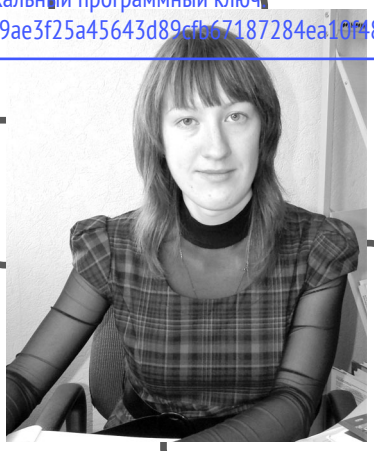
Документ подписан простой электронной подписью
Информация о владельце:
ФИО: Махаева Наталья Юрьевна
Должность: Проректор по учебной и воспитательной работе, молодежной политике ФГБОУ ВО "Ярославский ГАУ"
Дата подписания: 02.02.2024 11:01:58
Уникальный программный ключ:
fa349ae3f25a45643d89cfb67187284ea10f48e8

DOI 10.35694/YARCX.2020.50.2.005



ПРИМЕНЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКОГО МАРКИРОВАНИЯ В СЕЛЕКЦИОННОЙ РАБОТЕ С ПЛЕМЕННЫМИ СТАДАМИ

Ю.А. Михайлова (фото)
к.с.-х.н., старший преподаватель кафедры технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции
Р.В. Тамарова
д.с.-х.н., профессор, профессор кафедры зоотехнии
ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, г. Ярославль

ДНК-технологии, маркер, ген каппа-казеина, белковомолочность, наследование, творог, технологические свойства молока

DNA technology, marker, kappa-casein gene, protein and milking capacity, inheritance, cottage cheese, technological properties of milk

Качество белковомолочных продуктов зависит не только от технологии их производства, но и от физико-химических свойств сырого молока, большая часть которых наследственно обусловлена. В связи с тем, что перерабатывающие предприятия заинтересованы в закупках качественного сырья для выработки этих продуктов, перед производителями ставится задача увеличения производства молока с заданными свойствами [1].

Решению проблемы может в значительной степени способствовать внедрение биотехнологий, таких как ДНК-тестирование животных, особенно быков-производителей и маточного поголовья селекционного ядра по генам, контролирующим синтез белков молока; использование маркерной селекции, иммуногенетики для ускоренного генетического улучшения по белковомолочности коров. Зарубежными и отечественными учёными при изучении полиморфизма белков молока выявлен ген каппа-казеина, маркирующий белковомолочность и технологические свойства молока у коров разных пород [2]. Опыт многих стран свидетельствует о важности селекции коров по белковомолочности, так как это во многом определяет пищевую ценность молока и его технологические свойства. Наиболее часто у крупного рогатого скота встречаются аллели А и В каппа-казеина в трёх различных сочетаниях генотипов – АА, АВ, ВВ. Доказано, что В-аллель является надёжным маркером более высокого содержания белка в молоке, лучших его технологических свойств и большего выхода творога и сыра [3; 4; 5; 6].

Полиморфизм ДНК может быть использован для исследования закономерностей наследования вариантов гена каппа-казеина, несущих желательный комплекс признаков в конкретных средовых условиях. На основе такой информации можно целенаправленно формировать генофонды с необходимыми генными сочетаниями. Полиморфные системы белков наследуются по типу кодоминирования. Генотип животного по этим системам служит как бы пожизненным маркером, практически не зависящим от изменения внешних условий и состояния организма [3; 4; 5; 6].

Цель данных исследований – проследить наследование аллелей гена каппа-казеина дочерьми от быков-отцов с АВ и ВВ генотипами каппа-казеина, оценить белковомолочность коров, технологические свойства молока, выход и качество творога из молока коров ярославской породы с разными генотипами каппа-казеина. В соответствии с целью определены задачи исследований:

- установить частоту встречаемости различных генотипов по каппа-казеину у быков, использовавшихся в племенных стадах в течение последних 5 лет;
- изучить наследование аллельных вариантов гена каппа-казеина дочерьми от быков-отцов с АВ и ВВ генотипами каппа-казеина;
- провести оценку по белковомолочности коров-дочерей с учётом генетического маркирования по каппа-казеину у быков-отцов, материнского фона и уровня кормления коров;
- провести исследование выхода и качества творога из молока коров с разными генотипами каппа-казеина;
- рассчитать рентабельность производства творога из молока коров с разными генотипами каппа-казеина.

Исследовательская работа проводится с 2009 года в рамках научной школы технологического факультета и в соответствии с тематическим планом НИР ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА. В работе с молочными стадами в племзаводе ЗАО «Ярославка» и племрепродукторе ЗАО СП «Меленковский» внедрена научно обоснованная система племенной работы по качественному улучшению стада, что подтверждается актом внедрения.

Материалы и методы исследований

Основные исследования проводились в племрепродукторе по ярославской породе ЗАО СП «Меленковский» Ярославской области с 2009 года. Это стадо было выбрано для исследования, так как оно отличалось стабильно высокой белковомолочностью коров с 2004 года – 3,4% и более, что выше, чем во всех других племенных хозяйствах, при положительной динамике удоев [7].

В племзаводе ЗАО «Ярославка» Ярославской области изучали технологические свойства молока коров, генотипированных по каппа-казеину, с 2012 года. Это хозяйство является одним из ведущих племзаводов по ярославской породе с наибольшей численностью поголовья ярославских коров (удельный вес 63,5%). Здесь, на территории племзавода, функционирует собственный цех по переработке молока с изготовлением сметаны, сливочного масла, творога, полутвёрдого сыра марки «Молога». В связи с этим поступающее в цех молоко должно соответствовать необходимым требованиям по содержанию в нём белка [7].

Главным признаком методического отбора коров в группы для анализа являлось содержание белка в молоке: целевой стандарт отбора не ниже 3,5% – для ярославских чистопородных коров и не ниже 3,4% – для коров улучшенных генотипов, то есть ярославских голштинизированных с кровностью по голштинской породе от 83,1 до 87,5%, а также наличие не менее трёх законченных лактаций, чтобы проследить возрастную динамику белковомолочности коров.

Общее подконтрольное поголовье, генотипированное по каппа-казеину, составило 96 животных, из них 49 коров и 47 быков-производителей.

Нами проанализированы данные каталогов быков ОАО «Ярославское» по племенной работе. Быки Зверобой 33, Меткий 492, Заветный 59, Злак 221, Мэйсон 5091, Блеск 228 использовались в обоих хозяйствах, что позволило сделать сравнительную оценку их селекционного эффекта в разных стадах. От этих быков для анализа белковомолочности нами отобраны 124 головы коров-дочерей с законченными лактациями, соответствующие данные имелись у их матерей в количестве 117 голов.

Для анализа наследования В-аллельного варианта гена каппа-казеина дочерьми от 11 быков-отцов нами были генотипированы 27 дочерей в стаде племрепродуктора ЗАО СП «Меленковский» и 22 дочери – в племзаводе ЗАО «Ярославка». В лаборатории ДНК-технологий Всероссийского НИИ племенного дела проведена ДНК-диагностика образцов крови. По результатам тестирования были рассчитаны частота встречаемости генотипов АА, АВ, ВВ каппа-казеина и аллельных вариантов А и В у дочерей быков-отцов [8].

В технологическом отделе ГБУ ЯО «Ярославский государственный институт контроля качества сырья и пищевых продуктов» получили экспериментальные образцы творога. Для изготовления творога отобрали 3 партии молока, каждая из которых была получена от ярославских чистопородных коров с генотипами АА, АВ и ВВ каппа-казеина.

Творог вырабатывали из цельного, ненормализованного молока и сквашенного:

а) кислотным способом – за счёт молочной кислоты, образующейся в процессе молочно-

кислого брожения лактозы, развивающегося с помощью ферментов естественной микрофлоры молока;

б) кислотно-сычужным – с добавлением сычужного фермента и хлористого кальция, с последующим удалением сыворотки путём самопрессования.

Окончание сквашивания определяли по титруемой кислотности сгустка, которая должна быть в пределах 70…80°Т при кислотном и 55…60°Т – при кислотно-сычужном способах, и на излом сгустка.

Массовая доля жира, белка и влаги творога определялись соответственно по ГОСТ 5867-90, ГОСТ Р 53951-2010 и ГОСТ Р 54668-2011. Выход творога рассчитывали в процентах, путём отношения массы творога к массе молока [1]. Органолептическая оценка творога была проведена дегустационной комиссией в количестве 10 человек из ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, в соответствии с ГОСТ 31453-2013.

Результаты исследований

Для ускорения селекционного процесса применительно к современным требованиям развития животноводства традиционных методов отбора и подбора недостаточно. В последние годы в производственную практику всё шире внедряют методы маркерной селекции – ДНК-тестирование с использованием полиморфизма белков, в частности гена каппа-казеина.

В первом каталоге, изданном в 2009 году, все быки ярославской, голштинской, айрширской пород, Михайловского типа, используемые в сети искусственного осеменения, находящиеся в племпредприятии ОАО «Ярославское» по племенной работе, протестированы по генотипам каппа-казеина в лаборатории ВИЖ. Эта информация публиковалась и в последующих каталогах – 2011, 2013, 2015, 2018 годы [9]. Селекционеры в племенных хозяйствах имели возможность использовать соответствующие данные при подборе быков-производителей к стаду и индивидуальном подборе родительских пар [10].

Учитывая значительное влияние быков-отцов на белковомолочность дочерей, мы проанализировали генотипы по каппа-казеину у быков-производителей, использовавшихся в подборе в племенных стадах племзавода ЗАО «Ярославка» и племрепродуктора ЗАО СП «Меленковский» за последние 5 лет (рис. 1).

В племзаводе ЗАО «Ярославка» использовали преимущественно быков с генотипом АА каппа-казеина, который является маркером более высоких удоев у коров, и одного быка – с генотипом ВВ. Частота аллелей А и В каппа-казеина, заложенных в этом стаде через быков-производителей, составила 0,82 и 0,18. В племрепродукторе ЗАО СП «Меленковский», наоборот, преобладали быки с аллелем В каппа-казеина, особенно среди быков ярославской породы (два из 8 были гомозиготы ВВ), соотношение аллелей А и В – 0,76 и 0,24. Генетический потенциал по белковомолочности в стаде племрепродуктора, заложенный через быков, и на перспективу выше, чем в племзаводе ЗАО «Ярославка».

В настоящее время доказана прямая выгода от использования быков, несущих В-аллель, в зонах, связанных с сыроварением. Поэтому отобрали быков-производителей с АВ и ВВ генотипом каппа-казеина и их дочернее потомство, генотипированное по каппа-казеину, и рассчитали частоту встречаемости аллелей гена каппа-казеина у дочерей быков-производителей в племенных стадах (рис. 2). Вопрос о наследовании аллельных вариантов каппа-казеина от быков-отцов дочерьми наименее изучен, так как для этого необходимо ДНК-тестирование не только быков, но

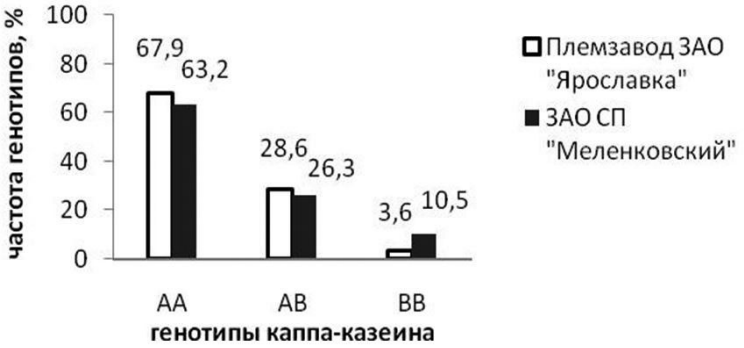


Рисунок 1 – Частота встречаемости генотипов каппа-казеина у быков в племенных стадах

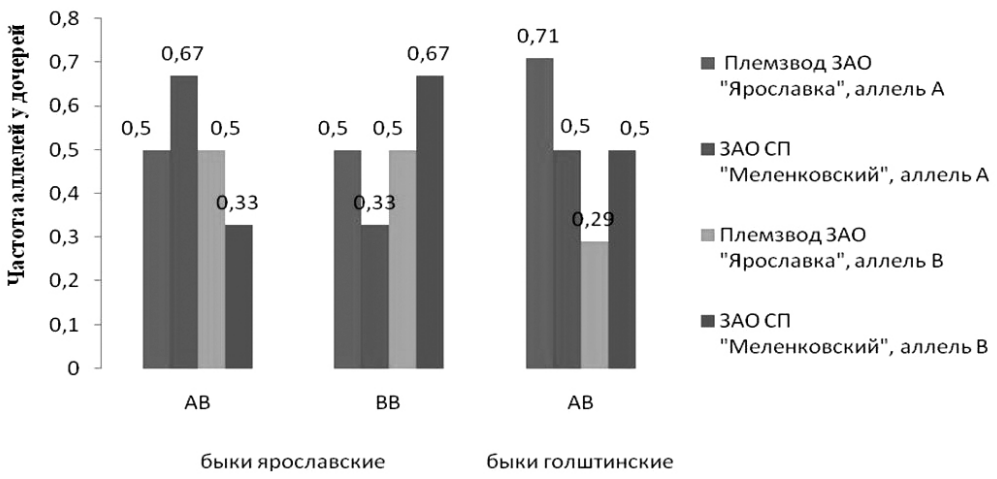


Рисунок 2 – Частота встречаемости аллелей гена каппа-казеина у дочерей быков-производителей в племенных стадах

и их дочерей с учётом также генотипов матерей, уровня развития признака в родительском стаде.

В племенных стадах племзавода ЗАО «Ярославка» и ЗАО СП «Меленковский» у дочерей от ярославских быков, гомозиготных по В-аллелю (ВВ) каппа-казеина, наследуется только В-аллельный вариант. Частота встречаемости В-аллеля каппа-казеина у потомства вдвое выше, чем у А-аллельного варианта. У дочерей от быков с гетерозиготным генотипом АВ каппа-казеина наследуется В-аллельный вариант наряду с А-аллелем. Частота встречаемости В-аллеля каппа-казеина у потомства либо поровну (0,5), либо в два раза меньше, чем у А-аллельного варианта. Каждая особь наследует по одному из двух аллелей гена каппа-казеина от матери и отца. Наибольший удельный вес имеют дочери с гетерозиготным генотипом АВ каппа-казеина (55,1%), а гомозигот ВВ среди дочерей ярославских быков вдвое больше, чем у дочерей голштинских быков (16,7% против 7,7%). У дочерей голштинских быков преимущественно встречается А-аллель каппа-казеина (частота встречаемости 0,62), что больше, чем у дочерей ярославских быков (0,57). Следовательно, при использовании в подборе быков-производителей с генотипами по каппа-казеину АВ и ВВ вероятность наследования В-аллеля дочерним потомством увеличивается, причём как у дочерей быков ярославских, так и голштинских.

Белковомолочность коров-дочерей с использованием генетических маркеров по каппа-казеину у быков-отцов, с учётом материнского фона и анализа уровня их кормления, практически не изучена, что составляет научную новизну наших исследований [11].

Нами установлено достоверное влияние на белковомолочность дочерей РИБ (родительский индекс быков) отцов и уровня развития этого признака в зависимости от генетического фона матерей в стадах. Стабильно повысил МДБ дочерей в обоих стадах только ярославский бык Зверобой 33 – А1Б1 с генотипом АВ по каппа-казеину, что подчеркивает его препотентность по этому признаку и особую племенную ценность, так как одновременно повысились удои, МДБ и МДЖ дочерей в сравнении с матерями. Ярославский бык Меткий 492 с генотипом АВ по каппа-казеину использовался более широко в племзаводе ЗАО «Ярославка» и повысил удои дочерей при некотором снижении МДБ и МДЖ в молоке. Он подтвердил оценку улучшателя по удою с племенной категорией А1 (рис. 3, 4).

Анализ кормления коров в двух хозяйствах показал, что нет существенных различий в типах кормления и общей питательности рационов. Годовой расход кормов на корову составлял в среднем 58…60 ц к. ед., в том числе удельный вес концентратов 28…37%, добавляли комбикорм, жмыхи и шроты. Однако в ЗАО СП «Меленковский» расходовали концентратов на 9% больше и лучше обогащали рацион коров белковыми кормами (шротами и жмыхами), а в племзаводе ЗАО «Ярославка» – комбикормом. Поэтому в племрепродукторе несколько выше содержание белка в молоке коров – на 0,09%.

Следовательно, одним из главных факторов повышения содержания белка в молоке коров является генетический, обусловленный наследственностью с отцовской и материнской сторон, а степень влияния быков-отцов с учётом

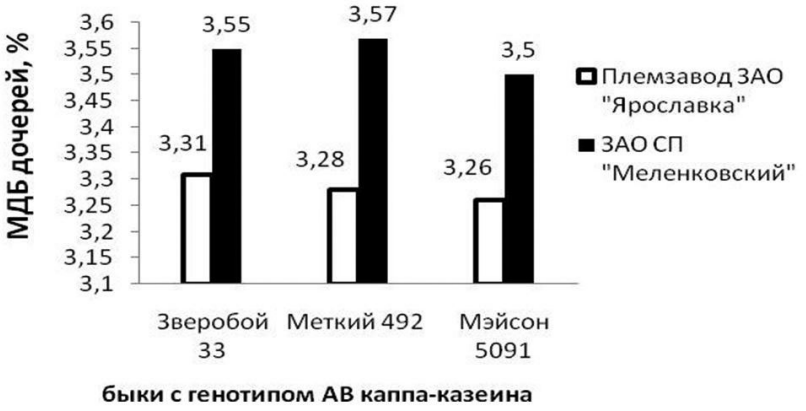


Рисунок 3 – МДБ дочерей быков с генотипом АВ каппа-казеина в племенных стадах

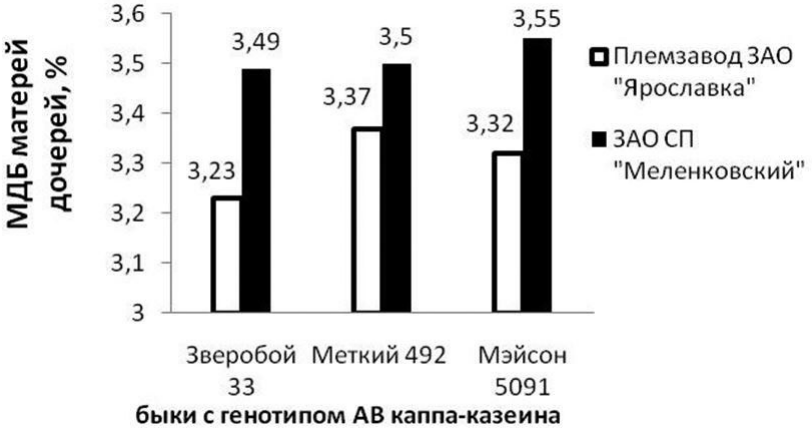


Рисунок 4 – МДБ матерей дочерей быков с генотипом АВ каппа-казеина в племенных стадах

генетических маркеров по каппа-казеину на белковомолочность коров-дочерей зависит от препотентности производителя, его сочетаемости со стадом, материнского фона и уровня кормления коров.

В стаде племзавода ЗАО «Ярославка» впервые проведён анализ выхода и качества творога из молока ярославских чистопородных коров с разными генотипами каппа-казеина [11]. Из молока коров с генотипами ВВ и АВ каппа-казеина выработали больше творога на 14…29% и израсходовали меньше молока на 13…27%, чем из молока коров с генотипом АА. Сыворотки отделилось больше из молока коров с генотипом АА каппа-казеина на 6…7%, в сравнении с другими группами. При несколько пониженном содержании белка в молоке от коров с генотипом ВВ каппа-казеина увеличился выход творога за счёт массы казеина и увеличения количества связываемой влаги. Белки молока коров с В-аллельным вариантом каппа-казеина в генотипе обладают лучшей гидрофильностью, то есть способностью удерживать влагу, образуя прочные связи. Такие результаты получены в обоих способах приготовления творога, что указывает на их достоверность и закономерность выводов [12, 13].

По органолептическим показателям творог, полученный кислотно-сычужным способом, превосходил творог, приготовленный кислотным способом, он имел более нежный и приятный вкус. Изучение качества полученного творога при створаживании молока показало значительные преимущества продукта, полученного из молока коров с генотипом АВ каппа-казеина и с использованием кислотно-сычужного способа коагуляции. По-видимому, это было связано с благоприятным соотношением массы связанной влаги к массе казеина, что оказало решающее влияние на качество творога из молока коров с генотипом АВ каппа-казеина.

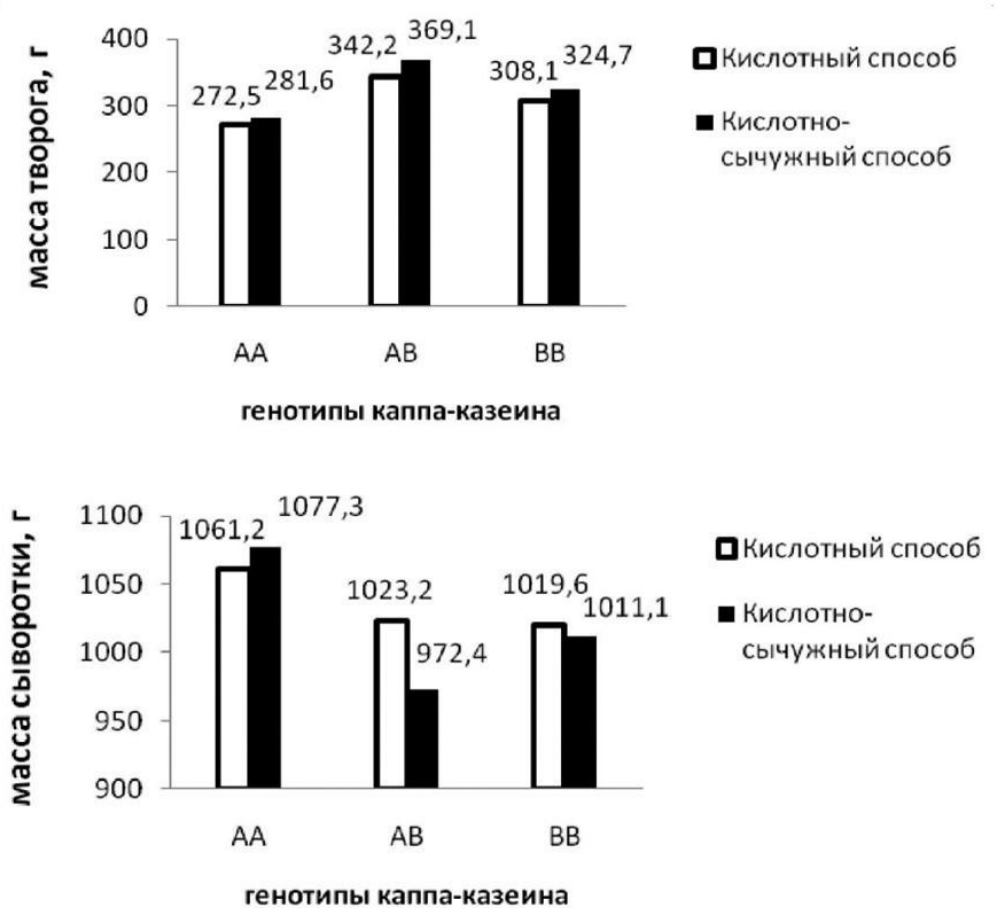


Рисунок 5 – Массы творога и сыворотки из молока коров с разными генотипами каппа-казеина

Расчёты показали, что рентабельность производства творога выше из молока ярославских чистопородных коров с генотипами ВВ и АВ каппа-казеина на 22…46%, чем творога из молока коров с АА генотипом. Для племзавода ЗАО «Ярославка», имеющего собственный цех переработки молока, выгодно использовать выявленные закономерности, чтобы реализовывать творог лучшего качества по более высоким ценам.

Выводы

Применение метода ДНК-тестирования по генотипам каппа-казеина эффективно для повышения белковомолочности и улучшения технологических свойств молока коров с целью ускорения процесса селекции при отборе животных в раннем возрасте. Необходимо проводить в более широких масштабах ДНК-тестирование быков и коров по генотипу каппа-казеина и выявлять животных с В-аллелем гена каппа-казеина, что будет способствовать наибольшей вероятности их получения, особенно среди ярославских чистопородных. Важно контролировать эти показатели сразу у быков-производителей и их дочерей, с учётом также генотипов матерей, уровня развития признака в родительском стаде.

Литература

1. Гуньков, С.В. Влияние технологических свойств молока на выход и качество творога [Текст]: дис. … канд. тех. наук / С.В. Гуньков. – СПб., 2006. – 158 с.

2. Ельчанинов, В.В. Номенклатура и биохимические свойства казеинов коровьего молока. Каппа-казеин [Текст] / В.В. Ельчанинов, А.В. Кригер // Сыроделие и маслоделие. – 2008. – № 5. – С. 53–56.

3. Гладырь, Е.А. ДНК-диагностика вариантов генов каппа-казеина и бета-лактоглобулина у крупного рогатого скота [Текст]: дис. … канд. биол. наук / Е.А. Гладырь. – Дубровицы, 2001. – 103 с.

4. Глазко, В.И. Введение в геномную селекцию [Текст] / В.И. Глазко, Г.Ю. Косовский, Т.Т. Глазко. – М.: Приятная компания, 2012. – 258 с.

5. Калашникова, Л.А. Селекция XXI века: использование ДНК-технологий [Текст] / Л.А. Калашникова, И.М. Дунин, В.И. Глазко. – М.: ФГНУ «ВНИИплем», 2003. – 438 с.

6. Калашникова, Л.А. Геномная оценка молочного скота [Текст] / Л.А. Калашникова // Молочное и мясное скотоводство. – 2010. – № 1. – С. 10–12.

7. Михайлова, Ю.А. Белковомолочность и технологические свойства молока коров с разными генотипами каппа-казеина [Текст]: автореф. дис. … канд. с-х. наук / Ю.А. Михайлова. – Ярославль, 2016. – 21 с.

8. Меркурьева, Е.К. Генетика с основами биометрии [Текст] / Е.К. Меркурьева, Г.Н. Шангин-Березовский. – М.: Колос, 1983. – 424 с.

9. Каталог быков-производителей молочных и молочно-мясных пород, оцененных по качеству потомства. – Ярославль-Москва: ОАО «Ярославское» по племенной работе, ФГНУ «ВНИИплем», 2009–2018. – 30 с.

10. Коренев, М.М. Племенная работа в животноводстве Ярославской области [Текст] / М.М. Коренев, Н.С. Фураева. – Ярославль: ОАО «Ярославское» по племенной работе, 2015–2018. – 36 с.

11. Тамарова, Р.В. Теория и практика повышения белковомолочности коров в племенных хозяйствах Ярославской области [Текст]: монография / Р.В. Тамарова, Н.Г. Ярлыков, Ю.А. Корчагина. – М.: РГАУ-МСХА, 2016. – 114 с.

12. Липатов, Н.Н. Производство творога. Теория и практика [Текст] / Н.Н. Липатов. – М.: Пищевая промышленность, 1973. – 280 с.

13. Русских, В.М. Некоторые вопросы производства творога традиционным способом [Текст] / В.М. Русских, А.С. Филинков, О.А. Совалкова // Молочная промышленность. – 2006. – № 5. – С. 61–62.

References

1. Gun'kov, S.V. Vlijanie tehnologicheskih svojstv moloka na vyhod i kachestvo tvoroga [Tekst]: dis. … kand. teh. nauk / S.V. Gun'kov. – SPb., 2006. – 158 s.

2. El'chaninov, V.V. Nomenklatura i biohimicheskie svojstva kazeinov korov'ego moloka. Kappa-kazein [Tekst] / V.V. El'chaninov, A.V. Kriger // Syrodelie i maslodelie. – 2008. – № 5. – S. 53–56.

3. Gladyr', E.A. DNK-diagnostika variantov genov kappa-kazeina i beta-laktoglobulina u krupnogo rogatogo skota [Tekst]: dis. … kand. biol. nauk / E.A. Gladyr'. – Dubrovicy, 2001. – 103 s.

4. Glazko, V.I. Vvedenie v genomnuju selekciju [Tekst] / V.I. Glazko, G.Yu. Kosovskij, T.T. Glazko. – M.: Prijatnaja kompanija, 2012. – 258 s.

5. Kalashnikova, L.A. Selekcija XXI veka: ispol'zovanie DNK-tehnologij [Tekst] / L.A. Kalashnikova, I.M. Dunin, V.I. Glazko. – M.: FGNU «VNIIplem», 2003. – 438 s.

6. Kalashnikova, L.A. Genomnaja ocenka molochnogo skota [Tekst] / L.A. Kalashnikova // Molochnoe i mjasnoe skotovodstvo. – 2010. – № 1. – S. 10–12.

7. Mikhajlova, Yu.A. Belkovomolochnost' i tehnologicheskie svojstva moloka korov s raznymi genotipami kappa-kazeina [Tekst]: avtoref. dis. … kand. s-h. nauk / Yu.A. Mikhajlova. – Jaroslavl', 2016. – 21 s.

8. Merkur'eva, E.K. Genetika s osnovami biometrii [Tekst] / E.K. Merkur'eva, G.N. Shangin-Berezovskij. – M.: Kolos, 1983. – 424 s.

9. Katalog bykov-proizvoditelej molochnyh i molochno-mjasnyh porod, ocenennyh po kachestvu potomstva. – Jaroslavl'-Moskva: OAO «Jaroslavskoe» po plemennoj rabote, FGNU «VNIIplem», 2009–2018. – 30 s.

10. Korenev, M.M. Plemennaja rabota v zhivotnovodstve Jaroslavskoj oblasti [Tekst] / M.M. Korenev, N.S. Furaeva. – Jaroslavl': OAO «Jaroslavskoe» po plemennoj rabote, 2015–2018. – 36 s.

11. Tamarova, R.V. Teorija i praktika povyshenija belkovomolochnosti korov v plemennyh hozjajstvah Jaroslavskoj oblasti [Tekst]: monografija / R.V. Tamarova, N.G. Yarlykov, Yu.A. Korchagina. – M.: RGAU-MSHA, 2016. – 114 s.

12. Lipatov, N.N. Proizvodstvo tvoroga. Teorija i praktika [Tekst] / N.N. Lipatov. – M.: Pishhevaja promyshlennost', 1973. – 280 s.

13. Russkikh, V.M. Nekotorye voprosy proizvodstva tvoroga tradicionnym sposobom [Tekst] / V.M. Russkikh, A.S. Filinkov, O.A. Sovalkova // Molochnaja promyshlennost'. – 2006. – № 5. – S. 61–62.