

ВЕЛЬМАТОВ А. П., ТЕЛЬНОВ Н. О., НЕЯСКИН Н. Н.
КОМПЛЕКСНОЕ ВЛИЯНИЕ ГЕНОТИПОВ КАППА-КАЗЕИНА И БЕТА-
ЛАКТОГЛОБУЛИНА НА МОЛОЧНУЮ ПРОДУКТИВНОСТЬ
И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОЛОКА
КОРОВ КРАСНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ В РЕСПУБЛИКЕ МОРДОВИЯ

Аннотация. Выявлено, что удой коров с генотипом АВАА по генам каппа-казеина и бета-лактоглобулина был выше по сравнению с животными с генотипом АВВВ. Коровы с генотипом ВВАА, по содержанию белка в молоке (3,56%), превосходили группы с другими комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина. По содержанию жира более высокие показатели были получены у групп коров, которые содержат гомозиготный генотип ВВ гена бета-лактоглобулина (4,80-4,87%). Они превосходили по данному показателю животных с другими комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина. Генотип коров генов каппа-казеина и бета-лактоглобулина, в котором присутствует аллель В гена каппа-казеина, оказывает положительное влияние на технологические свойства молока.

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

VELMATOV A. P., TEL'NOV N. O., NEYASKIN N. N.
THE EFFECTS OF KAPPA-CASEIN AND BETA-LACTOGLOBULIN GENOTYPES
ON MILK PRODUCTIVITY AND TECHNOLOGICAL PROPERTIES
OF MILK OF RED-AND-WHITE COWS IN MORDOVIA REPUBLIC

Abstract. It has been found that the milk yield of cows with AAAB genotype of kappa-casein and beta-lactoglobulin genes was higher compared to the cows with ABBB genotype. Protein content of milk (3,56%) of the cows with genotype BBAA was higher compared to the groups of cows with other genotype combinations of kappa-casein and beta-lactoglobulin. Higher fat content of milk was obtained from the groups of cows with homozygous genotype BB of beta-lactoglobulin gene (4,80-4,87%). The fat indicator was higher than in animals with other genotype combinations of kappa-casein and beta-lactoglobulin. Cow genotype of kappa-casein and beta-lactoglobulin gene has a positive effect on the technological properties of milk.

Keywords: red-and-white breed, cattle, DNA diagnostics, kappa-casein, beta-lactoglobulin, polymorphism.

Введение. В современных условиях появилась возможность прогнозировать молочную продуктивность коров, опираясь на данные ДНК-диагностики крупного рогатого скота.

Особый интерес представляют работы по изучению технологических свойств молока с привлечением современных молекулярно-генетических методов диагностики в животноводстве.

В настоящее время во многих странах используют генетические маркеры, которые связаны с качественными признаками молочной продуктивности. Одними из таких маркеров являются гены бета-лактоглобулина и каппа-казеина.

В задачу наших исследований входило изучение комплексного влияния генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина на молочную продуктивность и сыродельческие свойства молока коров красно-пестрой породы.

Материалы и методы исследований. С использованием молекулярно-генетических методов был исследован крупный рогатый скот красно-пестрой породы хозяйства ФГУП "1 Мая" Россельхозакадемии. Материалом исследования послужила кровь, отбираемая из хвостовой вены в вакуумные пробирки с этилендиаминтетрауксусной кислотой. Молекулярно-генетические исследования выполнены в соответствии с методическими рекомендациями Центра биотехнологии и молекулярной диагностики ВИЖа [1].

Выделение ДНК из проб крови проводили по методике Laura-Lee Boodram (2004) с модификациями [2].

Полиморфизм генов белков молока проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) по методике Г. Брэма и Б. Брендинга [3] с модификациями. Амплификация осуществлялась с помощью наборов реагентов ЗАО «Синтол». Рестрикционный анализ выполняли с помощью эндонуклеаз *HaeIII* и *HinfI*, продукты рестрикции разделяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле.

Молочную продуктивность определяли ежемесячно путём проведения контрольных доек (3 раза в месяц). Содержание жира и белка в молоке оценивали с помощью анализатора молока Лактан.

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.

По сыропригодности молоко делится на три группы в зависимости от продолжительности свертывания сычужным ферментом: 1-й тип – молоко свертывается

менее чем за 15 мин, 2-й тип – в течение 15–40 мин, 3-й тип – более чем за 40 мин или же совсем не свертывается.

Пригодным для изготовления сыра считается молоко второго типа, так как по нему отработаны технологические режимы производства. Несыропригодным считается молоко, которое медленно свертывается сычужным ферментом.

Результаты и обсуждение.

Ген каппа-казеина имеет размер 13 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.) и состоит из 5 экзонов общей длиной 850 пар нуклеотидов (п.н.) и 4 интронов [1]. Наиболее часто встречающиеся варианты В и А различаются двумя аминокислотными заменами Thr¹³⁶→Ile и Asp¹⁴⁸→Ala, вызванными точковыми мутациями в позиции 5309 С→Т и 5345 [4].

Ген бета-лактоглобулина имеет размер 4 662 п.н. и состоит из 7 экзонов и 6 интронов. Наиболее часто встречаются четыре генетически обусловленных аллельных вариантов гена βLG – А, В, С и D, которые отличаются друг от друга аминокислотным составом. Редкий вариант D отличается от вариантов А, В, С в позиции 45, имея замену аминокислоты Glu→Gln. Отличие варианта В выявляется в позиции 64, где в результате замены второго основания триплета GAT→GGT происходит замена Asp→Gly [5].

Аллельный полиморфизм гена бета-лактоглобулина определяли по присутствию фрагментов: длиной 153 п.н., соответствующих аллелю А, длиной 79 п.н. – аллелю В. Фрагмент длиной 109 п.н. является общим для обоих аллелей и не зависит от генотипа животных.

Аллельный полиморфизм гена каппа-казеина определяли по наличию продуктов рестрикции следующего размера: фрагменты длиной 134 и 131 п.н. соответствуют 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.

Исследования показали, что у коров красно-пестрой породы прослеживается четкая тенденция влияния генотипа бета-лактоглобулина на удой (см. табл. 1). Так, в группе коров, имеющих генотип АВАА по генам каппа-казеина и бета-лактоглобулина, удой был выше на 322,36 кг ($P \leq 0,05$) по сравнению с животными с генотипом АВВВ.

Следует отметить, что по содержанию белка в молоке выгодно отличались животные с генотипом ВВАА (3,56%), что выше, чем у первотелок с другими комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина на 0,07-0,27% и, как следствие, у этой группы отмечен наибольший выход молочного белка (243,4 кг), что выше аналогов на 1,8-34,3 кг, соответственно.

По содержанию жира более высокие показатели были получены у групп коров, которые содержат гомозиготный генотип ВВ гена бета-лактоглобулина (4,80-4,87%), они превосходили по данному показателю животных с другими комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина на 0,08-0,36%.

В таблице 2 представлена достоверность разности соотношения генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина по параметрам молочной продуктивности.

Таблица 1

**Молочная продуктивность коров с общими генотипами
по генам каппа-казеина и бета-лактоглобулина**

Генотип	n	удой, кг	жир, %	молочный жир, кг	белок, %	молочный белок, кг
Красно-пестрая						
АА АА	38	6591,3±136,8	4,51±0,13	297,3±16,8	3,45±0,09	227,4±7,5
АА АВ	22	6454,4±107,1	4,62±0,09	298,5±12,6	3,35±0,06	216,2±9,1
АА ВВ	27	6345,0±125,3	4,80±0,05	304,9±15,1	3,29±0,12	209,1±13,1
АВ АА	51	6913,1±130,9	4,57±0,30	316,3±20,3	3,49±0,15	241,6±10,3
АВ АВ	20	6699,8±142,4	4,69±0,18	314,2±18,2	3,39±0,08	227,5±11,4
АВ ВВ	28	6590,8±98,6	4,87±0,10	321,0±13,9	3,34±0,17	220,1±14,8
ВВ АА	5	6836,7±130,4	4,60±0,16	314,8±14,3	3,56±0,12	243,4±18,2
ВВ АВ	7	6776,2±230,7	4,72±0,12	319,8±10,6	3,46±0,14	234,5±10,0

Таблица 2

**Достоверность разности соотношения генотипов
каппа-казеина и бета-лактоглобулина**

Признак	Соотношение	Разница	Td	v	P
удой, кг	АААВ АВАА	-458,7	2,7	71	P≤0,05
	ААВВ АВАА	-568,1	3,1	76	P≤0,01
	АВАА АВВВ	322,4	2,0	77	P≤0,05
жир, %	АААА ААВВ	-0,30	2,1	63	P≤0,05
	АААА АВВВ	-0,36	2,2	64	P≤0,05
молочный белок, кг	ААВВ АВАА	-32,5	2,0	76	P≤0,05

Исследованиями установлено, что генотип коров генов каппа-казеина и бета-лактоглобулина, в котором присутствует аллель В гена каппа-казеина, оказывает положительное влияние на состояние казеинового сгустка и на продолжительность свертывания молока. Во всех группах коров выявлена отрицательная зависимость технологических свойств молока от аллеля А каппа-казеина. Доля молока с плотным

состоянием сгустка у коров с генотипом ABVV составила 76,0%, с генотипом AAAB – 47,6% (см. табл. 3).

В сыроделии наиболее желательным считается молоко, у которого время свёртывания под действием сычужного фермента длится в пределах 15–40 мин. Если свёртывание 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 свёртывания характеризовались коровы с генотипом каппа-казеина BV, у них свёртывание молока происходило за наименьшее время – 27,3 мин. У животных с генотипом AA эти показатели оказались несколько хуже и составили 29,8 мин.

Таблица 3

**Технологические свойства молока в зависимости от генотипов
каппа-казеина и бета-лактоглобулина**

Состояние казеинового сгустка и продолжительность свёртывания молока	Распре- деление коров		Генотип по каппа-казеину и бета-лактоглобулину							
			AA BV		AA AB		AB BV		AB AB	
	п	%	п	%	п	%	п	%	п	%
плотное	56	58,9	16	55,1	10	47,6	19	76,0	11	55,0
рыхлое	27	28,4	9	31,0	8	38,1	4	16,0	6	30,0
дряблое	12	12,6	4	13,7	3	14,2	2	8,0	3	15,0
время, мин	28,4±0,57		28,2±0,9		29,8±1,09		27,3±0,92		28,7±0,74	

Таким образом, наилучшими сыродельческими свойствами молока обладали коровы в генотипе которых присутствует аллель В каппа-казеина. У них был наибольший выход желательного плотного сычужного сгустка и наименьшая продолжительность свёртывания молока. По этим показателям они превосходили животных с аллелью А. Следует также отметить, что при сравнении генотипов AABV и AAAB аллель В гена бета-лактоглобулина положительно сказывается на сыропригодности молока при отсутствии аллели В гена каппа-казеина.

Выводы.

1. Удой коров с генотипом AVAA по генам каппа-казеина и бета-лактоглобулина была выше на 322,36 кг ($P \leq 0,05$) по сравнению с животными с генотипом ABVV. Коровы с генотипом BVAA, по содержанию белка в молоке (3,56%) превосходили группы, с другими комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина на 0,07-0,27%. По содержанию жира более высокие показатели были получены у групп коров, которые содержат гомозиготный генотип BV гена бета-лактоглобулина (4,80-4,87%), они

превосходили по данному показателю животных с другими комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина на 0,08-0,36%.

2. Генотип коров генов каппа-казеина и бета-лактоглобулина, в котором присутствует аллель В гена каппа-казеина, оказывает положительное влияние на состояние казеинового сгустка и на продолжительность свертывания молока. Доля молока с плотным состоянием сгустка у коров с генотипом АВВВ составила 76,0%, с генотипом АААВ – 47,6%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зиновьева Н. А. Эрнст Л. К. Проблемы биотехнологии и селекции сельскохозяйственных животных. – Дубровицы: ВИЖ, 2004. – 316 с.
2. Методы исследований в биотехнологии сельскохозяйственных животных // Школа-практикум. – Выпуск 4. – Дубровицы, 2005. – 132 с.
3. Galloway S. M., McNatty K. P., Cambridge L. M. et al. Mutations in an oocyte derived growth factor gene (BMP15) causes increased ovulation rate and infertility in a dosage sensitive manner // Nature Genet. – 2000. – Vol. 25. – P. 279–283.
4. Aleksander L. J., Stewart A. F., Mackinlay A. G., Kapelinskaya T. V., Tkach T. M., Gorodetsky S. I Complete sequence of the bovine beta-lactoglobulin DNA // Eur. J. Biochem. – 1988. – V. 178(2). – P. 395–401.
5. Schlee P., Rottmann O., Buchberger J., Graml R., Aumann J., Binser R., Prichner F. Die Milchproteingene des Fleckviehbullen "Haxl" und dessen Einfluss auf die Allelfrequenzen // Zuchtungskunde. – 1992. – V. 64. – N. 5. – S. 312–322.