

DOI

УДК 637.05:636.034:577

СЫРОПРИГОДНОСТЬ МОЛОКА ЧЕРНО-ПЕСТРЫХ КОРОВ С РАЗНЫМИ ГЕНОТИПАМИ КАППА-КАЗЕИНА И ДИАЦИЛГЛИЦЕРОЛ О-АЦИЛТРАНСФЕРАЗЫ

Шайдуллин Радик Рафаилович, д-р с.-х. наук, доцент, зав. кафедрой «Биотехнология, животноводство и химия», ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет».

420011, г. Казань, ул. К. Маркса, 65.

E-mail: tppi-kgau@bk.ru

Шарафутдинов Газимзян Салимович, д-р с.-х. наук, проф. кафедры «Биотехнология, животноводство и химия», ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет».

420011, г. Казань, ул. К. Маркса, 65.

E-mail: gazimsharaf_kgau@mail.ru

Москвичева Анастасия Борисовна, канд. с.-х. наук, доцент кафедры «Биотехнология, животноводство и химия», ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет».

420011, г. Казань, ул. К. Маркса, 65.

E-mail: moskvana2@yandex.ru

Ключевые слова: молоко, сыропригодность, генотип, ДНК-маркер, ДНК-тестирование.

Цель исследований – повышение качества и технологических свойств молока коров черно-пестрой породы. Исследования проведены на коровах-первотелках черно-пестрой породы в ООО «Дусым» Атнинского района Республики Татарстан. Сформированы три группы опытных коров в зависимости от генотипа CSN3 и DGAT1, являющихся аналогами по месяцу лактации. Изучена сыропригодность молока, полученного от коров с разным аллельным вариантом генов каппа-казеина и диацилглицерол О-ацилтрансферазы. У опытных коров проведено ДНК-тестирование по генам CSN3 и DGAT1 и определены аллельные варианты данных генов методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом по полиморфизму длин рестрикционных фрагментов. При действии сычужного фермента на молоко коров, имеющих генотип CSN3 AB и CSN3 BB, отмечен лучший выход плотного казеинового сгустка (80 и 100%) и отделение сыворотки ($P < 0,05$) при меньшем времени свертывания (20,3 и 16,5 мин; $P < 0,05-0,01$). По гену DGAT1 преимущество установлено у молока первотелок с аллельным вариантом DGAT1 AK и DGAT1 KK, соответственно, 86,7 и 85,7%, 24,0 и 25,7 минут. Наибольшее время свертывания молока характерно для группы CSN3 AA – 29,5 мин – и группы DGAT1 AA – 30,4 мин. По времени свертывания молока (15-40 мин) II тип имеют группы с генотипом CSN3 AB и CSN3 BB с наибольшей долей коров в стаде – 80,0 и 71,4% и с генотипом DGAT1 AK и DGAT1 KK – 86,6 и 85,7%, соответственно. Таким образом, лучшими сыродельческими свойствами обладает молоко, полученное от коров, имеющих в генотипе аллель В гена каппа-казеина и аллель К гена диацилглицерол О-ацилтрансферазы.

MILK OF BLACK-WHITE COWS WITH DIFFERENT GENES OF CAPPA CASEIN AND DIACYLGLYCEROL OF O-ACYLTRANSFERASE FOR CHEESEMAKING

R. R. Shaidullin, Doctor of Agricultural Sciences, Associate Professor, Head of the Department «Biotechnology, Animal Husbandry and Chemistry», FSBEI HE Kazan State Agrarian University.

420011, Kazan, K. Marx street, 65.

E-mail: tppi-kgau@bk.ru

G. S. Sharafutdinov, Doctor of Agricultural Sciences, Professor of the Department «Biotechnology, Animal Husbandry and Chemistry», FSBEI HE Kazan State Agrarian University.

420011, Kazan, K. Marx street, 65.

E-mail: gazimsharaf_kgau@mail.ru

A. B. Moskvicheva, Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor of the Department «Biotechnology, Animal Husbandry and Chemistry», FSBEI HE Kazan State Agrarian University.

420011, Kazan, K. Marx street, 65.

E-mail: moskvana2@yandex.ru

Key words: milk, cheese making, genotype, DNA marker, DNA testing.

The purpose of the research is improving the quality and technological properties of milk from black-and-white cows. The research was conducted on first-calf cows of a black-and-white breed in LLC «Dusym» of the Atninsky district of the Republic of Tatarstan. Three groups of experimental cows were formed depending on the genotype of CSN3 and DGAT1, which have equal lactation month. Cheese making milk obtained from cows with different allelic variants of the kappa-casein and diacylglycerol O-acyltransferase genes was studied. DNA testing was performed on the CSN3 and DGAT1 genes of experimental cows and allelic variants of these genes were determined by polymerase chain reaction followed by analysis of restriction-site polymorphism. It was found that milk of cows with the genotype CSN3 AB and CSN3 BB, when exposed to rennet, showed a better yield of a dense casein clot (80 and 100%) and separation of serum ($P < 0.05$), with a shorter coagulation time (20.3 and 16.5 min; $P < 0.05-0.01$). According to the DGAT1 gene, first-calf milk with the allelic variant DGAT1 AK and DGAT1 KK had the advantage, respectively, 86.7% and 85.7%, 24.0 and 25.7 minutes. The worst milk coagulation time is typical for CSN3 AA group – 29.5 minutes and DGAT1 AA one – 30.4 min. In terms of milk coagulation time, type II (15-40 min.) groups have the genotype CSN3 AB and CSN3 BB with the largest share of cows in the herd – 80.0 and 71.4% and with the genotype DGAT1 AK and DGAT1 KK – 86.6 and 85.7%, respectively. Thus, milk obtained from cows with the kappa-casein gene allele B and the diacylglycerol O-acyltransferase gene allele K gene in the genotype has the best cheese-making properties.

При выработке сыров наиболее важна в молоке не только массовая доля белка, но и его составляющей части – казеина. От массовой доли казеина и его свойств зависит свертываемость молока сычужным ферментом, выход сыра и его качество.

Исследованиями многих зарубежных и отечественных ученых установлено достоверное и положительное влияние аллеля *B* гена каппа-казеина на физико-химические показатели и технологические свойства молока коров разных пород [2, 4, 8].

У молока коров, имеющих в своем генотипе аллель *B* каппа-казеина (по сравнению с аллелем *A*), меньшее время коагуляции, отличная свертываемость, меньший расход молока; оно содержит мицеллы меньшего диаметра, что достаточно важно для выработки сыра [5, 6, 7].

В настоящее время ведется селекция, направленная на повышение качества и технологических свойств молока, при этом наличие желательных аллелей маркерных генов является у племенных животных важным моментом, который должен использоваться при разведении молочного крупного рогатого скота. Все это показывает на актуальность использования ДНК-маркеров при совершенствовании молочного скота, в том числе и при улучшении технологических свойств молока [1, 3, 9, 10].

Цель исследований – повышение качества и технологических свойств молока коров черно-пестрой породы.

Задачи исследований – установить влияние генотипов каппа-казеина (*CSN3*) и диацилглицерол О-ацилтрансферазы (*DGAT1*) на сыродельческие свойства молока коров черно-пестрой породы.

Материалы и методы исследований. Исследования были проведены на коровах-первотелках черно-пестрой породы в ООО «Дусым» Атнинского района Республики Татарстан. Сформированы три группы опытных коров в зависимости от генотипа *CSN3* и *DGAT1*, являющихся аналогами по месяцу лактации.

У опытных коров проведено ДНК-тестирование по генам каппа-казеина и диацилглицерол О-ацилтрансферазы в ФГБНУ «Федеральный центр токсикологической, радиационной и биологической безопасности». Аллельные варианты генов *CSN3* и *DGAT1* определены методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом по полиморфизму длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ) продуктов амплификации генов.

Сыродельческие свойства молока первотелок каждой группы определены в индивидуальных пробах молока на втором и третьем месяцах лактации. Сыропригодность молока определяли по методике Н. В. Барабанщикова (1990) при использовании сычужной и сычужно-бродильной пробы (ГОСТ 9225-84). При этом оценивали продолжительность свертывания сычужным ферментом – с момента введения фермента до образования плотного казеинового сгустка.

По сыропригодности молоко разделяли на три типа: I – молоко свертывается менее чем за 15 минут, II – молоко свертывается в течение 15-40 минут, III – молоко свертывается более чем за 40 минут или же не свертывается совсем.

Синерезис (мл) – количество сыворотки, выделившейся за 5, 15, 25 мин свободного фильтрования через бумажный фильтр 100 см³ молока.

Полученные материалы статистически обрабатывали с расчетом средней арифметической (M) и ошибки средней арифметической (m) с использованием программного приложения Microsoft Excel 2007. Уровень достоверности полученных результатов определяли по критерию Стьюдента при трех уровнях вероятности (P<0,05; P<0,01; P<0,001).

Результаты исследований. В результате проведенных исследований установлено, что молоко коров-первотелок с аллелем А гена каппа-казеина имеет худшее состояние казеинового сгустка при сычужном свертывании. У 33% животных с генотипом CSN3 AA из молока формировался рыхлый и дряблый сычужный сгусток (табл. 1). Плотный казеиновый сгусток формировался из молока 80% опытных животных с генотипом CSN3 AB и из молока 100% опытных животных с генотипом CSN3 BB.

Таблица 1

Состояние казеинового сгустка из молока первотелок с разным генотипом CSN3 и DGAT1

Генотип	n	Распределение коров по состоянию сычужного сгустка, %			Распределение по типам свертываемости молока, %		
		плотный	рыхлый	дряблый	I (до 15 мин)	II (15-40 мин)	III (более 40 мин)
CSN3							
AA	15	67	20	13	13	67	20
AB	15	80	20	-	20	80	-
BB	7	100	-	-	29	71	-
DGAT1							
AA	15	54	33	13	7	73	20
AK	15	87	13	-	7	87	7
KK	7	86	14	-	-	86	14

По Н. В. Барабанщикову для изготовления сыра лучшим является молоко, которое сворачивается под действием молокосвертывающего ферментного препарата в пределах 15-40 минут, оно относится ко II типу. В представленных данных, от первотелок, несущих в генотипе аллель В гена каппа-казеина, получено предпочтительное молоко для изготовления сыра, доля таких животных – более 71%. Животные с генотипом CSN3 AA продуцируют молоко, которое относится к I и III типу по времени свертываемости, количество их составило 33%.

Коровы с генотипом DGAT1 AK продуцируют молоко с лучшими сыродельческими свойствами. Так, при действии на молоко сычужного фермента у 87% первотелок образуется плотный казеиновый сгусток, а рыхлый – лишь у 13%. В опытной группе с генотипом DGAT1 AA плотный сгусток получился из молока 54 % коров, а рыхлый и дряблый из молока, соответственно, 33% и 13% коров, что намного меньше. Оптимальным временем свертываемости молокосвертывающим ферментным препаратом (II тип) обладает молоко коров группы с гетерозиготным генотипом DGAT1 AK, доля животных – 86,6%. В гомозиготной группе DGAT1 AA, которые имеют II тип свертываемости молока, отмечено 73% животных.

Наименьшее время свертывания молока сычужным ферментом отмечено у первотелок с генотипом CSN3 BB – 16 минут (табл. 2). Большой период и соответственно худшее время свертывания молока характерно для коров с генотипом CSN3 AA – 29 минут, группа с гетерозиготным генотипом CSN3 AB занимала промежуточное положение – 20 мин. Разница между гомозиготными группами составила 13 минут (P<0,01).

Таблица 2

Время свёртывания молока и синерезис казеиновых сгустков из молока первотелок с разным генотипом CSN3 и DGAT1

Генотип	n	Время свёртывания молока, мин	Количество сыворотки, выделившейся после разрезки сгустка, см ³		
			через 5 минут	через 15 минут	через 25 минут
CSN3					
AA	15	29 ± 3,07	43,87 ± 2,23	56,33 ± 1,52	61,53 ± 1,44

AB	15	20 ± 1,22	42,53 ± 1,66	58,80 ± 0,99	64,53 ± 1,28
BB	7	16 ± 1,51	50,86 ± 5,24	65,57 ± 2,55	68,86 ± 2,28
DGAT1					
AA	15	30 ± 2,46	41,93 ± 1,69	52,33 ± 1,07	57,93 ± 1,09
AK	15	24 ± 1,84	43,93 ± 1,85	55,87 ± 1,25	63,27 ± 1,26
KK	7	26 ± 3,41	42,60 ± 3,04	56,00 ± 2,41	61,80 ± 2,74

По гену диацилглицерол О-ацилтрансферазы лучшей свертываемостью сычужным ферментом обладает молоко животных с генотипом *DGAT1 AK* (24 мин) и *DGAT1 KK* (26 мин). У гомозиготных генотипов *DGAT1 AA* данный показатель плохой – 30 мин, выше, чем у первотелок *DGAT1 AK*, на 6 мин ($P < 0,05$).

Синерезис – уплотнение и стягивание сгустка с выделением сыворотки. Скорость синерезиса определяется влагоудерживающей способностью казеина и зависит от режима тепловой обработки, состава ферментного препарата и концентрации сухих веществ в молоке.

Сравнение казеиновых сгустков по синерезису показало, что группа первотелок с генотипом *CSN3 BB* по количеству выделившейся сыворотки после разрезки сычужного сгустка достоверно превосходит коров с генотипом *CSN3 AA* через 15 минут на 9,24 см³ ($P < 0,01$) и через 25 минут на 7,33 см³ ($P < 0,05$), животных с генотипом *CSN3 AB* – через 15 минут на 6,77 см³ ($P < 0,05$).

По гену диацилглицерол О-ацилтрансферазы установлено, что при оценке синерезиса отдельно по времени в группе с генотипом *DGAT1 AK* через 5 и 25 мин после разрезания казеинового сгустка выделилось больше сыворотки – 43,93 и 63,27 см³. При этом разница статистически достоверна по объему сыворотки между опытными группами *DGAT1 AA* и *DGAT1 AK* после разрезания сычужного сгустка через 15 мин на 3,54 см³ ($P < 0,05$) и через 25 мин на 5,34 см³ ($P < 0,01$).

Заключение. Лучшими сыродельческими свойствами обладает молоко, полученное от первотелок с генотипом *CSN3 BB* – у них больше выход плотного сычужного сгустка и меньше время свертывания молока. У коров с генотипом *DGAT1 AK* хорошие показатели сыропригодности молока, а худшие – у животных с генотипом *DGAT1 AA*. В целом, хорошими сыродельческими свойствами обладает молоко, которое продуцируют животные, имеющие аллель *B* гена каппа-казеина и аллель *K* гена диацилглицерол О-ацилтрансферазы.

Данные о наличии взаимосвязи генотипов *CSN3* и *DGAT1* с сыродельческими свойства молока животных дают возможность совершенствования молочных пород скота с использованием ДНК-маркеров в направлении повышения качества и свойств молока. Следовательно, с целью повышения сыропригодности молока коров черно-пестрой породы целесообразно проводить отбор с использованием ДНК-тестирования для выявления животных, несущих *B*-аллель каппа-казеина и *K*-аллель диацилглицерол О-ацилтрансферазы.

Библиографический список

1. Бигаева, А. В. Сыропригодность молока коров с разными генотипами каппа-казеина / А. В. Бигаева, Х. Х. Гильманов, С. В. Тюлькин [и др.] // Сыроделие и маслоделие. – 2019. – № 6. – С. 26-27.
2. Валитов, Ф. Р. Качественный состав молока коров с разными генотипами по гену каппа-казеина / Ф. Р. Валитов, И. Ю. Долматова, И. Н. Ганиева, И. Р. Кунафин // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины. – 2014. – Т. 219. – С. 70-73.
3. Гончаренко, Г. М. Сравнительная оценка сыропригодности молока симментальской и красной степной породы с учётом генотипов к-казеина / Г. М. Гончаренко, Т. С. Горячева, Н. М. Рудишина [и др.] // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. – Т. 110, №12. – С. 113-117.
4. Капельницкая, Е. Молочная продуктивность и технологические свойства молока коров с различными генотипами каппа-казеина / Е. Капельницкая, А. Шилова // Главный зоотехник. – 2015. – № 4. – С. 34-39.
5. Лоретц, О. Г. Влияние генотипа каппа-казеина на технологические свойства молока / О. Г. Лоретц, Е. В. Матушкина // Аграрный вестник Урала. – 2014. – № 3 (121). – С. 23-26.
6. Тельнов, Н. О. Влияние генотипа каппа-казеина на молочную продуктивность и технологические свойства молока коров красно-пестрой породы в республике Мордовия / Н. О. Тельнов // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2016. – № 2(34). – С. 160-163.
7. Тюлькин, С. Технологические свойства молока коров с разными генотипами каппа-казеина / С. Тюлькин, Т. Ахметов, М. Нургалиев // Молочное и мясное скотоводство. – 2011. – № 8. – С. 4-5.

8. Bonfatti, V. Effects of beta-kappa-casein (CSN2-CSN3) haplotypes, beta-lactoglobulin (BLG) genotypes, and detailed protein composition on coagulation properties of individual milk of Simmental cows / V. Bonfatti, G. Di Martino, A. Cecchinato [et al.] // *J. Dairy Sci.* – 2010. – Vol. 93, 8. – P. 3809-3817.
9. Ganiev, A. S. Reproductive quality of cows of different genotypes on CSN3 And DGAT1 genes depending on milk level / A. S. Ganiev, R. R. Shaidullin, F. S. Sibagatullin [et al.] // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* – 2018. – №9(6). – P. 1504-1509.
10. Safina, N. Y. Combination Of Polymorphism Of The TFAM Gene With Growth Dynamics, Milk Productivity And Reproductive Characteristics Of Cow-Heifers / N. Y. Safina, T. M. Akhmetov, Sh. K. Shakirov [et al.] // *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* – 2018. – № 9(6). – P. 1528-1537.

References

1. Bigaeva, A. V., Gilmanov, H. H., Tyulkin, S. V., Vafin, R. R., & Galstyan, A. G. (2019). Syro-prigodnost moloka korov s raznimi genotipami kappa-kazeina [Cheese suitability of cow milk with different kappa-casein genotypes]. *Syrodellie I maslodellie – Cheese making and butter making*, 6, 26-27 [in Russian].
2. Valitov, F. R., Dolmatova, I. Yu., Ganieva, I. N., & Kunafin, I. R. (2014). Kachestvennij sostav moloka korov s raznimi genotipami po genu kappa-kazeina [Qualitative composition of cow's milk with different genotypes for the kappa-casein gene]. *Uchenie zapiski Kazanskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi medicini – Scientific notes of Kazan State Academy of Veterinary Medicine*, 219, 70-73 [in Russian].
3. Goncharenko, G. M., Goryacheva, T. S., Rudishina, N. M., Medvedeva, N. S., & Akulich, E. G. (2013). Sravnitel'naja ocenka siroprigodnosti moloka simmentaliskoi krasnoi stepnoi porodi s uchjotom genotipov k-kazeina [Comparative evaluation of the cheese suitability of Simmental and red steppe milk taking into account k-casein genotypes]. *Vestnik Altaiskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta – Bulletin of Altai State Agrarian University*, 12, 113-117 [in Russian].
4. Kapelnitskaya, E., & Shilova, A. (2015). Molochnaia produktivnost I tekhnologicheskije svoistva moloka korov s razlichnymi genotipami kappa-kazeina [Milk productivity and technological properties of milk from cows with different genotypes of kappa-casein]. *Glavnii zootekhnik – Glavnyi zootekhnik*, 4, 34-39 [in Russian].
5. Loretz, O. G., & Matushkina, E. V. (2014). Vliianie genotipa kappa-kazeina na tekhnologicheskije svoistva moloka [The influence of the kappa-casein genotype on the technological properties of milk]. *Agrarnii vestnik Urala – Agrarian Bulletin of the Urals*, 3 (121), 23-26 [in Russian].
6. Telnov, N. O. (2016). Vlianiegenotipa kappa-kazeina na molochnuu produktivnost I tekhnologicheskije svoistva moloka korov krasno-pestroi porody v respublike Mordoviia [The influence of the kappa-casein genotype on milk production and technological properties of milk of red and white cows in the Republic of Mordovia]. *Vestnik Uliianovskoi gosudarstvennoi seliskohozyaistvennoj akademii – Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy*, 2(34), 160-163 [in Russian].
7. Tyulkin, S., Akhmetov, T., & Nurgaliev, M. (2011). Tekhnologicheskie svoistva moloka korov s raznymi genotipami kappa-kazeina [Technological properties of cow milk with different kappa-casein genotypes]. *Molochnoe I miasnoe skotovodstvo – Dairy and Beef Cattle Farming*, 8, 4-5 [in Russian].
8. Bonfatti, V., Di Martino, G., Cecchinato, A., Degano, L., & Carnier, P. (2010). Effects of beta-kappa-casein (CSN2-CSN3) haplotypes, beta-lactoglobulin (BLG) genotypes, and detailed protein composition on coagulation properties of individual milk of Simmental cows. *J. Dairy Sci.*, 93, 8, 3809-3817.
9. Ganiev, A. S., Shaidullin, R. R., Sibagatullin, F. S., Sharafutdinov, G. S., Moskvicheva, A. B., Tyulkin, S. V., & Faizov, T. H. (2018). Reproductive quality of cows of different genotypes on CSN3 and DGAT1 genes depending on milk level. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 9(6), 1504-1509.
10. Safina, N. Y., Akhmetov, T. M., Shakirov, Sh. K., Khaertdinov, R. A., Shaidullin, R. R., Sofronov, V. G., & Danilova, N. I. (2018). Combination Of Polymorphism Of The TFAM Gene With Growth Dynamics, Milk Productivity And Reproductive Characteristics Of Cow-Heifers. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 9(6), 1528-1537.