

Ассоциация полиморфизма гена β -лактоглобулин с биохимическими показателями крови и качественным составом молока голштинского скота

Зилия Фиданлевна Фаттахова, Наталья Юрьевна Сафина, Эльза Равилевна Гайнутдинова, Шамиль Касымович Шакиров
Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФИЦ КазНЦ РАН, г. Казань, Россия
e-mail: fattahova.zf@mail.ru

Аннотация. Значительный интерес для молочного скотоводства представляет ген β -лактоглобулин (BLG), отвечающий за показатель биологической ценности, влияющий на соотношение белковых фракций, качественный состав и технологические свойства молока. Целью нашего исследования являлось выявление взаимосвязи полиморфизма гена BLG с биохимическими показателями крови и молочной продуктивностью крупного рогатого скота голштинской породы. Данная работа выполнялась в 2020–2021 гг. на базе СХПК «Племзавод им. Ленина» Атинского района Республики Татарстан на 148 коровах голштинской породы. В результате проведенных исследований установлено, что популяция животных полиморфна по гену β -лактоглобулин и представлена тремя генотипами: AA – 24,3 %, AB – 47,3 % и BB – 28,4 %. Распределение аллелей A и B составило 0,480 и 0,520 соответственно. Повышенное содержание таких показателей белкового обмена в сыворотке крови, как общий белок, альбумин, АЛТ и минимальный уровень мочевины выявлено у группы коров с гетерозиготным генотипом BLG^{AB}. Лидирующей группой по массовой доле жира и белка, СОМО и сухого вещества также являются животные с гетерозиготным генотипом BLG^{AB}.

Ключевые слова: крупный рогатый скот; ген β -лактоглобулин; BLG; ПЦР-ПДРФ; биохимия крови; жир; белок.

Для цитирования: Фаттахова З. Ф., Сафина Н. Ю., Гайнутдинова Э. Р., Шакиров Ш. К. Ассоциация полиморфизма гена β -лактоглобулин с биохимическими показателями крови и качественным составом молока голштинского скота // Аграрный научный журнал. 2022. № 10. С. 93–96. <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i10pp93-96>.

VETERINARY MEDICINE AND ZOOTECHNICS

Original article

Association of β -lactoglobulin gene polymorphism with biochemical parameters of blood and qualitative composition of milk of Holstein cattle

Ziliya F. Fattakhova, Natalia Yu. Safina, Elza R. Gaynutdinova, Shamil K. Shakirov
Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, FRC Kazan Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Kazan, Russia
e-mail: fattahova.zf@mail.ru

Abstract. The β -lactoglobulin (BLG) gene, which is responsible for the biological value indicator that affects the ratio of protein fractions, the level composition and technological characteristics of milk presents of considerable interest for dairy cattle breeding. The purpose of our work was to identify the relationship with the polymorphism of the beta-lactoglobulin gene and the biochemical blood parameters and dairy productivity of Holstein cattle. This research was carried out in 2020–2021 on 148 Holstein cows in the Integrated Agricultural Production Centre “Stud farm named after Lenin” of Atinsky district of the Republic of Tatarstan. As an effect of the studies, it was shown that the animal herd is polymorphic in the β -lactoglobulin gene. Population is represented by three genotypes: AA - 24.3, AB - 47.3 and BB - 28.4%. The frequency of occurrence of alleles A and B was 0.480 and 0.520, respectively. In group of animals with AB genotype of BLG gene in the blood serum was detected an increased content of indicators of protein metabolism (total protein, albumin, ALT) and the minimum level of urea. Cows with BLG AB genotypes are characterized by an increased mass fraction fat and protein, MSNF (milk solids non-fat) and dry matter. This research was supported by FASO Russia project number: 122011800138-7.

Keywords: cattle; β -lactoglobulin gene; BLG, PCR-RFLP; blood biochemistry; fat; protein.

For citation: Fattakhova Z. F., Safina N. Yu., Gaynutdinova E. R., Shakirov Sh. K. Association of β -lactoglobulin gene polymorphism with biochemical parameters of blood and qualitative composition of milk of Holstein cattle. Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal. 2022;(10):93–96. (In Russ.). <http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2022i10pp93-96>.

Введение. Приоритетным направлением аграрной политики Российской Федерации является развитие молочного скотоводства, главная задача которого – обеспечение населения ценными продуктами питания, такими как молоко и молочные продукты. Основным путем достижения этой цели является внедрение современных принципов генетики в практику разведения и селекции крупного рогатого скота [1, 3].

Биохимической генетикой, изучающей механизмы генетического контроля биохимических процессов в живых организмах, установлено, что генетические факторы реализуют свое действие через ферменты. При этом состав крови является индикатором характера обмена веществ, физиологического состояния и уровня продуктивности животных [10, 5].

Белки сыворотки крови β -глобулиновой фракции образуют комплексы с многочисленными элементами, однако преимущественно эти свойства проявляются у них по отношению к липидам. β -глобулины представляют собой группу глобулярных белков, которые формируют взаимосвязи с ферментами, гормонами, липидами, углеводами, витаминами, а также с различными продуктами клеточного распада при метаболизме веществ в организме животного [8].

Значительный интерес для молочного скотоводства представляет ген β -лактоглобулин, отвечающий за показатель биологической ценности молока, влияющий на содержание массовой доли жира и белка, соотношение белковых фракций и технологические свойства молока [6, 12, 13].





Ген *Bos taurus* BLG, состоящий из 7 экзонов и 6 интронов, картирован на *BTAlI*, и имеет размер 4662 п.о., кодирует стабильный сывороточный белок β -лактоглобулин, являющийся основным показателем технологической пригодности молока к сыроделию [15].

Цель данной работы – изучение ассоциаций полиморфных вариантов гена β -лактоглобулин с активностью биохимических показателей крови и качеством молока.

Методика исследований. Работу выполняли в 2020–2021 гг. на базе СХПК «Племзавод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан. Объектом исследования являлись 148 коров голштинской породы. Из цельной крови опытных животных, отобранной в вакуумные пробирки, экстрагировали ДНК посредством набора «АмплиПрайм» ДНК-сорб-В (Некст Био, Россия).

Для анализа полиморфизма гена β -лактоглобулин использовали комплект праймеров (Евроген, Россия) со следующей нуклеотидной последовательностью: F: 5'-GTCCTTGTGCTGGACACCGACTACA - 3', R: 5'-CAGGACACCGGCTCCCGGTATATGA - 3' [14].

Условия для проведения полимеразной цепной реакции использовались из адаптированного под разработанный нами ранее протокол [6]. Для определения полиморфных форм гена BLG использовали эндонуклеазу рестрикции Hae III (СибЭнзим, Россия). Гидролиз проводили в термостате Hotline (Binder, США) при 37 °C в течение 16 ч. Детекцию результатов осуществляли методом электрофоретического разделения в агарозном геле. Визуализацию и документирование проводили в системе Gel&Doc (Bio-Rad, США).

Варибельности аллелей и генотипов определяли по биометрическим методикам [4]. Для оценки равновесия Харди-Вайнберга различия между наблюдаемыми и ожидаемыми частотами генотипов тестировались с использованием критерия хи-квадрата Пирсона (χ^2) с уровнем значимости $p < 0,05$.

Качество молока определяли с помощью оборудования MilkoScan 7 RM, CombiFoss™ 7, Fossomatic™ 7 (FOSSHeadquartes, Дания) в АО ГПП «Элита» Высокогорского района РТ. Степень достоверности данных оценивали по критерию t-Стьюдента.

Результаты исследований. В ходе опыта нами установлено, что исследуемая популяция коров голштинской породы полиморфна по гену β -лактоглобулин и представлена тремя генотипами: AA – 24,3 %, AB – 47,3 % и BB – 28,4 %. Распределение аллелей A и B составило 0,480 и 0,520 соответственно (табл. 1).

Таблица 1

Частота встречаемости аллелей и генотипов гена BLG

Ген	N = 148	Частота генотипов						Частота аллелей		χ^2
		AA		AB		BB		A	B	
		<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%			
BLG	f_o	36	24,3	70	47,3	42	28,4	0,480	0,520	0,41
	f_e	34,1	23,0	73,9	49,9	40,1	27,1			

Примечание: f_o – наблюдаемое, f_e – ожидаемое.

Тест χ^2 Пирсона показал, что между наблюдаемым и ожидаемым распределением генотипов гена BLG разница ниже критического значения χ^2 , и популяция находится в генетическом равновесии Харди-Вайнберга.

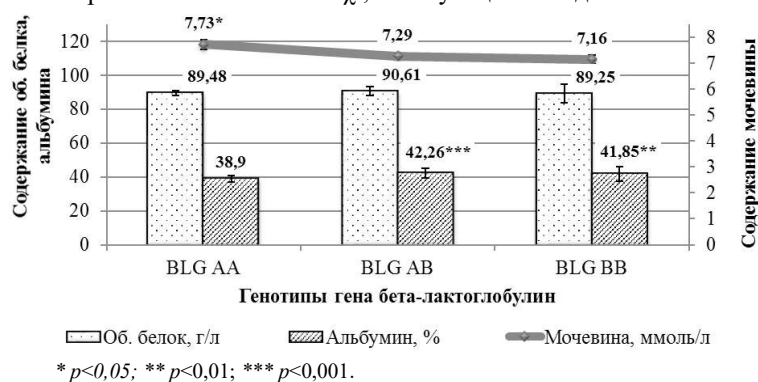


Рис. 1. Биохимические показатели сыворотки крови коров с разными генотипами гена BLG

ментов, участвуют в транспорте катионов и анионов, необходимых для нормальной жизнедеятельности животных [2].

В отношении альбумина в сыворотке крови у исследуемых коров с генотипом BLG^{AB} установлено превосходство данного показателя на 3,36 абс. % ($p < 0,001$) по отношению к группе с генотипами BLG^{AA} и на 2,95 абс. % ($p < 0,01$) к особям с генотипами BLG^{BB}.

Через уровень мочевины в сыворотке крови можно отследить интенсивность распада белков, концентрацию аммиака в рубце, усвоение корма и соблюдение баланса между протеином и энергией. Снижению данного показателя в крови способствуют благоприятные условия для жизнедеятельности рубцовой микрофлоры. При увеличении его в организме животных образуются токсичные соединения [7].

Нами установлено, что у животных с генотипом BLG^{AA} статистически значимо увеличен уровень мочевины в крови по сравнению с особями генотипа BLG^{AB} на 0,44 мкмоль/л (5,7 %; $p < 0,05$), а с коровами, имеющими генотип BLG^{BB}, на 0,57 мкмоль/л (7,4 %; $p < 0,05$).



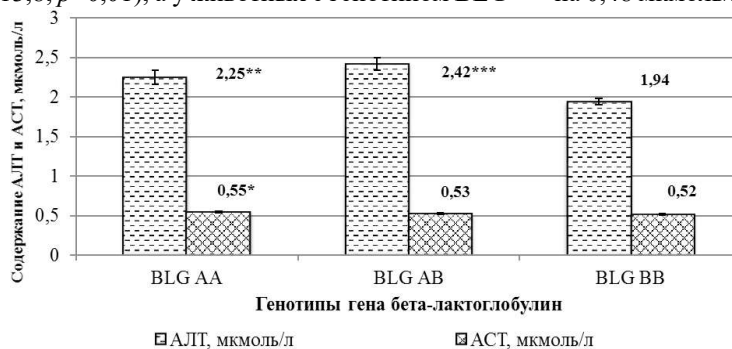
Аланинаминотрансфераза (АЛТ) и аспартатаминотрансфераза (АСТ) являются ферментами сыворотки крови класса трансфераз, катализирующими в организме животных обратимые реакции трансаминирования. Они участвуют в синтезе и распаде аминокислот, занимая при этом ключевые и регулирующие позиции на основных направлениях обмена веществ [2, 7, 11]. Концентрация АЛТ в сыворотке крови коров генотипа BLG^{AA} выше по отношению к сверстницам с генотипом BLG^{BB} на 0,31 мкмоль/л (13,8; $p<0,01$), а у животных с генотипом BLG^{AB} – на 0,48 мкмоль/л (19,8 %; $p<0,001$), чем у особей генотипа BLG^{BB} (рис. 2). Максимальный уровень данного показателя установлен у животных с генотипом BLG^{AB}, который составил 2,42 мкмоль/л, что больше на 0,17 мкмоль/л (7,02 %; $p<0,001$) касательно коров с генотипом BLG^{AA}.

Количество АСТ у животных генотипа BLG^{AA} статистически значимо выше, как по сравнению с содержанием ее в крови животных с генотипом BLG^{AB}, так и особей с генотипом BLG^{BB} на 0,02 мкмоль/л (7,02 %; $p<0,05$) и 0,03 мкмоль/л (5,45 %; $p<0,05$) соответственно.

При анализе полученных данных по качественному составу молока также выявлено достоверное изменение по некоторым показателям относительно коров с разными генотипами гена BLG.

По массовой доле жира в молоке наблюдается тенденция увеличения у особей с генотипом BLG^{AB} на 0,06 абс.% по отношению к животным с генотипом BLG^{AA} и на 0,05 абс.% – к сверстницам генотипа BLG^{BB}. Похожие результаты были получены в наших ранних исследованиях молекулярно-генетических аспектов, влияющих на качественный состав молока голштинских коров-первотелок [6].

Массовая доля белка в молоке статистически значимо превышает у коров с генотипом BLG^{AB} на 0,09 абс.% ($p<0,05$) при сопоставлении со сверстницами с генотипом BLG^{BB} (табл. 2).



* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$.

Рис. 2. Биохимические показатели сыворотки крови коров с разными генотипами гена BLG

Таблица 2

Показатели качественного состава молока коров с разными генотипами гена BLG

Показатель	Генотипы гена β-лактоглобулин		
	AA (n = 36)	AB (n = 70)	BB (n = 42)
Массовая доля жира, %	3,77±0,07	3,83±0,05	3,78±0,06
Массовая доля белка, %	3,34±0,04	3,35±0,03*	3,26±0,03
Лактоза, %	4,55±0,03	4,60±0,02	4,63±0,02*
СОМО, %	8,59±0,03	8,87±0,05***	8,89±0,04***
Сухое вещество, %	12,53±0,12	12,56±0,07	12,47±0,08
pH	6,57±0,01	6,59±0,01	6,59±0,01
Мочевина, мг/100 мл	46,81±0,52	46,77±0,036	46,97±0,48
Ацетон, ммоль/л	0,132±0,014**	0,087±0,005	0,096±0,008
ВНВ, ммоль/л	0,070±0,007	0,061±0,003	0,064±0,003

* $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$.

Наивысший уровень лактозы установлен у животных с генотипом с BLG^{BB} – 4,63 %, что выше на 0,08 абс.% ($p<0,05$) показателя у группы особей с генотипом BLG^{AA}.

Количество СОМО статистически значимо ниже у животных генотипа BLG^{AA}, как по отношению к коровам с генотипом BLG^{BB}, так и к сверстницам с генотипом BLG^{AB} на 0,3 абс.% ($p<0,001$) и 0,28 абс.% ($p<0,001$) соответственно.

Максимальный показатель ацетона обнаружен в молоке коров с генотипом BLG^{AA} – 0,132 ммоль/л, что достоверно больше на 0,045 ммоль/л (34,09 %; $p<0,001$) по сравнению с особями с генотипом BLG^{BB} и на 0,036 ммоль/л (27,27 %; $p<0,001$) с животными с генотипом BLG^{AB}.

Кетоновые тела (ВНВ) в молоке имеют тенденцию снижения у коров с генотипом BLG^{AB}, как при сопоставлении со сверстницами с генотипом BLG^{AA}, так и с особями с генотипом BLG^{BB} на 0,009 ммоль/л (12,85 %) и 0,03 ммоль/л (4,69 %) соответственно.

Заключение. В результате проведенных исследований нами установлено, что в сыворотке крови коров по показателям белкового обмена повышенным содержанием общего белка, альбумина, АЛТ и минимальным количеством мочевины обладают животные с гетерозиготным генотипом BLG^{AB}. Указанные изменения подтверждают эффективность азотистого обмена в сыворотке крови коров с генотипом BLG^{AB}, что является итогом усиления интенсивности обмена веществ у данной группы и приводит к нормализации качественных показателей молока и улучшению его технологических свойств.

Относительно взаимосвязи молочной продуктивности с полиморфизмом гена β-лактоглобулин лидирующей группой по массовой доле жира и белка, СОМО и сухого вещества также является гетерозиготный генотип BLG^{AB}.

Статья подготовлена в рамках государственного задания: Эколого-генетические подходы к созданию и сохранению ресурсов растений и животных, расширению их адаптивного потенциала и биоразнообразия, разработка берегающих агротехнологий с целью повышения устойчивости производства высококачественной продукции, достижения безопасности для здоровья человека и окружающей среды. Номер регистрации: 122011800138-7.

1. Бережная Е. А. Рынок молока и молочной продукции // Вестник науки. 2021. Т. 3. № 1(34). С. 64–68.
2. Кудрин А. Г. Ферменты крови и прогнозирование продуктивности молочного скота. Мичуринск-наукоград РФ: Изд-во Мичурин. гос. аграр. ун-та, 2006. 142 с.
3. Лысенко Ю. Я. Занимаемся генетикой сегодня, чтобы быть с молоком завтра // Эффективное животноводство. 2021. № 5(171). С. 74–77.
4. Меркурьева Е. К., Шангин-Березовский Г. Н. Генетика с основами биометрии. М.: Колос, 1983. 400 с.
5. Сафина Н. Ю., Шакиров Ш. К., Фаттахова З. Ф., Гайнутдинова Э. Р. Биохимические показатели липидного обмена и качественный состав молока коров с разными генотипами стеарил-КоА десатуразы (SCD1) // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2020. № 3. С. 94–100. doi: 10.26155/vet.zoo.bio.202003013.
6. Полиморфизма гена b-лактоглобулина (LGB) и его взаимосвязь с экономически важными признаками голштинского скота / Н. Ю. Сафина [и др.] // Достижения науки и техники АПК. 2018. Т. 32. № 9. С. 78–80. doi: 10.24411/0235-2451-2018-10918.
7. Талызина Т. Л., Нуриев Г. Г., Талызин В. В. Показатели белкового обмена у молочных коров в разные периоды лактации // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. 2018. № 2(66). С. 61–64.
8. Тимербулатова А. Т. Молочная продуктивность кобыл башкирской породы и качество кумыса при скармливании пробиотической добавки «Биогумитель»: дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.10. Уфа, 2015. 173 с.
9. Тютюнников А. В. Активность ферментов аспартат- и аланинаминотрансферазного локусов в связи с молочностью и жирномолочностью коров // Науч. тр. Калужского филиала Моск. с.-х. акад. им. К.А. Тимирязева. Калуга, 1993. Вып. 1. С. 114–119.
10. Уливанова Г. В., Глотова Г. Н., Федосова О. А., Рыданова Е. А. Анализ использования генотипирования по полиморфным системам групп крови и белкам молока в племенном и промышленном скотоводстве // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2020. № 1 (45). С. 63–69.
11. Фаттахова З. Ф., Шакиров Ш. К. Уровень морфологических и биохимических показателей крови как оценка регуляции рубцового пищеварения лактирующих коров // Ветеринарный врач. 2018. № 2. С. 57–68.
12. Barbosa S. B. P., Araujo I. I. M., Martins M. F., Silva E. C., Jacopini L. A., Batista A. M. V., Silva M. V. B. Genetic association of variations in the kappa-casein and β -lactoglobulin genes with milk traits in girolando cattle // Rev. Bras. Saude Prod. Anim. 2019. Vol. 20. P. 1–12. DOI 10.1590/S1519-994020 0312019.
13. Čítek J., Hanusová L., Lískovcová L., Samková E., Hanuš O., Hasoňová L., Křížová Z., Večerek L. Polymorphisms in CSN3, CSN2 and LGB Genes and Their Relation to Milk Production in Dairy Cattle in the Czech Republic // Acta Univ. Agric. Silv. Mendel. Brun. 2019. Vol. 67(1). P. 19–24. doi: 10.11118/actaun201967010019.
14. Medrano J. F., Aguilar-Cordova E. Genotyping of bovine κ -casein loci following DNA sequence amplification // Biotechnology. 1990. № 8 (2). С. 144–146. doi: 10.1038/nbt0290-144.
15. Tyulkin S. V., Vafin R. R., Zagidullin L. R. Technological properties of milk of cows with different genotypes of kappa-casein and beta-lactoglobulin // Foods and Raw Materials. 2018. Vol. 6. No 1. P. 154–162. doi: 10.21603/2308-4057-2018-1-154-162.

REFERENCES

1. Berezhnaya E. A. The market of milk and dairy products. *Vestnik nauki*. 2021;3(1): 64–68. (In Russ.).
2. Kudrin A. G. Blood enzymes and forecasting the productivity of dairy cattle. Michurinsk-Science City of the Russian Federation: Michurin Publishing House. state agrarian un-ta; 2006. 142 p.
3. Lysenko Yu. We are engaged in genetics today to be with milk tomorrow // Effective animal husbandry. 2021;5(171):74–77. (In Russ.).
4. Merkur'yeva E. K., Shangin-Berezovsky G. N. Genetics with the basics of biometrics. M.: Kolos; 1983. 400 p.
5. Safina N. Yu., Shakirov Sh. K., Fattakhova Z. F., Gainutdinova E. R. Biochemical indicators of lipid metabolism and qualitative composition of milk of cows with different stearyl-CoA desaturase (SCD1) genotypes. *Veterinary, animal husbandry and biotechnology*. 2020;3:94–100. (In Russ.) doi: 10.26155/vet.zoo.bio.202003013.
6. Polymorphism of the b-lactoglobulin (LGB) gene and its relationship with economically important traits of Holstein cattle / N. Yu. Safina et al. *Achievements of Science and Technology APK*. 2018;32(9):78-80. (In Russ.). DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10918.
7. Talyzina T. L., Nuriev G. G., Talyzin V. V. Indicators of protein metabolism in dairy cows in different periods of lactation. *Bulletin of the Bryansk State Agricultural Academy*. 2018; 2(66):61–64.
8. Timerbulatova A. T. Milk productivity of Bashkir mares and the quality of koumiss when fed with the probiotic supplement “Biogumitel”: dis. ... cand. s.-x. Sciences: 06.02.10. Ufa, 2015. 173 p.
9. Tyutyunnikov A. V., Enzyme activity of aspartate and alanine aminotransferase loci in relation to milk and fat content in cows, Nauch. tr. Kaluga branch of Moscow. s.-x. acad. them. K. A. Timiryazev. Kaluga; 1993 Vol. 1. P. 114–119.
10. Ulvanova G. V., Glotova G. N., Fedosova O. A., Rydanova E. A. Analysis of the use of genotyping for polymorphic systems of blood groups and milk proteins in breeding and industrial cattle breeding. *Bulletin of the Ryazan State Agrotechnological University. P. A. Kostychev*. 2020;1(45):63–69. (In Russ.).
11. Fattakhova Z. F., Shakirov Sh. K. The level of morphological and biochemical parameters of blood as an assessment of the regulation of cicatricial digestion of lactating cows. *Veterinary doctor*. 2018;(2):57–68.
12. Barbosa S. B. P., Araujo I. I. M., Martins M. F., Silva E. C., Jacopini L. A., Batista A. M. V., Silva M. V. B. Genetic association of variations in the kappa-casein and β -lactoglobulin genes with milk traits in girolando cattle. *Rev. Bras. Saude Prod. Anim.* 2019;20:1–12. doi: 10.1590/S1519-994020 0312019.
13. Čítek J., Hanusová L., Lískovcová L., Samková E., Hanuš O., Hasoňová L., Křížová Z., Večerek L. Polymorphisms in CSN3, CSN2 and LGB Genes and Their Relation to Milk Production in Dairy Cattle in the Czech Republic. *Acta Univ. Agric. Silv. Mendel. Brun.* 2019;67(1): 19–24. DOI 10.11118/actaun201967010019.
14. Medrano J. F., Aguilar-Cordova E. Genotyping of bovine κ -casein loci following DNA sequence amplification. *Biotechnology*. 1990; 8(2):144–146. doi: 10.1038/nbt0290-144.
15. Tyulkin S. V., Vafin R. R., Zagidullin L. R. Technological properties of milk of cows with different genotypes of kappa-casein and beta-lactoglobulin. *Foods and Raw Materials*. 2018;6(1):154–162. doi: 10.21603/2308-4057-2018-1-154-162.

Статья поступила в редакцию 13.04.2022; одобрена после рецензирования 21.04.2022; принята к публикации 28.04.2022.
The article was submitted 13.04.2022; approved after reviewing 21.04.2022; accepted for publication 28.04.2022.

