

ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 636. 082.12

DOI: 10.52754/16947452_2022_4_64

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНА БЕТА-КАЗЕИНА В СТАДАХ
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА БУРОЙ ШВИЦКОЙ ПОРОДЫ**

*Калашикова Любовь Александровна, д.б.н., профессор,
Аминовна Язиля Хабибрахманова, к.б.н.,
Ганченкова Татьяна Борисовна, к.б.н.,
Багаль Ирина Евгеньевна, к.б.н.,
Павлова Ирина Юрьевна, к.б.н.,
Рыжова Наталья Владимировна, к.б.н.,
Калашиков Владимир Евгеньевич
ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский
институт племенного дела»,
Москва, Россия
ladnatehplem@mail.ru*

Аннотация. В статье представлены результаты оценки генетических ресурсов молочного скота бурой швицкой породы по гену бета-казеина (CSN2), разводимого в племенных хозяйствах РФ (341 голова). Показано преобладание аллеля A2, связанного с диетическими свойствами молока, и генотипа A2A2 в стадах коров бурой швицкой породы. В среднем по всему исследованному поголовью частота аллеля A2 составляет 0,757, генотип A2A2 встречается с частотой 58%. Установлено, что частота встречаемости аллеля A2 в стадах бурой швицкой породы отечественной селекции варьирует от 0,69-0,71. У импортного маточного поголовья частота желательного аллеля A2 достигает 0,92.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, бурая швицкая порода, бета-казеин, генотип, аллель A1, аллель A2, ПЦР.

**КҮРӨҢ ШВЕЙЦЕРЛИЯЛЫК УЙЛАРДЫН
БЕТА-КАЗЕИН ГЕНИНИН ПОЛИМОРФИЗМИ**

*Калашикова Любовь Александровна, б.и.д., профессор
Хабибрахманова Язиля Аминовна, б.и.к.,
Татьяна Борисовна Ганченкова, б.и.к.,
Ирина Евгеньевна Багал, б.и.к.,
Ирина Юрьевна Павлова, б.и.к.,
Рыжова Наталья Владимировна, б.и.к.,
Владимир Евгеньевич Калашиков
Федералдык мамлекеттик бюджеттик илимий мекеме "Бүткүл
россиялык асыл тукум изилдөө институту,
Москва, Россия
ladnatehplem@mail.ru*

Аннотация. Макалада Россия Федерациясынын асыл тукум чарбаларында өстүрүлгөн (341 баш) Браун швейцариялык породасындагы сүт багытындагы бодо малдын генетикалык ресурстарын бета-казеин (CSN2) гени боюнча баалоонун жыйынтыктары берилген. Күрөң швейцариялык уйлардын үйүрүндө сүттүн диеталык касиеттери жана А2А2 генотиби менен байланышкан А2 аллелинин басымдуулугу көрсөтүлгөн. Орточо алганда, А2 аллелинин жыштыгы изилденген бүткүл популяция үчүн 0,757, А2А2 генотиби 58% жыштыгы менен кездешет. Ата мекендик селекциядагы Браун швейцариялык породасындагы оторлордо А2 аллелинин пайда болуу жыштыгы 0,69-0,71ге чейин өзгөрөрү аныкталган. Импорттолгон асыл тукум малда каалаган А2 аллелинин жыштыгы 0,92ге жетет.

Ачкыч сөздөр: бодо мал, күрөң швейцар породасы, бета-казеин, генотип, А1 аллеле, А2 аллеле, ПЦР

BETA-CASEIN GENE POLYMORPHISM IN STUDS BROWN SWITZERLAND CATTLE

*Lyubov Kalashnikova, doctor of biological sciences, professor,
Yazilya Aminovna Khabibrakhmanova, candidate of biological sciences*

Tatyana Borisovna Ganchenkova, candidate of biological sciences

Irina Evgenievna Bagal, candidate of biological sciences

Irina Yuryevna Pavlova, candidate of biological sciences

Natalya Vladimirovna Ryzhova, candidate of biological sciences

Vladimir Evgenievich Kalashnikov

All Russian Research Institute of Animal Breeding

ladnatehplem@mail.ru

Moscow, Russia

Abstract. The article presents the results of the assessment of the genetic resources of dairy cattle of the Brown Swiss breed by the beta-casein gene (CSN2), bred in breeding farms of the Russian Federation (341 heads). The predominance of the A2 allele associated with the dietary properties of milk and the A2A2 genotype in herds of brown Swiss cows was shown. On average, the frequency of the A2 allele is 0.757 for the entire population studied, the A2A2 genotype occurs with a frequency of 58%. It has been established that the frequency of occurrence of the A2 allele in the herds of the Brown Swiss breed of domestic selection varies from 0.69-0.71. In imported breeding stock, the frequency of the desired A2 allele reaches 0.92.

Key words: cattle, Brown Swiss breed, beta-casein, genotype, A1 allele; A2 allele, PCR

Введение. В Российской Федерации по данным ежегодника по племенной работе в молочном скотоводстве 2022 г. имеется 11560 удойных коров бурой швицкой породы со средним удоём 5919 кг, с массовой долей жира 4,06%, белка 3,34%, с живой массой 553 кг. [1].

Молоко бурых швицких коров имеет высокие качественные показатели и технологические характеристики [2].

Главным белком молока является казеин. Казеины составляют около 78-82% от общего количества белков молока коров и подразделяются на четыре основные группы: α S1-казеин, α S2-казеин, β -казеин и κ -казеин. На долю β -казеина приходится 22-23% общего белка молока. У крупного рогатого скота выявлено 13 различных генетических вариантов β -казеина (CSN2), среди которых наиболее распространены аллели A1 и A2, отличающиеся заменой одной аминокислоты в полипептидной цепи [3]. Вариант A1 содержит гистидин, а вариант A2 содержит пролин в положении 67 аминокислотной цепи.

Исследователи полагают, что замена пролина на гистидин может привести высвобождению коротких остаточных пептидов бета-казоморфина-7 при переваривании молока в пищеварительном тракте человека. Бета-казоморфин -7 имеет опиоидные и оксидантные свойства и может способствовать развитию ряда заболеваний у человека [4,5,6].

Результаты исследований ряда авторов показывают потенциальную пользу потребления β -казеинового молока A2 для улучшения работы желудочно-кишечного тракта, детского питания, состояния иммунной системы человека [7,8,9].

Единственный способ производства молока A2 – это маркерная селекция с использованием результатов генотипирования животных по генотипам бета-казеина, поскольку молоко A2 с улучшенными диетическими свойствами производят коровы с генотипом A2A2.

Цель работы – изучить полиморфизм гена бета-казеина у крупного рогатого скота бурой швицкой породы.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования было маточное поголовье бурой швицкой породы (341 голова), принадлежащее племенным хозяйствам АО «Смоленское» по племенной работе Смоленской области (167 голов), СПК «Талашкино-Агро» Смоленской области (84 голов), ООО «Агрофармтрест», Тульской области (90 голов). Исследования полиморфизма 7 экзона гена бета-казеина в нуклеотидной последовательности GenBank (m 55158) в позиции g.8101 C>A (кодон 67) проводились в лаборатории ДНК – технологий ФГБНУ ВНИИплем. Для изучения полиморфизма гена CSN2 был использован аллель-специфичный вариант метода ПЦР (АС-ПЦР) [10].

Для проведения ПЦР были синтезированы праймеры с нуклеотидной последовательностью [10]:

GBhF: 5'CTTCCCTGG GCCCATCCA3' (прямой праймер для аллеля A1);

IGBhF: 5'CTTCCCTGGGCCCATCCC3' (прямой праймер для аллеля A2);

IGBhR: 5'/AGACTGGAGCAGAGGCAGAG3' (обратный праймер для A1, A2).

ПЦР – программа проходила в температурно-временном режиме: начальная денатурация - 5 минут при 94⁰С; далее следует 5 циклов: 30 секунд при 94⁰С, 30 секунд при 66⁰С, 30 секунд при 72⁰С; затем следует 30 циклов: 30 секунд при 94⁰С, 30 секунд при 64⁰С, 30 секунд при 72⁰С; и финальная достройка– 5 минут при 72⁰С.

Компьютерная визуализация результатов проведения аллель-специфичной ПЦР осуществлялась после проведения электрофореза амплификатов в 2% агарозном геле с окраской бромистым этидием.

В качестве маркеров молекулярных весов использовали ДНК pUC19 DNA/MspI. Маркерной краской служила смесь: бромфеноловый синий (0,01%), 25% фикола, 10мМ ЭДТА и 1% SDS.

Породная принадлежность животных определялась согласно зоотехническим документам.

Статистическая обработка результатов была выполнена с использованием компьютерной программы «Microsoft Excel».

Результаты и обсуждения. В результате генотипирования маточного поголовья бурой швицкой породы во всех исследованных стадах выявлено наличие двух аллелей A1 и A2 и трех генотипов A1A1, A1A2 и A2A2. Аллельные варианты гена бета-казеина являются кодоминантными. В молоке коров с гетерозиготным генотипом A1A2 присутствуют оба варианта белка. В молоке коров с гомозиготным генотипом присутствует один вариант белка. В так называемом молоке A2 присутствует только аллельный вариант A2.

Результаты генотипирования коров бурой швицкой породы приведены в таблице 1. Оказалось, что в целом по трем хозяйствам больше половины коров бурой швицкой породы обладают желательным генотипом бета-казеина A2A2 – 58% (197 голов). Треть поголовья имеет гетерозиготный генотип A1A2 – 36 % (122 гол.). Частота встречаемости генотипа A1A1 составила всего 6 % (22 гол.).

Коровы швицкой породы отечественной селекции из хозяйств Смоленской области оказались носителями генотипа A1A2 (40% - 48%) и генотипа A2A2 (48% - 49%) примерно в равных долях, что существенно отличается от частоты встречаемости генотипов импортного поголовья коров из хозяйства Тульской области, у которых частота генотипа A2A2 достигла 83%. В хозяйство ООО «Агрофармтрест» Тульской области поголовье бурого швицкого скота было завезено из Германии и Австрии.

Таблица 1 - Частота встречаемости генотипов бета-казеина у коров бурой швицкой породы

Хозяйство, область	n	A1A1	A1A2	A2A2	A1A1	A1A2	A2A2
		гол.	гол.	гол.	%	%	%
ООО «Агрофармтрест», Тульская обл.	90	0	15	75	0	17	83
АО «Смоленское» по племенной работе, Смоленская обл.	167	18	67	82	11	40	49
СПК «Талашкино-Агро», Смоленская обл.	84	4	40	40	4	48	48
В целом по породе	341	22	122	197	6	36	58

Исследование частот встречаемости аллелей гена бета-казеина показало, что аллельное распределение у коров бурой швицкой породы имеет смещение в сторону преобладания аллеля А2 (таблица 2). В целом частота встречаемости аллеля бета-казеина А2 у коров швицкой породы (341 голов) – 75,7%. Частота встречаемости аллеля А2 у коров отечественной селекции в хозяйствах Смоленской области составляет 0,69 – 0,71, что значительно ниже, чем у импортного поголовья коров, завезенного в ООО «Агрофармтрест» Тульской области (0,92).

Таблица 2 - Частота встречаемости аллелей бета-казеина у коров бурой швицкой породы

Хозяйство, область	n	A1	A2	S (ошибка аллеля)	X ²	Гетерозиготность	
						He (ожид.), %	Ho (набл.), %
ООО «Агрофармтрест», Тульская обл.	90	0,085	0,915	±0,0031	0,863	15,55	17,0
АО «Смоленское» по племенной работе, Смоленская обл.	167	0,308	0,692	±0,0028	0,4223	42,78	40,12
СПК «Талашкино- Агро», Смоленская обл.	84	0,286	0,714	±0,0054	3,6281	40,32	48,0
В целом по породе	341	0,243	0,757	±0,00126	0,0173	36,48	36

Значение показателя гетерозиготности (H) свидетельствует о высокой степени полиморфизма гена бета-казеина. В целом по исследованному поголовью у коров бурой швицкой породы оценки наблюдаемой (Ho) и ожидаемой (He) гетерозиготности имеют близкие значения 36,0% и 36,48%, соответственно, с некоторым недостатком гетерозиготных особей на 0,48% (таблица 3). В стадах бурого швицкого скота отечественной селекции гетерозиготным генотипом обладают от 40% до 48% коров, в то время как в стаде импортного происхождения гетерозиготных животных всего 17%.

Выводы. Таким образом, в стадах коров бурой швицкой породы преобладает генотип А2А2 с частотой от 48% до 83%, в среднем по всему исследованному поголовью 58%. Частота аллеля А2 в стадах варьирует от 0,69 до 0,92, в среднем составляет 0,76.

В стадах бурой швицкой породы отечественной селекции частота генотипа А2А2 бета-казеина составляет 48-49%. Среди импортированных из Европы коров бурой швицкой породы частота генотипа А2А2 бета-казеина достигла 83%. По-видимому, высокий уровень частоты аллеля А2 и генотипа А2А2 в значительной степени определяется направленностью селекционно-племенной работы на получение молока высокого качества.

Литература

1. Шичкин Г.И. Ежегодник по племенной работе в молочном скотоводстве в хозяйствах Российской Федерации(2021г.) / Г.И. Шичкин, Д.В. Бутусов, Г.Ф. Сафина, В.В. Чернов, С.Е. Тяпугин и др. - М.: ФГБНУ ВНИИплем, 2022.-261с.
2. M. De Marchi. Effect of Holstein Friesian and Brown Swiss Breeds on Quality of Milk and Cheese/ M. De Marchi, G. Bittante, R. Dal Zotto, C. Dalvit, and M. Cassandro// J. Dairy Sci. 2008 91:4092–4102.
3. E. Hanusová. Genetic Variants of Beta-Casein in Holstein Dairy Cattle In Slovakia Slovak/ E. Hanusová, J. Huba, M. Oravcová, P. Polák, I. Vrtková // J. Anim. Sci., 43, 2010 (2): 63-66.
4. S.Kaminski. Polymorphism of bovine beta-casein and its potential effect on human health / S. Kaminski, A. Cieslinska, E. Kostyra // Appl. Genet. — 2007;48(3):189—198.
5. Ahmet Fatih D. Discussions of Effect A1 and A2 Milk Beta-Casein Gene on Health / Ahmet Fatih D, Bahattin Ç //Appro Poult Dairy & Vet Sci., 2018.3(2):1-6.
6. Y. Jinsmaa. Enzymatic release of neocasomorphin and β -casomorphin from bovine β -casein / Jinsmaa Y, Masaaki Y // Peptides, 1999. 20(8): 957-962.
7. S. Jianqin. Effects of milk containing only A2 beta casein versus milk containing both A1 and A2 beta casein proteins on gastrointestinal physiology, symptoms of discomfort, and cognitive behavior of people with self-reported intolerance to traditional cows' milk/ Sun Jianqin, Xu Leiming, Xia Lu, Gregory W Yelland, Jiayi Ni, Andrew J// Nutr J . 2016 Apr 2;15:35. doi: 10.1186/s12937-016-0147-z.
8. B. Lui. Bovine milk with variant β -casein types on immunological mediated intestinal changes and gut health of mice/ Bin Lui, Weicang Qiao, Minghui Zhang, Yanpin Liu, Junying Zhao, Lijun Chen//Front Nutr. 2022 Sep30;9:970685. doi: 10.3389/fnut.2022.970685.
9. Гуськова С.В. А2-молоко-продукт для детского питания/ С.В. Гуськова// Ж. Молочная промышленность, 2018.№5.с.48-49.
10. I. Ganguly. Beta-casein (CSN2) polymorphism in Ongole (Indian zebu) and Frieswal (HF× Sahiwal crossbred) cattle/ Ganguly I, Gaur GK, Singh U, Kumar S, Kumar S, Mann S // Indian Journal of Biotechnology 12, 195-19