипом ВВ от коров-матерей с генотипом АВ – 7592 кг; далее идут коровы с генотипом АА от коров-матерей с генотипом АВ – 6583 кг; самый низкий показатель отмечен

у коров с генотипом АА от коров-матерей с генотипом АА – 5067 кг. По массовой доле жира и белка наибольший показатель имеют дочери с генотипом АВ от коров с генотипом АВ, 4,03 и 3,20 % соответственно, а наименьший по массовой доле жира у коров с генотипом ВВ от матерей с генотипом АВ – 3,33 %, по массовой доле белка у коров с генотипом АА от коров-матерей с генотипом АВ – 2,95 %. Наибольшее количество жира и белка имеют дочери с генотипом ВВ от коров-матерей с генотипом АВ – 252,8 и 238,4 кг соответственно.

Таким образом, генотип, несущий аллель В, оказывает положительное влияние на повышение показателей молочной продуктивности коров. При подборе пар крупного рогатого скота вероятность передачи аллеля В дочернему потомству велика если матери имеют генотипы АВ или ВВ. ■

EFFECT OF K-CASEIN GENOTYPES ON MILK YIELD IN SECOND-GENERATION DAIRY CATTLE

Natalia A. Khudyakova, Marina A. Kudrina, Inga A. Klassen

Federal Research Center for Comprehensive Arctic Studies, Arkhangelsk

ORIGINAL ARTICLE

Improving the qualitative and quantitative characteristics of milk is crucial for national food safety. Genetic marker selection demonstrates good prospects in this regard, the most promising genetic marker being *k*-casein, or kappa-casein. The AB and BB genotypes of *k*-casein are associated with such positive milk properties as high protein content, good coagulation, and increased yield of cottage cheese or cheese. The research objective was to identify inheritance patterns in female calves obtained from cows with various genetic backgrounds. These results were checked for correlation with milk yield indicators. The experiment featured cows of the Kholmogorsky breed and their female calves. It was conducted in 2023 on the premises of two breeding farms, i.e., Kholmogorskaya Plemzavod and Kholmogorskaya Agrofirma. The DNA was isolated using a set of MagnoPrime VET reagents. The polymorphism test of the *k*-casein gene was performed by the RELF PCR method. The experiment revealed the frequency of occurrence of genotypes and alleles of the *k*-casein gene. In both farms, A allele was more frequent in both mother cows and calves than the B allele. The AA genotype predominated in both generations. In Kholmogorskaya Plemzavod, the highest milk yield (6,741 kg) belonged to the calves with a homozygous genotype for allele A, which they received from their mothers with a heterozygous genotype. A similar trend (6,008 kg) was established in calves with a homozygous genotype for allele B, which they inherited from their mothers with a heterozygous genotype AB. In Kholmogorskaya Agrofirma, the highest milk yield (7,592 kg) was observed in the second-generation cows with a homozygous BB genotype, which they received from their mothers with a heterozygous AB genotype.

Keywords: cattle, Kholmogorskaya breed, kappa-casein, *k*-casein, genotype, gene, dairy productivity, polymorphism

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Долматова, И. Ю. Оценка генетического потенциала крупного рогатого скота по маркерным генам / И. Ю. Долматова, Ф. Р. Валитов // Вестник Башкирского университета. 2015. Т. 20, № 3. С. 850–853. <https://www.elibrary.ru/vbbrjrp>
2. Матушкина, Е. В. Характеристика каппа-казеина как фракции молочного белка / Е. В. Матушкина // Аграрный вестник Урала. 2014. № 9(127). С. 38–40. <https://www.elibrary.ru/swegyp>
3. Гончаренко, Г. М. Полиморфизм гена к-казеина и сыродельческие признаки молока коров симментальской породы / Г. М. Гончаренко, Т. С. Горячева, Н. С. Медведева [и др.] // Достижения науки и техники АПК. 2013. № 10. С. 45–46. <https://www.elibrary.ru/rfmfkr>
4. Сафина, Н. Ю. Влияние комплексных генотипов генов каппа-казеин (CSN3) и бета-лактоглобулин (LGB) на молочную продуктивность голштинского скота / Н. Ю. Сафина, Э. Р. Гайнутдинова, Ф. Ф. Зиннатова [и др.] // Аграрный научный журнал. 2020. № 5. С. 64–67. <https://doi.org/10.28983/asj.y2020i5pp64-67>; <https://www.elibrary.ru/pkuanv>
5. Корчагина, Ю. А. Оценка быков-производителей в ЗАО СП "Меленковский" по локусу гена каппа-казеина / Ю. А. Корчагина, П. В. Тамарова // Аграрный вестник Урала. 2011. № 7(86). С. 14–15. <https://www.elibrary.ru/palsfp>
6. Валитов, Ф. Р. Качественный состав молока коров с разными генотипами по гену каппа-казеина / Ф. Р. Валитов, И. Ю. Долматова, И. Н. Ганиева, И. Р. Кунафин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. 2014. Т. 219, № 3. С. 70–73. <https://www.elibrary.ru/svrqit>
7. Чаицкий, А. А. Влияние генотипов гена каппа-казеина на сыропригодные свойства молока коров / А. А. Чаицкий, А. Д. Лемякин, А. Н. Тяжченко [и др.] // Вестник АПК Верхневолжья. 2022. № 2(58). С. 33–43. <https://doi.org/10.35694/YARCX.2022.58.2.005>; <https://www.elibrary.ru/akgidt>
8. Меркурьева, Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – М.: «Колос», 1977. – 240 с.
9. Худякова, Н. А. Распределение генотипа бета-казеина в двух поколениях у коров холмогорской породы / Н. А. Худякова, О. В. Тулинова, И. С. Кожевникова [и др.] // Аграрный научный журнал. 2023. № 10. С. 134–139. <https://doi.org/10.28983/asj.y2023i10pp134-139>; <https://www.elibrary.ru/utnrma>