

ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПА КАППА-КАЗЕИНА НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОЛОКА КОРОВ КРАСНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ

Тельнов Никита Олегович, аспирант кафедры «Технологии производства и переработки продукции животноводства»

ФГБОУ ВПО «Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарева»

430005, г. Саранск, ул. Большевикская, д. 68, тел.: 8(834-2)25-40-02, kafedra_tpppz@agro.mrsu.ru.

Ключевые слова: красно-пестрая порода, крупнорогатый скот, ДНК-диагностика, каппа-казеин, полиморфизм, сыродельческие свойства.

Было проведено генотипирование формирующегося поволжского типа крупного рогатого скота красно-пестрой породы в Республике Мордовия по локусам, определяющим хозяйственно ценные признаки. Установлено, что продуктивность коров с генотипом ВВ гена каппа-казеина была выше по сравнению с генотипом АА. Молоко коров с генотипом АА гена каппа-казеина содержало меньше белка, чем молоко коров с генотипом ВВ. Выход молочного жира из молока коров с генотипом ВВ гена каппа-казеина был больше, чем из молока коров с генотипами АА. Исследования показали, что наилучшими сыродельческими свойствами молока обладали коровы с генотипом ВВ каппа-казеина, у них наибольший выход желательного плотного сычужного сгустка и наименьшая продолжительность свёртывания молока. По этим показателям они превосходили животных с генотипом АА.

Введение

Дальнейшее развитие животноводства невозможно без использования современных методов генетики и молекулярной биологии, позволяющих получить информацию о генетических особенностях животных и осуществлять селекцию на уровне геномов, а также обеспечивать формирование комплексных признаков адаптации и приспособленности к местным экологическим условиям.

В Республике Мордовия формируется новый поволжский тип красно-пестрой породы, требующий оптимизации комплексных генотипов, определяющих хозяйственно полезные признаки.

Программа разведения красно-пестрой породы крупного рогатого скота предусматривает дальнейшее проведение селекционно-племенной работы в молочном направлении. Основная задача – создание животных, устойчиво адаптированных к условиям промышленной технологии, а также повышение белково-молочности коров [1].

Цель работы, проводимой в лаборатории генетики факультета биотехнологии

и биологии Мордовского государственного университета им. Н.П. Огарева, состоит в генотипировании формирующегося поволжского типа красно-пестрой породы в Республике Мордовия по локусам, определяющим хозяйственно ценные признаки.

В задачи исследования входило изучение:

1. Частот аллелей и генотипов коров красно-пестрой породы по генам каппа-казеина;
2. Молочной продуктивности и качественных показателей молока коров различных генотипов красно-пестрой породы по гену каппа-казеина;
3. Влияния генотипа каппа-казеина на сыродельческие свойства молока.

Объекты и методы исследований

С использованием молекулярно-генетических методов был исследован крупный рогатый скот красно-пестрой породы хозяйства ФГУП «1 мая» ГНУ «Мордовский НИИСХ».

Материалом исследования служила кровь, отбираемая из хвостовой вены в вакуумные пробирки с этилендиаминтетракусной кислотой. Молекулярно-генетиче-

ские исследования выполнены в соответствии с методическими рекомендациями Центра биотехнологии и молекулярной диагностики ВИЖа [2].

Выделение ДНК из проб крови проводили по методике Laura-LeeWoodram (2004) с модификациями [3].

Полиморфизм генов белков молока проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) по методике Г. Брэма и Б. Брендинга [4] с модификациями. Амплификация проводилась с помощью наборов реагентов ЗАО «Синтол». Рестрикционный анализ проводили с помощью эндонуклеазы *HinfI*, продукты рестрикции разделяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Молочную продуктивность определяли ежемесячно путём проведения контрольных доек (3 раза в месяц). На основании контрольных доек рассчитывали общую молочную продуктивность за 305 дней лактации. Содержание жира в молоке определяли кислотным методом по Гербергу, а содержание белка – методом измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определения массовой доли белка.

Для определения сыропригодности молока использовали сычужную и сычужно-бродильную пробы.

Продолжительность свертывания молока определяли в минутах, учитывая время с момента внесения фермента до образования плотного сгустка.

Сыропригодность молока определяли по продолжительности его свертывания сычужным ферментом и делили на три типа:

I тип – молоко свертывается менее чем за 15 мин;

II тип – в течение 15-40 мин;

III тип – более чем за 40 мин или же совсем не свертывается [5].

Для изготовления сыра больше всего подходит молоко II типа, и по нему отработаны технологические режимы производства. Молоко, медленно свертывающееся сычужным ферментом, считается несиропригодным.

Плотным считали сгусток без выделения сыворотки, пузырьков газа, трещин, пу-

стот. При повороте пробирки на 180° сгусток не выпадал или выпадали лишь отдельные кусочки.

Рыхлым считали сгусток, имеющий немногочисленные глазки пузырьков газа, трещины. При повороте пробирки на 180° сгусток деформировался, выпадало до 50% от общего количества сгустка.

Дряблым считали сгусток, сильно пронизанный пузырьками газа, разорванный на куски, хлопьевидный. При повороте пробирки на 180° сгусток выпадал полностью или выпадало более 50% от общего количества сгустка.

Результаты исследований

Ген каппа-казеина имеет размер 13 т.п.н. и состоит из 5 экзонов общей длиной 850 п.н. и 4 интронов [6]. Наиболее часто встречающиеся варианты В и А различаются двумя аминокислотными заменами Thr¹³⁶→Ile и Asp¹⁴⁸→Ala, вызванными точковыми мутациями в позиции 5309 C→T и 5345 [7].

Аллельный полиморфизм гена каппа-казеина определяли по наличию продуктов рестрикции следующего размера: фрагменты длиной 134 и 131 п.н. соответствует аллелю А, а фрагмент длиной 265 п.н. – аллелю В. Фрагмент длиной 85 п.н. является общим для обоих аллелей и не зависит от генотипа животных.

Распространение полиморфизмов гена каппа-казеина крупного рогатого скота красно-пестрой породы, разводимого в республике, представлено в таблице 1.

При сравнении частот встречаемости аллелей А и В генов каппа-казеина и бета-лактоглобулина у коров красно-пестрой породы с другими: швицкой, якутской, черно-пестрой, ярославской, красной горбатовской породами – обнаружено сходство красно-пестрой с ярославской и красной горбатовской породами по частоте встречаемости аллеля А и В гена каппа-казеина.

Результаты оценки показателей молочной продуктивности животных с разными генотипами каппа-казеина по полновозрастной лактации представлены в таблице 2.

У коров красно-пестрой породы молочного типа обнаруживается связь геноти-

Таблица 1

Частота встречаемости аллелей и генотипов по полиморфизму генов каппа-казеина

Порода	n	Частота генотипов, %			Частота аллелей, %	
		BB	AB	AA	B	A
Красно-пестрая	284	каппа-казеин				
		13,38	53,52	33,10	40,14	59,86

Таблица 2

Молочная продуктивность коров с разными генотипами каппа-казеина

Показатель	Генотип			Разница	
	BB	AB	AA	BB-AA	AB-AA
n	38	152	94	-	-
удой, кг	6943,3±126,8	6790,5±136	6299,6±98,3	643,7*	490,9
жир, %	4,90±0,03	4,84±0,02	4,71±0,02	0,19***	0,13***
молочный жир, кг	340,2±8,7	328,7±11,2	296,7±10,3	43,51	31,95*
белок, %	3,57±0,02	3,44±0,02	3,35±0,01	0,22***	0,09***
молочный белок, кг	247,9±7,1	233,6±6,7	211,0±7,9	36,84*	22,56*

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$; *** - $P < 0,001$

Таблица 3

Технологические свойства молока в зависимости от генотипа каппа-казеина

Поголовье	Состояние казеинового сгустка и продолжительность свертывания молока	Распределение коров		В том числе с генотипом по каппа-казеину					
				BB		AB		AA	
		n	%	n	%	n	%	n	%
284	плотное	168	59,2	32	84,2	87	57,3	49	52,1
	рыхлое	85	29,9	4	10,5	49	32,2	32	34,1
	дряблое	31	10,9	2	5,3	16	10,5	13	13,8
	время, мин	28,5±0,59		27,3±0,92		29,1±0,95		29,8±1,11	

па BB с молочной продуктивностью: удоем ($BB > AA + 643,7$ кг. $P < 0,05$), молочным белком ($BB > AA + 36,84$ кг. $P < 0,05$), процентным содержанием белка ($BB > AA + 0,22$ %. $P < 0,001$). Также выявлено положительное влияние аллеля B и отрицательное влияние аллеля A гена каппа-казеина на содержание молочного жира и его процентное содержание в молоке.

Исследованиями установлено, что генотип коров по гену каппа-казеина оказывает влияние на состояние казеинового сгустка и на продолжительность свертывания молока. Во всех группах коров выявлена отрицательная зависимость технологических свойств молока от аллеля A каппа-казеина. От молока 42,7-47,9% коров с генотипом AB и AA получен казеиновый сгусток рыхлого и дряблого состояния, данные представлены в таблице 3.

Присутствие B аллеля каппа-казеина в генотипе животных значительно улучшило состояние казеинового сгустка. Доля молока с плотным состоянием сгустка у гомозиготных коров BB составила 84,2 %, гетерозиготных AB – 57,3%.

В сыроделии наиболее желательным считается молоко, у которого время свертывания под действием сычужного фермента длится в пределах 15-40 мин. Если свертывание длится более 40 мин, это приводит к большой потере сырья и низкому выходу сыра, так как нарушаются технологические процессы его производства. Лучшими показателями по продолжительности свертывания характеризовались коровы с генотипом каппа-казеина BB, у них свертывание молока происходило за наименьшее время – 27,3 мин. У животных с генотипом AA эти показатели оказались несколько хуже и составили 29,8 мин.

Таким образом, исследования показали, что наилучшими сыродельческими свойствами молока обладали коровы с генотипом ВВ каппа-казеина, у них наибольший выход желательного плотного сычужного сгустка и наименьшая продолжительность свёртывания молока. По этим показателям они превосходили животных с генотипом АА.

Выводы

1. Методом ДНК-диагностики в стаде коров красно-пестрой породы ОПХ «1 мая» выявлено по гену каппа-казеина три генотипа – ВВ, АВ и АА. Частота встречаемости аллеля В составила 40,14, аллеля А – 59,86.

2. Продуктивность коров с генотипом ВВ гена каппа-казеина была выше по сравнению с генотипом АА, удой которых был выше на 643,7 кг ($P < 0,05$), соответственно. Молоко коров с генотипом АА гена каппа-казеина содержало меньше белка, чем молоко коров с генотипом ВВ на 0,22 % ($P < 0,001$). Выход молочного жира из молока коров с генотипом ВВ гена каппа-казеина был больше, чем из молока коров с генотипами АА на 43,51 кг.

3. Присутствие В аллеля каппа-казеина в генотипе животных значительно улучшает сыропригодность молока. Доля молока с плотным состоянием сгустка у гомозиготных коров ВВ составила 84,2 %, гетерозиготных АВ – 57,3%.

4. Улучшение генетической структуры популяции коров красно-пестрой породы мордовской селекции возможно за счет увеличения частот встречаемости аллелей А и В гена каппа-казеина, влияющего на молочную продуктивность и сыродельческие свойства молока как «скрытого» генетического резерва для улучшения хозяйственно полезных признаков.

Библиографический список

1. Молочная продуктивность и технологические свойства коров красно-пестрой породы Поволжского типа / А.П. Вельматов, А.М. Гурьянов, О.Н. Луконина, А.А. Вельматов, Н.Н. Неяскин // *Аграрная наука Евро-Северо-Восток*. - 2013.- №5.-С. 47-50.

2. Методы исследований в биотехнологии сельскохозяйственных животных: школа-практикум. Выпуск 4. – Дубровицы, 2005. – 132с.

3. Boodram, Laura-Lee. Extraction of genomic DNA from whole blood [Electronic resource] / Laura-Lee. Boodram.-Protocol Online - Your Lab's Reference Book – online database of research protocols in a variety of life science fields. – 1999-2006. – Mode of access: <http://www.protocol-online.org/prot/Protocols/Extraction-of-genomic-DNA-from-whole-blood-3171.html>.

4. Mutations in an oocyte derived growth factor gene (BMP15) causes increased ovulation rate and infertility in a dosage sensitive manner / S.M Galloway, K.P. Mc Natty, L.M. Cambridge [et al.]/ *Nature Genet.* – 2000. – Vol. 25. – P. 279–283.

5. Барабанщиков, Н.В. Молочное дело / Н.В.Барабанщиков. - М.: Агропромиздат, 1990. - 351 с.

6. Зиновьева, Н.А. Проблемы биотехнологии и селекции сельскохозяйственных животных / Н.А.Зиновьева, Л.К. Эрнст.– Дубровицы: ВИЖ, 2004. – 316с.

7. Complete sequence of the bovine beta-lactoglobulin DNA / L.J. Aleksander, A.F. Stewart, A.G. Mackinlay, T.V. Kapelinskaya, T.M. Tkach, S.I. Gorodetsky // *Eur.J. Biochem.* – 1988. – V. 178(2). – P.395-401.