

**ОЦЕНКА ФЕНОТИПИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА ПОЛИМОРФНЫХ
ВАРИАНТОВ ГЕНА КАППА-КАЗЕИНА НА МОЛОЧНУЮ
ПРОДУКТИВНОСТЬ У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА
БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ**

*Е. В. Белая, М. Е. Михайлова, кандидаты биологических наук
ГНУ «Институт генетики и цитологии НАН Беларуси»*

Проведена оценка продуктивности коров с разными генотипами гена каппа-казеина. Путем сравнения групп между собой были установлены предпочтительный и нежелательные генотипы. Оценка продуктивности групп с разными генотипами относительно общей выборки показала, что в качестве генетического маркера может быть использован генотип ВВ.

Белорусский черно-пестрый скот, каппа-казеин.

Современные ДНК-технологии, такие как маркер-сопутствующая селекция, позволяют значительно ускорить темпы селекции и сократить финансовые затраты при осуществлении классических селекционных мероприятий. Однако отбор животных с предпочтительными генотипами, ассоциированными с признаками молочной продуктивности у крупного рогатого скота, не во всех случаях приносит такой значительный и быстрый результат, как можно было бы ожидать. Многие авторы обращают внимание на необходимость совершенствования способов оценки фенотипических эффектов генетических маркеров [1–3]. Поэтому, особый интерес представляет разработка методов оценки ассоциации полиморфных вариантов генов-кандидатов с количественными признаками продуктивности.

Исследования ассоциации полиморфных генов-кандидатов с признаками молочной продуктивности у крупного рогатого скота в настоящее время сводится в основном к определению предпочтительного аллеля и генотипа путем сравнения показателей продуктивности у животных с разными генотипами между собой [2, 4–5]. Данный подход позволяет выявить генотипы, характеризующиеся повышенным и пониженным уровнями продуктивности по исследуемому признаку, однако он не отражает степень их превосходства в показателях продуктивности по отношению ко всему исследуемому поголовью. Поэтому, мы предложили общепринятый сравнительный анализ генотипов между собой дополнить оценкой фенотипического эффекта предпочтительного и нежелательного генотипов по отношению к уровню продуктивности общей выборки [6, 7]. Это позволило сопоставить и оценить количественно степень проявления повышающих эффектов для предпочтительных генотипов и понижающих эффектов для нежелательных генотипов.

В ходе исследований полиморфных генов-кандидатов, принадлежащих к группе соматотропинового каскада, ранее мы установили, что продуктивность животных с предпочтительным и нежелательным генотипом может находиться в пределах среднего значения по общей выборке. Также были выявлены случаи, когда продуктивность предпочтительного генотипа находилась в пределах среднего значения по выборке, а значимо ассоциирован с признаком оказывался нежелательный генотип. В таких случаях селекционный отбор животных с предпочтительным генотипом будет неэффективен [8, 9].

В настоящее время выявлено большое количество потенциальных генов-кандидатов, полиморфные варианты которых ассоциированы с признаками молочной продуктивности у крупного рогатого скота и значительный интерес для селекционной работы с белорусским поголовьем крупного рогатого скота представляет ген каппа-казеина (*bCSN3*). Казеин является основным белком молока, представленным в молоке в нескольких формах — α , β , γ и др. На сегодняшний день описано семь аллелей гена *bCSN3*: А, В, С, D, Е, F, G, H. Наиболее часто у КРС встречаются А и В аллельные варианты каппа-казеина, отличающиеся двумя аминокислотными заменами в 136 и 148 положениях полипептидной цепи, вызванными соответствующими точковыми мутациями в позициях 5309 (С→Т) и 5345 (А→С) [10]. Показано, что аллель В каппа-казеина положительно коррелирует с более высоким содержанием общего протеина в молоке, повышенным содержанием каппа-казеина, а также лучшими сыродельными характеристиками молока. Поэтому, аллель В гена каппа-казеина предложено использовать в качестве генетического маркера молочной продуктивности у КРС [10, 11].

Цель исследования – оценка ассоциации полиморфных вариантов гена каппа-казеина с признаками удоя и белковомолочности путем сравнения генотипов между собой и по отношению к общей выборке.

Объектом исследования послужили быкопроизводящие коровы Несвижского филиала РУСП «Минское племпредприятие» белорусской черно-пестрой породы с условной долей наследуемости по голштинской породе до 69,1% (n = 197). Информация о продуктивности животных взята из племенных карт.

Материалы и методы исследования. Геномную ДНК выделяли из крови коров, используя набор Diatom™ Prep²⁰⁰ (Лаборатория Изоген, Москва), согласно инструкции фирмы изготовителя. Определение генотипа осуществлялось методом ПЦР ПДРФ.

Для генотипирования исследуемых животных по локусу гена каппа-казеина были использованы праймеры Vocas A (5′- atg tgc tga gca ggt atc cta gtt atg g -3) и Vocas B (5′- cca aaa gta gag tgc aac aac act gg - 3′). Режим ПЦР : 94⁰ - 1 мин; (95⁰- 45 с; 56⁰-60 с; 72⁰ - 60 с) x 35; 72⁰-10 мин. Длина амплификата 883 п.н. [4].

После обработки рестриктазой Pst1 в 2% агарозном геле при окрашивании бромистым этидием визуализируются фрагменты длиной 471, 306

и 106 п.н., соответствующие генотипу AA; 777, 471, 306 и 106 п.н., соответствующие генотипу АВ и 777, 106 п.н., соответствующие генотипу ВВ.

Результаты исследования. Исследование генетической структуры анализируемой популяции включало анализ соответствия распределения частот генотипов теоретически ожидаемому по закону Харди-Вайнберга и оценку значимости наблюдаемых отклонений с помощью критерия χ^2 . Результаты приведены в табл. 1.

1. Относительные частоты аллелей и генотипов гена каппа-казеина

| Частоты аллелей | | | | Частоты генотипов* | | | | | | |
|-----------------|-----------|-------|-----------|--------------------|-------|-------|-------|-------|-------|----------|
| A | $\pm S_Q$ | B | $\pm S_Q$ | AA | | AB | | BB | | χ^2 |
| | | | | n_n | n_o | n_n | n_o | n_n | n_o | |
| 0,835 | 0,002 | 0,165 | 0,002 | 137 | 137 | 55 | 54 | 5 | 6 | 0,005 |

* n_n -наблюдаемая частота генотипа; n_o ожидаемая частота генотипа.

Как свидетельствуют данные табл. 1, наблюдаемые частоты генотипов соответствуют ожидаемым по закону Харди-Вайнберга. Следовательно, искусственный отбор не направлен на повышение в популяции частоты аллеля В.

Средние значения удоя и белковомолочности животных с разными генотипами приведены в табл. 2, из которой следует, что группа коров с генотипом ВВ лидирует как по признаку удоя, так и по признаку белковомолочности.

2. Продуктивность быкопроизводящих коров с разными генотипами по гену каппа-казеина ($Q \pm S_Q$), (n=197)

| Признак | Среднее значение выборки | Генотип | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|
| | | AA | AB | BB |
| Удой (л. за 305 суток) | 9667 \pm 303 | 9717 \pm 91 | 9401 \pm 150 | 11232 \pm 732 |
| Белковомолочность (кг за 305 суток) | 302,93 \pm 2,12 | 302,37 \pm 2,45 | 300,69 \pm 4,10 | 343,00 \pm 15,00 |

Статистическая оценка разницы между группами с разными генотипами, а также сравнение продуктивности животных с определенным генотипом по отношению к общей выборке, проводилось с помощью однофакторного дисперсионного анализа. Если величина t-статистики больше, чем t критическое двухстороннее (и $P(T \leq t)$ двухстороннее меньше заданного уровня значимости α), то следует считать, что сравниваемые группы значимо отличаются по среднему значению признака. Результаты анализа показателей удоя приведены в табл. 3.

Из данных, приведенных в табл. 3 следует, что животные с генотипом ВВ значимо отличаются и от животных с генотипом AA (удой больше, чем средний по выборке) и от группы с генотипом АВ (удой ниже, чем средний по выборке). Это позволяет предположить, что генотип ВВ является предпочтительным, а генотип АВ – нежелательным при отборе

по данному признаку. Однако сравнение групп с генотипами ВВ, АА и АВ по отношению к среднему показателю выборки выявляет значимое отличие только для генотипа ВВ. Это значит, что удои в группах с генотипами АА и АВ находятся в пределах среднего значения по выборке. Следовательно, эти генотипы для селекционного процесса не являются ни предпочтительными, ни нежелательными.

3. Статистическая оценка различия средних показателей удоя в группах с разными генотипами между собой и по отношению к общей выборке

| Статистические показатели | Группы сравнения | | | | | |
|-----------------------------|------------------|--------|--------|------------|------------|-------------|
| | АА-АВ | АА-ВВ* | АВ-ВВ* | АА-выборка | АВ-выборка | ВВ-выборка* |
| t-статистика | 1,82 | 3,04 | 3,37 | 0,40 | -1,54 | 3,02 |
| P(T<=t) двухстороннее | 0,07 | 0,00 | 0,00 | 0,68 | 0,12 | 0,00 |
| t критическое двухстороннее | 1,97 | 1,97 | 2,00 | 1,96 | 1,97 | 1,97 |

*-Различие средних показателей в этих группах статистически значимо.

Результаты анализа белковомолочности приведены в табл. 4. Данные, приведенные в этой таблице, демонстрируют картину, аналогичную наблюдаемой при анализе признака удоя. Из табл. 4 видно, что белковомолочность коров с генотипом ВВ значительно отличается от групп с генотипами АА и АВ (белковомолочность которых практически равна средней по выборке).

4. Статистическая оценка различия средних показателей белковомолочности за 305 суток в группах с предпочтительным и нежелательными генотипами между собой и по отношению к общей выборке

| Статистические показатели | Группы сравнения | | | | | |
|-----------------------------|------------------|--------|--------|------------|------------|-------------|
| | АА-АВ | АА-ВВ* | АВ-ВВ* | АА-выборка | АВ-выборка | ВВ-выборка* |
| t-статистика | 0,36 | 3,09 | 2,95 | -0,17 | -0,48 | 2,95 |
| P(T<=t) двухстороннее | 0,72 | 0,00 | 0,00 | 0,86 | 0,62 | 0,00 |
| t критическое двухстороннее | 1,97 | 1,98 | 2,00 | 1,96 | 1,96 | 1,97 |

*-Различие средних показателей в этих группах статистически значимо.

Сравнение с выборкой подтверждает, что из трех групп, различающихся между собой, от выборки значимо отличается только белковомолочность группы с генотипом ВВ. Это свидетельствует о том, что генетическим маркером продуктивности (в данном случае повышенной белковомолочности) является только генотип ВВ.

Выводы

Таким образом, оценка средних значений удоя и белковомолочности выявила статистически значимые отличия группы животных с генотипом ВВ

по гену каппа-казеина от групп с генотипами AA и AB. Это позволило обозначить генотип BB как предпочтительный, а генотипы AB и AA как нежелательные по этим признакам. Однако сравнение продуктивности этих групп со средним значением по выборке показало, что из трех генотипов значимо от общей выборки отличается продуктивностью только для одного генотипа BB. Продуктивность генотипов AA и AB находится в пределах нормы данной выборки. Таким образом, из трех генотипов в качестве маркера продуктивности по признаку удоя и белковомолочности может быть рекомендован только один генотип BB. В случае рассмотренного полиморфизма гена каппа-казеина, это предпочтительный генотип, ассоциированный с повышенной продуктивностью в исследованной группе.

Список литературы

1. Boichard, D. et al. // 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. – 2006 / Belo Horizonte M. G. Brasil, 2006. – Vol. 34. – P. 186.
2. Chamberlain, A. J. Goddard M. E. // 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. – 2006 / Belo Horizonte M. G. Brasil. – 2006. – Vol. 34. – P. 184.
3. Goddard M. E. et al. // 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18. – 2006 / Belo Horizonte M. G. Brasil. – 2006. – Vol. 34. – P. 191.
4. Vlaic A., Edriss V. A., Rahmani H. R. et al. // Buletinul USAMV CN. 2003. – Vol. 59. – P. 188–191.
5. Renaville R., Hecht C., Geldermann H. et al. // J. Dairy Sci. 1997. Vol. 80, № 12. – P. 3431–3438.
6. Белая Е. В., Михайлова М. Е., Батин Н. В. // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. – 2012. – Т. 13. – С. 30–35.
7. Михайлова М. Е., Белая Е. В. // Молекулярная и прикладная генетика : сб. науч. тр. – 2010. – Т. 11. – С. 120–126.
8. Белая Е. В. Материалы Международной научно-практической конференции «Генетика и биотехнология на рубеже тысячелетий» / Е. В. Белая, М. Е. Михайлова, Н. М. Волчок ; редколл. А. В. Кильчевский [и др.]. – Минск, 2010. – С. 94.
9. Белая Е. В. Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. пр. / М. Е. Михайлова, Н. М. Волчок. Укр. т-во генетиків і селекціонерів ім. М. І. Вавилова. – К. : Логос, 2008. – Т. 4. – С. 133–138.
10. Сулимова Г. Е. и др. // Цитология и генетика. – 1992. – Т. 26. – С. 18–26.
11. Михайлова М. Е. // Наука и инновации. – 2007. – № 1 (47). С. 32–36.

Оцінено продуктивність корів із різними генотипами гена капа-казеїну. Шляхом порівняння груп між собою було встановлено бажаний і небажаний генотипи. Оцінка продуктивності груп із різними генотипами щодо загальної вибірки показала, що як генетичний маркер може бути використаний генотип BB.

Білоруська черно-ряба худоба, капа-казеїн.

Productivity of cattle with different genotypes of kappa-casein gene was evaluated. Preferable and undesirable genotypes were revealed by comparing

among cow groups. Productivity evaluation of the groups with different genotypes with respect to the total sample has shown that the genotype BB can be used as a genetic marker.

The Belarusian black-and-white cattle, kappa-casein.