

# MARKERSELEKTSIOONI VÕIMALUSTEST PIIMA KVALITEEDI PARANDAMISEL

Tanel Kaart<sup>1,3</sup>, Mirjam Vallas<sup>1,3</sup>, Sirje Värvi<sup>1,3</sup>, Ivi Jõudu<sup>2,3</sup>, Haldja Viinalass<sup>1,3</sup>,  
Dorel Sabre<sup>1,3</sup>, Elli Pärna<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> EMÜ, VLI, loomageneetika ja tõuaretuse osakond

<sup>2</sup> EMÜ, VLI, söötmise osakond

<sup>3</sup> OÜ Tervisliku Piima Biotehnoloogiaste Arenduskeskus

## Sissejuhatus

Markerseleksiooniks nimetatakse geneetiliste markerite (nagu näiteks DNA ahela erinevus) alusel tehtavat kaudset selektsiooni mingi aretustunnuse või haigusresistentsuse parandamiseks. Markerseleksiooni praktilisteks näideteks Eesti loomakasvatuses on lammaste skreipi-resistentsuse tõstmine ning holsteini tõugu veiste BLAD- ja CVM-defekti vältimine. Mõlema näite puhul on teada, millised mutatsioonid vastavalt lamba ja veise genoomis näitavad eelsoodumust haiguse tekkele ja millised mitte ning sellest lähtuvalt teostatakse ka loomade valikut.

Eesti piimaveisekasvatuses on aretuseesmärgiks kvantitatiivsete (polügeensete) tunnuste parandamine, kus aretustunnuste selektsiooniedu tagamiseks valitakse loomi aretusväärtuste hinnangute järgi, mis baseeruvad rutiinselt kogutavatel põlvnemis- ja standardsetel jõudlusandmetel. Samas peab toiduturg vastama erinevatele kvaliteedinõuetele ja olema vastavuses tehnoloogiliste vajadustega. Piimatööstuses on eelkõige tähtis piima valgusisaldus ja valgu koostis, et piim laapuks hästi (st laapuks kiiresti ja moodustuks tugev kalgend) ning juustu tootmisprotsess oleks efektiivne.

Piima valguline koostis on geneetiliselt seotud erinevate piimavalgugeenidega ning määrab osaliselt ära nii piima valgu sisalduse (Schopen jt., 2009) kui ka laapumisomadused (Comin jt., 2008; Caroli jt., 2009). Piima laapumise ja piimavalkude polümorfismide vaheliste seoste uuringuid on teostatud aastaid ja seda ka Eestis (Jõudu jt., 2007; Vallas jt., 2012). Piima laapumisomadused eesti holsteini tõugu lehmadel on küllaltki suurel määral geneetiliselt determineeritud – päritavuskoeffitsiendid kalgendi tugevusele ja laapumise kiirusele on hinnanguliselt 0,41-0,44 ja 0,28-0,34 (Kaart jt., 2010; Vallas jt., 2010). Seega on piima kalgendi tugevuse potentsiaal võimaliku piima kvaliteeti iseloomustava aretustunnusena kõrge. Paraku on selle tunnuse määramise keerukus takistavaks teguriks andmete kogumisel ja seeläbi ka praktilise aretustöö läbiviimisel. Samas on teada, et piimavalgu kaseiini genotüübi variantidel on

oluline seos piima kalgendi tugevuse ja piima laapumise kiirusega – eesti holsteini populatsioonis määrab 51% piima kalgendi tugevuse ja 13% laapumise kiiruse pärlilikust aditiivgeneetilisest variatsioonist ära  $\beta$ - $\kappa$ -kaseiini komposiitgenotüüp (Vallas jt., 2012). See viitab võimalusele, et rutiinse laapumisnäitajate mõõtmise ja aretusväärtuste hindamise kõrval või asemel võiks piima laapumisomadusi eesti piimaveiste populatsioonis parandada ka seleksioon kaseiini genotüüpide alusel.

Käesoleva uuringu eesmärgiks oli hinnata  $\beta$ - ja  $\kappa$ -kaseiini alleeliefektid eesti holsteini (EHF) ja eesti punast tõugu (EPK) lehmade piima laapumisomadustele, piimatoodangule ning piima rasva- ja valgusisaldusele, kirjeldada veisepopulatsioonide geneetilist struktuuri  $\beta$ - ja  $\kappa$ -kaseiini genotüüpide osas ning hinnata markerseleksiooni mõju nimetatud piima näitajatele erinevate aretusstrateegiatega korral.

## Materjal ja meetodika

### *Andmed*

Uuringute aluseks olid aastatel 2005-2010 OÜ Tervisliku Piima Biotehnoloogiate Arenduskeskuse (TPTAK) andmebaasidesse COAGEN<sup>TM</sup> ja COACAS<sup>TM</sup> koondatud eesti holsteini ja eesti punast tõugu lehmade piimatoodangu, piima kvaliteedi ja piima laapumise andmed ning  $\kappa$ - ja  $\beta$ -kaseiini genotüüpide andmed. Laapumisnäitajaist olid vaatluse all piima laapumisaeg (RCT, aeg minutites laapensüümi lisamisest toorpiimale kuni kalgendi moodustumise alguseni) ja kalgendi tugevus määratuna 30 minutit pärast laapensüümi lisamist ( $a_{30,V}$ ). Andmete analüüsi kaasatud kontrolllükside ja lehmade arvud ning keskmised toodangu- ja kvaliteedinäitajad laktatsioonide kaupa on toodud tabelis 1.

**Tabel 1.** Kontroll-lükside ja lehmade arv ning keskmised toodangu- ja kvaliteedinäitajad TPTAK-i andmebaasis COAGEN<sup>TM</sup>.

Tõug	Lakt. nr	Kontroll-lükside/ lehmade arv	Kontroll-lükside keskmised näitajad				
			Piim, kg	Rasv, %	Valk, %	$a_{30,V}$	RCT, min
EHF	1	21049 / 5222	25,8	4,04	3,38	13,6	10,4
	2	13419 / 3673	29,1	4,09	3,40	13,4	10,0
	3	6697 / 2014	30,5	4,12	3,36	13,3	9,4
EPK	1	3275 / 816	21,1	4,30	3,54	15,6	10,9
	2	2520 / 651	23,8	4,28	3,60	15,3	10,6
	3	1577 / 450	26,3	4,17	3,54	14,6	10,0

### ***Alleeliefektide ja valikuedu hindamine***

Piima  $\beta$ - ja  $\kappa$ -kaseiini alleelide aditiivsed mõjud piimatoodangu, piima kvaliteedi ja laapumise näitajatele hinnati üldiste lineaarsete mudelite abil statistikapaketis SAS eraldi kummagi tõu tarvis. Täiendavate faktoritena võeti arvesse laktatsiooninumber ja -kuu, poegimiskuu, omanik ja loom (kui sama looma korduva mõõtmise efekt).

Valikuedu modelleerimise aluseks on Jõudluskontrolli Keskuse aastaraamatus avaldatud eesti holsteini ja eesti punast tõugu lehmade piimatoodangu trend (Jõudluskontrolli Keskus, 2013) ning senised piima laapumisomaduste geneetilise determineerituse alased uuringud (Vallas jt., 2010; Vallas jt., 2012).

### **Tulemused ja arutelu**

#### ***Piima $\kappa$ - ja $\beta$ -kaseiini alleelide mõju piimatoodangu, piima kvaliteedi ja piima laapumise näitajatele***

Tabelis 2 toodud  $\kappa$ - ja  $\beta$ -kaseiini alleelide mõjude hinnanguist väärrib eelkõige märkimist  $\kappa$ -kaseiini B-alleeli positiivne efekt nii piima kvaliteedi kui ka laapumise näitajatele, ja seda nii eesti holsteini kui ka eesti punast tõugu lehmade puhul. Näiteks eesti holsteini tõugu  $\kappa$ -kaseiini BB-genotüübiga lehma piima kalgendi tugevuse väärtus on hinnanguliselt  $2 \times 3,53 = 7,06$  voldi võrra kõrgem, kui sama tõu EE-genotüübiga lehm, piima laapumisaeg on 0,64 minuti võrra madalam ning piima rasva- ja valguprotsent vastavalt 0,14% ja 0,07% võrra kõrgem. Veel tugevam on  $\kappa$ -kaseiini B-alleeli efekt eesti punast tõugu lehmad hulgas. Piimatoodangule on selle alleeli mõju küll negatiivne, aga suhteliselt marginaalne, eriti eesti holsteini tõugu veiste puhul.

Ülejäänud alleelide mõju sedavõrd ühene ei ole. Näiteks  $\beta$ -kaseiini enam levinud A1- ja A2-alleelid omavad küll positiivset mõju kalgendi tugevusele, aga samas toovad kaasa ka piima laapumisaja pikenemise.

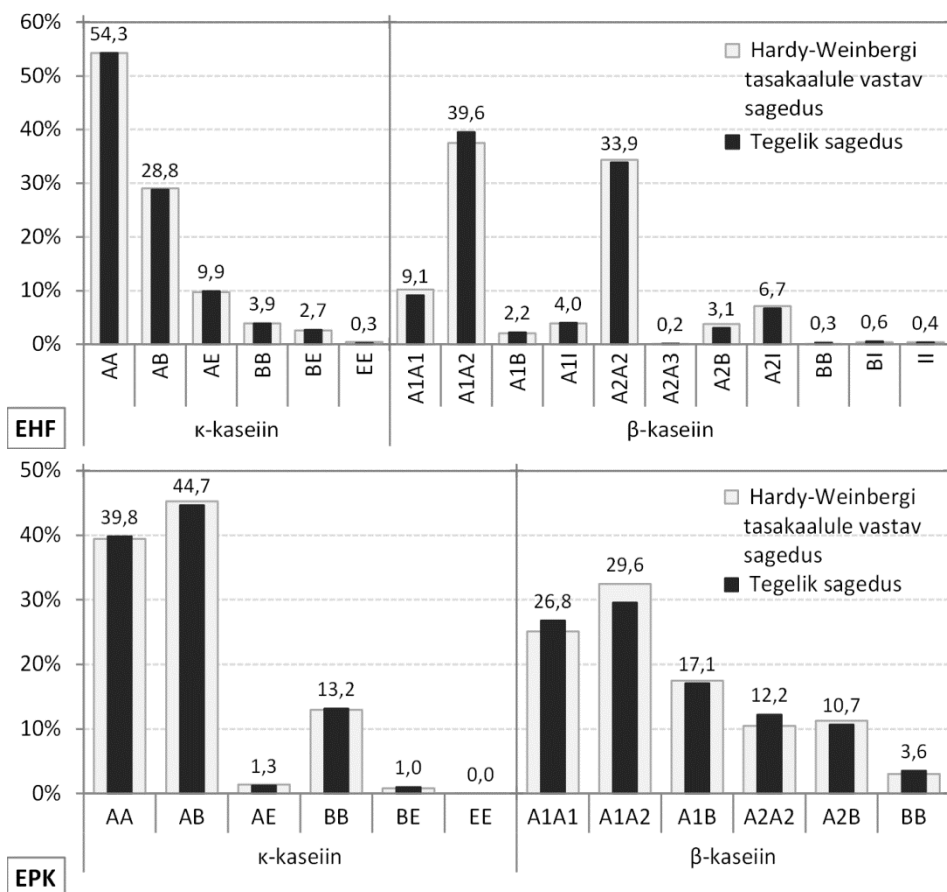
**Tabel 2.** Piima  $\kappa$ - ja  $\beta$ -kaseiini alleelide sagedus ning mõju piimatoodangule (kg/päevas) ja piima kvaliteedi ja laapumise näitajatele.

Tõug / kaseiini alleel	Alleeli- sagedus, %	Alleeli mõju					
		Piim, kg	Rasv, %	Valk, %	a <sub>30</sub> , V	R, min	
<b>EHF</b>							
$\kappa$ -kaseiin	A	73,7	-0,04	+0,068	+0,014	+0,60	-0,10
	B	19,7	-0,25	+0,072	+0,037	+3,53	-0,32
	E	6,6	0	0	0	0	0
$\beta$ -kaseiin	A1	32,0	-0,93	+0,137	+0,100	+0,63	+0,68
	A2	58,6	-0,41	+0,090	+0,082	+0,93	+0,91
	A3	0,1	-2,79	+0,113	+0,161	+3,18	+0,73
	B	3,2	0	0	0	0	0
	I	6,1	-0,62	+0,115	+0,132	+0,39	+1,09
<b>EPK</b>							
$\kappa$ -kaseiin	A	62,8	-1,56	+0,275	+0,108	+1,43	+0,08
	B	36,0	-1,44	+0,297	+0,146	+4,86	-0,38
	E	1,1	0	0	0	0	0
$\beta$ -kaseiin	A1	50,1	-0,09	+0,014	+0,042	+1,22	+0,32
	A2	32,4	+0,21	-0,031	-0,017	+1,06	+0,35
	B	17,5	0	0	0	0	0

***Eesti holsteini ja eesti punast tõugu lehmade  $\beta$ - ja  $\kappa$ -kaseiini genotüüpide sagedused***

Joonisel 1 esitatud genotüübisagedustest ilmneb, et eesti punast tõugu lehmadel esineb võrreldes eesti holsteini tõugu lehmadega enam nii  $\kappa$ - kui ka  $\beta$ -kaseiini B-allelele sisaldavaid genotüüpe. Selline erinevus geneetilisel tasemel peegeldub ka laapumisnäitajates –  $\kappa$ -kaseiini B-alleel suurendab kalgendi tugevust ja  $\beta$ -kaseiini B-alleel pikendab laapumisaega (Tabel 2) ning need mõlemad näitajad on kõrgemad eesti punast tõugu lehmadel (Tabel 1). Piima  $\beta$ -kaseiini I-alleeli sisaldavaid genotüüpe esineb kasutatud andmestiku põhjal vaid eesti holsteini tõugu lehmadel.

Joonisel 1 tegelike genotüübisageduste taustal esitatud Hardy-Weinbergi geneetilisele tasakaalule vastavad genotüübisagedused näitavad populatsiooni geneetilist struktuuri olukorras, kus puudub valikusurve teatud genotüüpide eelistamiseks (jättes arvesse võtmata teisi tasakaalu rikkuvaid tegureid nagu näiteks migratsioon). Sellest, et eesti holsteini ja eesti punast tõugu lehmade  $\beta$ - ja  $\kappa$ -kaseiini genotüüpide sagedused on geneetilises tasakaalus, saab järeldada, et senises aretuses ei ole markerseleksiooni piimavalgugeenide põhjal rakendatud.



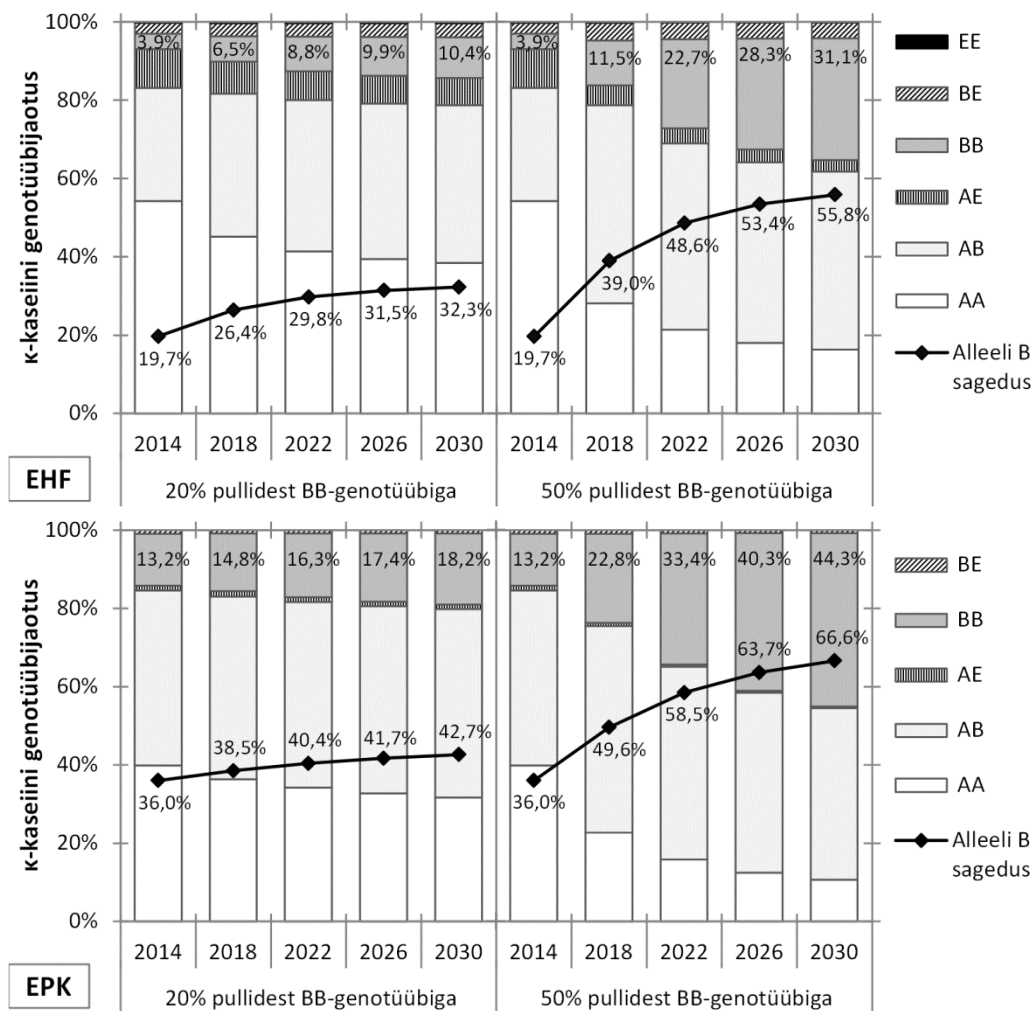
**Joonis 1.** Eesti holsteini (n=2959) ja eesti punast tõugu (n=394) lehmade  $\kappa$ - ja  $\beta$ -kaseiini genotüüpide sagedused TPTAK-i andmebaasis COACAS™ (mustad tulbad koos arvvaartustega) ja nende võrdlus Hardy-Weinbergi tasakaalule vastavate genotüübisagedustega.

### ***Piima $\kappa$ -kaseiini genotüübijaotuse muutus erinevate valikustrateegiatega korral***

Illustreerimaks, kui võrd on võimalik lihtsa markerseleksiooniga populatsiooni geneetilist struktuuri muuta, on järgnevalt võetud vaatluse alla kõige selgema mõjuga  $\kappa$ -kaseiini B-alleel. Mõlema tõu puhul modelleeriti kolm stsenaariumit: 1) pullide valikul ei vaadata nende  $\kappa$ -kaseiini genotüüpi; 2) alates aastast 2014 on 20% valitud pullidest  $\kappa$ -kaseiini genotüübiga BB; 3) 50% valitud pullidest on  $\kappa$ -kaseiini genotüübiga BB. Genotüübijaotuseks aastal 2014 on võetud TPTAK-i andmebaasist COACAS™ leitud ja joonisel 1 kujutatud sagedused (juhul, kui pullide valikul nende  $\kappa$ -kaseiini genotüüpi ei arvestata, genotüübisagedused ei muutu ja jäävad põlvkonnast põlvkonda samaks).

Kuna eesti punast tõugu veistel esineb  $\kappa$ -kaseiini B-alleeli sagedamini kui eesti holsteini tõugu veistel (vastavalt 36,0% ja 19,7%; Tabel 2 ja Joonis 2), on loomulik, et madalama selektsiooniintensiivsuse puhul (20% pullidest BB-

genotüübiga) tõuseb vastava alleeli ja seda sisaldavate genotüüpide osakaal enam eesti holsteini tõu puhul – seal on enam ruumi muutusteks. Valides aga lausa pooled pullidest κ-kaseiini BB-genotüübiga, suureneb nii vastava genotüübi kui ka teiste B-alleeli sisaldavate genotüüpide osakaal kiiresti mõlema tõu puhul ning κ-kaseiini B-alleeli sagedus jõuab eesti punast tõugu lehmadel 50%-ni juba viie-aastase markerselektiooni rakendamise tulemusel, eesti holsteini tõu puhul aga peale kümnet aastat valikut.

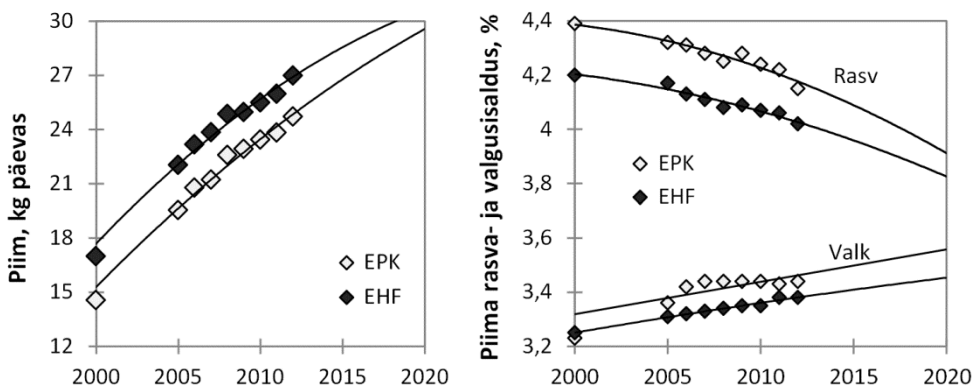


**Joonis 2.** Piima κ-kaseiini genotüübijaotuse muutus erinevate valikustrateegiatega korral. Arvuliselt on välja toodud BB-genotüübi sagedus ja eraldi joondiagrammina κ-kaseiini B-alleeli sagedus.

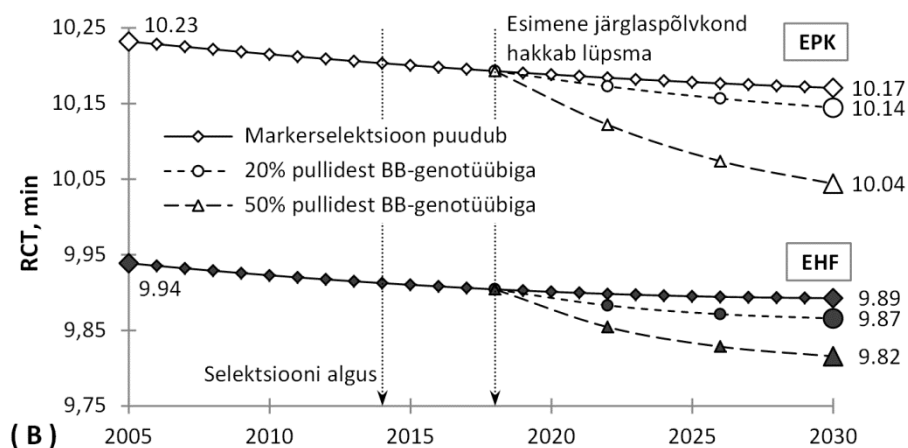
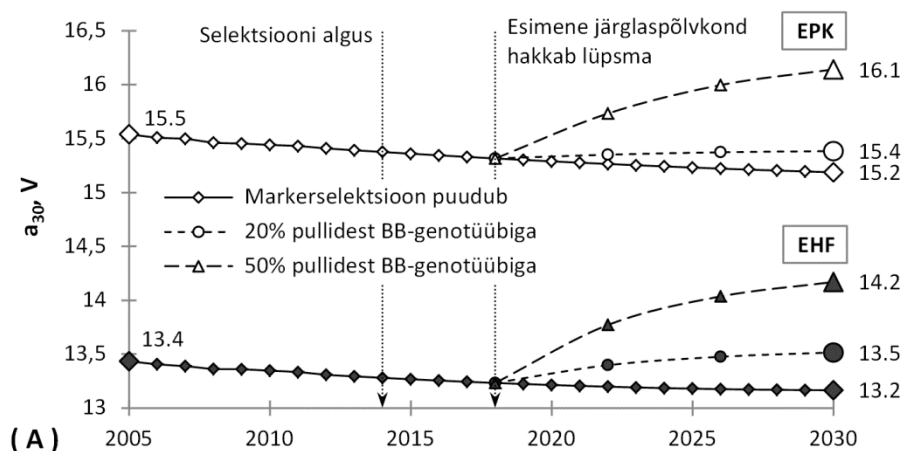
### ***Piima laapumisomaduste geneetiline trend erinevate valikustrateegiatega korral***

Juhul, kui pullide valik jätkub ka järgnevail aastail senise skeemi alusel, on oodata ka seniste toodangunäitajate trendide jätkumist (Joonis 3). Pullide valikul ei vaadata sel juhul nende  $\kappa$ -kaseiini genotüüpi, mistõttu genotüübisagedused ei muutu ning laapumisnäitajate geneetiline trend tuleneb piimatoodangu eeldatavast geneetilisest trendist ning laapumisnäitajate geneetilisest determineeritusest ja seostest piimatoodanguga. Kuna nii kalgendi tugevuse kui ka piima laapumisaja geneetiline korrelatsioon piimatoodanguga on negatiivne (vastavalt -0,29 ja -0,07; Vallas jt., 2010), on jätkuvalt piimatoodangu tõusule orienteeritud selektsiooni puhul oodata kalgendi tugevuse ja mingil määral ka piima laapumisaja langust. Hakates pullide valikul arvestama ka nende  $\kappa$ -kaseiini genotüüpi, on võimalik peatada kalgendi tugevuse langus (kasutades 20% ulatuses  $\kappa$ -kaseiini BB-genotüübiga pulle) või pöörata kalgendi tugevuse geneetiline trend selgelt positiivseks (kasutades 50% ulatuses  $\kappa$ -kaseiini BB-genotüübiga pulle) – joonis 4A. Piima laapumisaja geneetiline langustrend  $\kappa$ -kaseiini B-alleeli sageduse suurendamisele orienteeritud markerselektsiooni puhul ainult suureneb (Joonis 4B).

Kuna  $\kappa$ -kaseiini A-alleeli mõju piimatoodangule ning rasva- ja valgusisaldusele on samas suurusjärguskui B-alleeli mõju (Tabel 2), ei muuda mistahes  $\kappa$ -kaseiini B-alleeli sageduse suurendamisele orienteeritud markerselektsiooni strateogia piimatoodangu ning piima rasva- ja valgusisalduse üldist trendi – samas proportsioonis B-alleeli sageduse suurenemisega väheneb A-alleeli sagedus ning summaarne  $\kappa$ -kaseiini genotüübi mõju eriti ei muutu.



**Joonis 3.** Keskmise piimatoodang ning piima rasva- ja valgusisaldus Eestis (Jõudluskontrolli Keskus, 2013) ja nende näitajate hinnanguline muutus aastani 2020.



**Joonis 4.** Hinnanguline kalgendi tugevuse (A) ja laapumisaja (B) geneetiline trend sõltuvalt  $\kappa$ -kaseiini B-alleeli suhtes teostatavast valikust vastavalt kolmele modelleeritud stsenaariumile: 1) pullide valikul ei vaadata nende  $\kappa$ -kaseiini genotüüpi; 2) 20% valitud pullidest on  $\kappa$ -kaseiini genotüübiga BB; 3) 50% valitud pullidest on  $\kappa$ -kaseiini genotüübiga BB. Arvuliselt on välja toodud modelleerimise lähtekohaks olnud keskmised laapumisnäitajad TPTAK-i andmebaasi COAGEN<sup>TM</sup> alusel ning hinnangulised laapumisnäitajate väärtused aastal 2030.

### Kokkuvõte ja järeldused

Piima  $\beta$ - ja  $\kappa$ -kaseiini genotüüpide jaotused eesti holsteini ja eesti punast tõugu lehmadel viitavad neid markereid puudutava valikusurve puudumisele – välja kujunenud genotüüpide struktuur on vastavuses seniste aretuseesmärkidega. Samas on mõlema kaseiini geeni alleelid seotud piima laapumisega, mistõttu markerseleksioon võimaldab parandada piima laapumisomadusi teiste piimatoodangu näitajate geneetilist trendi märkimisväärselt muutmata. Siiski ei ole markerseleksioon „imerohi“ – nii nagu klassikalise valdavalt järglaste fenotüübiväärtustel põhineva aretuse puhul, kulub ka markerseleksiooni korral



soovitud tulemuseni jõudmiseks aastaid. Lisaks ammendub markerselektiooni läbi saavutatav efekt suhteliselt kiiresti – ühe ainukese valiku all oleva alleeli sagedus populatsioonis kasvab kiiresti teatud tasemele, millest edasine muutus sama valikustrateegia korral toimub juba aeglasemalt.

Markerselektiooni efektiivsuse suurendamiseks on mõistlik kaasata korraga enam infot (geneetilisi markereid). Potentsiaalselt teostatava valiku mõju prognoosimiseks on vajalikud ka täiendavad uuringud geneetiliste markerite seotusest teiste majanduslikult oluliste tunnustega. Piima laapumisnäitajate ja mistahes teiste uudsete huvipakkuvate tunnuste efektiivsemaks ja ka pikemaajalisemaks geneetiliseks parandamiseks tasub lisaks kirjeldatud markerselektiooni võimalustele kaaluda ka tunnuste väärtuste regulaarset mõõtmist ja nende alusel koos markerselektiooniga tavalise järglastel baseeruva valiku rakendamist.

*Uurimistöö on läbi viidud OÜ Tervisliku Piima Biotehnoloogiaste Arenduskeskuse projekti EU30002 ning Haridus- ja Teadusministeeriumi institutsionaalsete uurimistoetuste IUT8-1 ja IUT8-2 raames. Täname Jõudluskontrolli Keskust uurimistöö läbiviimiseks vajalike andmete eest.*

## **Kasutatud kirjandus**

- CAROLI, A. M., CHESSA, S., ERHARDT, G. J. 2009. Invited review: milk protein polymorphisms in cattle: effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*, 92(11), 5335–5352.
- COMIN, A., CASSANDRO, M., CHESSA, S., OJALA, M., DAL ZOTTO, R., DE MARCHI, M., CARNIER, P., GALLO, L., PAGNACCO, G., BITTANTE, G. 2008. Effects of composite  $\beta$ - and  $\kappa$ -casein genotypes on milk coagulation, quality, and yield traits in Italian Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 91(10), 4022–4027.
- JÕUDLUSKONTROLLI KESKUS. 2013. Eesti jõudluskontrolli aastaraamat 2012. Elmatar, Tartu.
- JÕUDU, I., HENNO, M., VÄRV, S., KAART, T., KÄRT, O., KALAMEES, K. 2007. Milk protein genotypes and milk coagulation properties of Estonian Native cattle. *Agricultural and Food Science*, 16, 222-231.
- KAART, T., VALLAS, M., WALDMANN, A., KIIMAN, H., PÄRNA, K., PÄRNA, E. 2010. Associations between milk quality traits and coagulation properties and fertility in Estonian Holstein heifers and first lactation cows. In: *Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production (WCGALP)*, Leipzig, Germany, 1-6 August 2010, 0567.
- SCHOPEN, G. C., KOKS, P. D., VAN ARENDONK, J. A. M., BOVENHUIS, H., VISKER, M. H. P. W. 2009. Whole genome scan to detect quantitative trait loci for bovine milk protein composition. *Animal Genetics*, 40, 524-537.

VALLAS, M., BOVENHUIS, H., KAART, T., PÄRNA, K., KIIMAN, H., PÄRNA, E. 2010. Genetic parameters for milk coagulation properties in Estonian Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 93(8), 3789 - 3796.

VALLAS, M., KAART, T., VÄRV, S., PÄRNA, K., JÕUDU, I., VIINALASS, H., PÄRNA, E. 2012. Composite B-k-casein genotypes and their effect on composition and coagulation of milk from Estonian Holstein cows. *Journal of Dairy Science*, 95(11), 6760 - 6769.