

УДК 636.2.034:636.2.082.2

ПЛІВАЧУК О.П., аспірантка

Науковий керівник – ДИМАНЬ Т.М., д-р с.-г. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

ОЦІНЮВАННЯ МОЛОЧНОЇ ПРОДУКТИВНОСТІ КОРІВ У ЗВ'ЯЗКУ З ПОЛІМОРФІЗМОМ ГЕНА АЛЬФА-ЛАКТАЛЬБУМІНУ

Метою дослідження було з'ясувати вплив поліморфізму гена альфа-лактальбуміну (α -LA) на показники молочної продуктивності, зокрема надій, склад та технологічні властивості молока, в української чорно-рябої молочної худоби ($n=200$). Для визначення генотипів тварин за локусом гена α -LA було використано метод ПЛР-ПДРФ. У дослідженому стаді частота алелів α -LA A і α -LA B становила відповідно 0,590 і 0,410, частота генотипів AA, AB і BB – відповідно 0,365, 0,450 і 0,185.

Статистично значущі відмінності між тваринами різних генотипів за локусом α -LA було виявлено за масовою часткою білка ($AB>AA>BB$) та надоем ($BB>AB>AA$). Встановлено достовірні значення сили впливу генотипу за геном α -LA на надій та масову частку білка – 1,4 та 2,5 % відповідно. Результати досліджень доводять доцільність використання поліморфізму гена α -LA для оцінювання молочної продуктивності корів української чорно-рябої молочної породи.

Ключові слова: молочна продуктивність, ген альфа-лактальбуміну, ПЛР-ПДРФ, генотипи, надій, склад молока, сиропридатність, термостійкість.

Постановка проблеми. Дослідження молекулярно-генетичних основ реалізації генотипу племінних тварин та розроблення ДНК-технологій, спрямованих на підвищення ефективності використання їх генетичного потенціалу – одне з найважливіших завдань сучасного тваринництва, особливо у зв'язку з інтенсифікацією його галузей. Завдяки відкриттям у галузі молекулярної генетики з'явилась можливість виділяти ділянки геному, які впливають на продуктивні ознаки тварини, відтак, ідентифікувати ДНК-маркери, асоційовані з конкретними показниками продуктивності. Найзручнішими ДНК-маркерами, які обумовлюють кількісний і якісний рівні молочної продуктивності тварин, вважають гени білків молока. Особливий вплив на молочну продуктивність та технологічні властивості молока здійснюють структурні гени – капа-казеїну, бета-лактоглобуліну та альфа-лактальбуміну [8].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Альфа-лактальбумін – металопротеїн, один із сироваткових білків, який становить 2–5 % від загального вмісту білка в молоці. Основна його біологічна роль – участь у синтезі лактози [1].

Поліморфізм гена α -LA у зв'язку з показниками молочної продуктивності вивчали у худоби багатьох порід. Зокрема, Bleck і Bermel [7] виявили, що алель A гена α -LA у корів голштинської породи асоційований з вищими надоем, жирно- та білковомолочністю, тимчасом алель B – з більшими масовими частками жиру та білка у молоці. Під час вивчення зв'язку поліморфних варіантів гена α -LA з фізико-хімічними та технологічними властивостями молока корів білоруської чорно-рябої породи встановлено, що продукція тварин з генотипом α -LA AA вирізнялась підвищеним умістом жиру, білка та сухих речовин порівняно з генотипом α -LA BB [2]. Між коровами симентальської породи австрійської селекції з різними генотипами за локусом гена α -LA виявлено достовірні відмінності за надоем ($BB>AB$, 564 кг, $p\leq 0,01$) та умістом жиру в молоці ($AA>BB$, 0,2 %, $p\leq 0,001$). У корів поліпшеного типу автори констатували відмінність між генотипами за вмістом жиру ($AB>BB$, 0,1 %, $p\leq 0,05$), у тварин австрійської селекції – за жирномолочністю ($AB>AA$, 13 кг, $p\leq 0,05$) [4]. В.И. Сельцов та ін. [6], досліджуючи поліморфізм гена α -LA у чорно-рябої, симентальської, холмогорської та швіцької порід, відзначили, що під час селекції молочної худоби на підвищену білковомолочність необхідно враховувати бажаність гомозиготного генотипу тварин за цим геном – α -LA AA. За даними Костюниной О.В. та співавт. [3], у корів чорно-рябої породи з генотипом α -LA BB у поєднанні з генотипом AA за локусом гена капа-казеїну виявляли достовірне переважання над іншими генотипами за рівнем надоїв та кількістю молочного жиру. На жаль, дані щодо впливу поліморфізму гена α -LA на молочну продуктивність корів вітчизняних порід відсутні. Водночас у публікаціях різних авторів існують певні суперечності стосовно асоціативних зв'язків цього поліморфного гена з господарсько корисними характеристиками тварин.

Метою роботи було дослідження можливості використання поліморфізму гена α -LA для оцінювання потенціалу молочної продуктивності в українській чорно-рябій молочної породи.

Матеріал і методика дослідження. Під час проведення роботи враховували основні показники молочної продуктивності 200 корів української чорно-рябій молочної породи, протестованих за геном альфа-лактальбуміну. Матеріалом для досліджень слугували проби молока та крові від тварин.

Геномну ДНК виділяли за допомогою набору реагентів «ДНК-сорбВ» (Амплісенс, Росія) згідно з рекомендаціями виробника. Поліморфізм α -LA (алелі А і В) визначали за допомогою методу ПЛР-ПДРФ (полімеразна ланцюгова реакція-аналіз поліморфізму рестрикційних фрагментів) [5].

Розмір ампліфікованого продукту становив 440 п.н. Отримані ампліфікати розщеплювали за використання рестриктази MhI. Електрофоретичне розділення продуктів рестрикції проводили в 7 % поліакриламідному гелі, їх розміри визначали, порівнюючи з маркером молекулярної ваги pUC19LNA/MspI.

Візуалізацію продуктів рестрикції здійснювали на транслюмінаторі в УФ світлі з наступним фотографуванням електрофореграм цифровою камерою.

Молочну продуктивність тварин визначали на основі даних контрольних доїнь, масові частки жиру та білка в молоці – за використання приладу «Екомілк КАМ-98.2», вміст сухих речовин – методом висушування до постійної ваги за температури 105 °С, масову частку сухого знежиреного молочного залишку та лактози – за використання аналізатора молока АМ-2, масову частку казеїну – методом формольного титрування, густину – за допомогою лактоденсиметра. Казеїнове число визначали як частку казеїну у загальному білку. Тривалість сичужного зсідання молока визначали у такий спосіб: 20 см³ молока нагрівали до 35 °С на водяній бані, вносили у пробірку 1 см³ сичужного ферменту і струшували. Фіксували час з початку утворення перших пластівців згустку. Термостійкість (алкогольне число) визначали титруванням молока 96 % етанолом [9].

Статистичний аналіз дослідних даних проводили за допомогою програми Statistica 6.0. Для оцінювання ступеня впливу генотипу на прояв ознак виконували однофакторний дисперсійний аналіз.

Результати досліджень та їх обговорення. Електрофоретичне розділення рестрикційних фрагментів α -LA/MhI гена альфа-лактальбуміну представлено на рисунку 1. У досліджуваному стаді корів було ідентифіковано два алелі цього гена (α -LA А та α -LA В) і три генотипи (АА, АВ та ВВ). Дослідження показали, що 45 % тварин мали гетерозиготний генотип, 36,5 % – генотип АА, а носіїв генотипу ВВ виявлено найменше (табл. 1). Подібний розподіл генотипів зустрічається у різних популяціях чорно-рябій худоби.

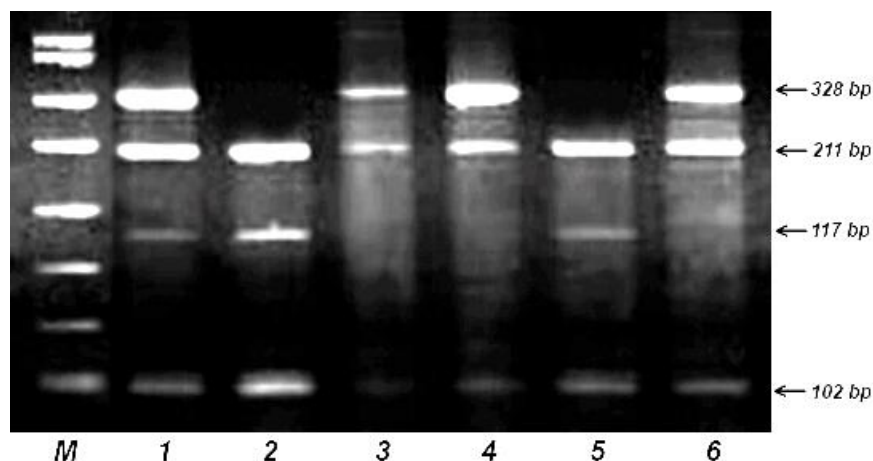


Рис. 1. Електрофоретичне розділення фрагментів α -LA / MhI гена альфа-лактальбуміну: доріжка 1 – генотип АВ; доріжки 2, 5 – генотип ВВ; доріжки 3, 4, 6 – генотип АА; М – маркер довжин ДНК-фрагментів pUC19LNA/MspI.

Таблиця 1 – Частоти алелів та генотипів за локусом гена α -LA в української чорно-рябої молочної породи

Локус	Генотип	Кількість тварин	Частота генотипу	Алель	Частота алеля
α -LA	AA	73	0,365	A B	0,590 0,410
	AB	90	0,450		
	BB	37	0,185		

Із таблиці 2 видно, що найвищі надої (5615 кг) отримано від корів з генотипом α -LA BB. Вони на 243 ($p<0,05$) та 107 ($p<0,05$) кг перевищують молочну продуктивність корів-носіїв генотипів AA та AB відповідно. Такі результати узгоджуються з даними, отриманими для російської чорно-рябої породи [5].

Значних відмінностей між коровами з різними генотипами гена α -LA за вмістом основних складників молока виявлено не було. Тварини з гетерозиготним генотипом мали дещо вищі показники вмісту жиру, білка, лактози та сухих речовин порівняно з гомозиготами, однак статистично значущі відмінності виявлено лише за вмістом білка – $AB>AA$, 0,04 %, $p<0,05$; $AB>BB$, 0,08 %, $p<0,05$.

Таблиця 2 – Вплив поліморфізму гена α -LA на склад та технологічні властивості молока корів української чорно-рябої молочної породи, $\bar{X} \pm m_x$

Властивість	Генотип			η^2 , %	p
	AA	AB	BB		
Надій, кг	5372 $\pm$ 70,7	5508 $\pm$ 100,2	5615 $\pm$ 77,5	1,4	0,037*
Масова частка жиру, %	3,90 $\pm$ 0,032	3,95 $\pm$ 0,020	3,75 $\pm$ 0,063	0,3	0,14
Масова частка білка, %	3,12 $\pm$ 0,031	3,16 $\pm$ 0,042	3,08 $\pm$ 0,012	2,5	0,041*
Масова частка казеїну, %	2,39 $\pm$ 0,011	2,36 $\pm$ 0,073	2,43 $\pm$ 0,034	0,3	0,079
Казеїнове число, %	76,6 $\pm$ 0,84	74,6 $\pm$ 1,11	78,8 $\pm$ 0,92	0,3	0,078
Масова частка лактози, %	4,49 $\pm$ 0,037	4,54 $\pm$ 0,052	4,46 $\pm$ 0,052	0,9	0,17
Масова частка сухих речовин, %	12,52 $\pm$ 0,044	12,54 $\pm$ 0,062	12,37 $\pm$ 0,064	0,2	0,31
Масова частка СЗМЗ, %	8,62 $\pm$ 0,082	8,59 $\pm$ 0,054	8,62 $\pm$ 0,067	0,2	0,24
Густина, °А	27,6 $\pm$ 0,29	27,9 $\pm$ 0,15	27,9 $\pm$ 0,24	0,2	0,099
Тривалість сичужного зсідання, хв	29,3 $\pm$ 1,12	29,5 $\pm$ 0,87	28,4 $\pm$ 1,01	1,2	0,31
Алкогольне число, мл	59,4 $\pm$ 3,46	57,3 $\pm$ 0,90	56,5 $\pm$ 1,02	0,9	0,24

Примітка. * – $p<0,05$ за критерієм Фішера.

Перевагу за вмістом казеїну мало молоко корів з генотипом α -LA BB, казеїнове число становило 78,8 %, що зумовило його найкращі показники сичужного зсідання (28,4 хв). Такі характеристики сприятливі для виробництва твердих сирів. Тимчасом найвища термостійкість була притаманна молоку від корів з генотипом AA гена альфа-лактальбуміну, алкогольне число такого молока становило 59,4 % етанолу.

Результати дисперсійного аналізу показали відсутність достовірних асоціативних зв'язків між показниками молочної продуктивності та поліморфізмом гена α -LA за винятком надою та масової частки білка, де спостерігали достовірну залежність. Сила впливу (η^2) генотипу на показники надою становила 1,4 ($p=0,037$), вмісту білка – 2,5 ($p=0,041$). Напрям цього зв'язку вказує, що під час відбору тварин української чорно-рябої молочної породи за вмістом білка в молоці бажаним є алель A гена α -LA.

Результати проведених досліджень доводять можливість використання молекулярно-генетичного поліморфізму гена альфа-лактальбуміну для оцінювання потенціалу продуктивності у великій рогатій худоби, зокрема в популяціях української чорно-рябої молочної породи. Отримані дані можуть бути використані у селекційній роботі з цією породою у напрямі підвищення показників молочної продуктивності та поліпшення технологічних властивостей молока шляхом підбору батьківських пар у такий спосіб, щоб це дало змогу отримати потомство з високою частотою генотипів, які впливають на підвищення вмісту молочного жиру або білка у тварин.

Висновки та перспективи подальших досліджень. За локусом гена альфа-лактальбуміну в дослідженому стаді корів української чорно-рябої молочної породи найчастіше зустрічається генотип AB (45 %). Статистично достовірну відмінність між тваринами різних генотипів за локусом α -LA було виявлено за масовою часткою білка ($AB>AA>BB$) та надоєм ($BB>AB>AA$). Однофакторним дисперсійним аналізом встановлено достовірні значення сили впливу генотипу за геном α -LA на надій та масову частку білка. Результати досліджень доводять доцільність

використання поліморфізму гена α -LA для оцінювання молочної продуктивності корів української чорно-рябої молочної породи.

Перспективи подальших досліджень полягають у моніторингу вітчизняних популяцій молочної худоби за геном α -LA.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Горбатова К.И. Химия и физика белков молока / К.И. Горбатова. – М.: Колос, 1993. – 192 с.
2. Грибанова Ж.А. Полиморфизм гена альфа-лактальбумина и его влияние на молочную продуктивность и качественные показатели молока коров белорусской черно-пестрой породы / Ж.А. Грибанова, О.П. Курак // Экологические и селекционные проблемы племенного животноводства. – Брянск: Изд. БГСХА, 2012. – Вып. науч тр. 13. – С. 25–29.
3. Влияние генотипов по ДНК-маркерам на показатели молочной продуктивности коров черно-пестрой породы / О.В. Костюнина, А.М. Бакай, Г.А. Бушова [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 10. – С. 33–34.
4. Львина О.А. Молекулярно-генетические и продуктивные особенности симментальского скота различного происхождения: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. биол. наук / О.А. Львина. – Дубровицы, 2011. – 18 с.
5. Ракина Ю.А. Взаимосвязь полиморфизма генов альфа-лактальбумина и бета-лактоглобулина коров с продуктивностью и технологическими свойствами молока: автореф. дис. на соискание ученой степени канд. с.-х. наук / Ю.А. Ракина. – Уфа, 2013. – 24 с.
6. Оценка молочной продуктивности коров разных пород в связи с полиморфизмом по гену альфа-лактальбумина / В.И. Сельцов, О.В. Костюнина, Ю.П. Загороднев, Е.А. Гладырь // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 3. – С. 57–60.
7. Bleck T.G. Correlation of the α -lactalbumin (+15) polymorphism to milk production and milk composition of Holsteins / T.G. Bleck, R.D. Bermel // Dairy Sci. – 1993. – Vol. 76. – P. 2292–2298.
8. Caroli A.M. Invited review: milk protein polymorphisms in cattle; effect on animal breeding and human nutrition / A.M. Caroli, S. Chessa, G.J. Erhardt // Dairy Sci. – 2009. – Vol. 92. – P. 5335–5352.
9. Michalova A. Influence of composite k-casein and β -lactoglobulin genotypes on composition, rennetability and heat stability of milk of cows of Slovak Pied breed / A. Michalova, Z. Krupova // Czech J. Anim. Sci. – 2007. – Vol. 52 (9). – P. 292–298.

REFERENCES

1. Gorbatova K.I. Himija i fizika belkov moloka / K.I. Gorbatova. – M.: Kolos, 1993. – 192 s.
2. Gribanova Zh.A. Polimorfizm gena al'fa-laktal'bumina i ego vlijanie na molochnuju produktivnost' i kachestvennye pokazateli moloka korov belorusskoj cherno-pestroj porody / Zh.A. Gribanova, O.P. Kurak // Jekologicheskie i selekcionnye problemy plemennogo zhivotnovodstva. – Brjansk: Izd. BGSXA, 2012. – Vyp. nauch tr. 13. – S. 25–29.
3. Vlijanie genotipov po DNK-markeram na pokazateli molochnoj produktivnosti korov cherno-pestroj porody / O.V. Kostjunina, A.M. Bakaj, G.A. Bushova [i dr.] // Dostizhenija nauki i tehniki APK. – 2011. – № 10. – S. 33–34.
4. L'vina O.A. Molekuljarno-geneticheskie i produktivnye osobennosti simmental'skogo skota razlichnogo proishozhdenija: avtoref. dis. na soiskanie uchenoj stepeni kand. biol. nauk / O.A. L'vina. – Dubrovicy, 2011. – 18 s.
5. Rakina Ju.A. Vzaimosvjaz' polimorfizma genov al'fa-laktal'bumina i beta-laktoglobulina korov s produktivnost'ju i tehnologicheskimi svojstvami moloka: avtoref. dis. na soiskanie uchenoj stepeni kand. s.-h. nauk / Ju.A. Rakina. – Ufa, 2013. – 24 s.
6. Ocenka molochnoj produktivnosti korov raznyh porod v svjazi s polimorfizmom po genu al'fa-laktal'bumina / V.I. Sel'cov, O.V. Kostjunina, Ju.P. Zagorodnev, E.A. Gladyr' // Dostizhenija nauki i tehniki APK. – 2013. – № 3. – S. 57–60.
7. Bleck T.G. Correlation of the α -lactalbumin (+15) polymorphism to milk production and milk composition of Holsteins / T.G. Bleck, R.D. Bermel // Dairy Sci. – 1993. – Vol. 76. – P. 2292–2298.
8. Caroli A.M. Invited review: milk protein polymorphisms in cattle; effect on animal breeding and human nutrition / A.M. Caroli, S. Chessa, G.J. Erhardt // Dairy Sci. – 2009. – Vol. 92. – P. 5335–5352.
9. Michalova A. Influence of composite k-casein and β -lactoglobulin genotypes on composition, rennetability and heat stability of milk of cows of Slovak Pied breed / A. Michalova, Z. Krupova // Czech J. Anim. Sci. – 2007. – Vol. 52 (9). – P. 292–298.

Оценка молочной продуктивности коров в связи с полиморфизмом гена альфа-лактальбумина

Е.П. Пливачук

Целью исследования было определить влияние полиморфизма гена альфа-лактальбумина (α -LA) на показатели молочной продуктивности, в частности удой, состав и технологические свойства молока, в украинского черно-пестрого молочного скота ($n=200$). Для определения генотипов животных по локусу гена α -LA был использован метод ПЦР-ПДРФ. В исследованном стаде частота аллелей А и В составляла соответственно 0,590 и 0,410, частота генотипов АА, АВ и ВВ – соответственно 0,365, 0,450 и 0,185.

Статистически достоверные различия между животными различных генотипов по локусу α -LA были выявлены по массовой доле жира ($AB>AA>BB$) и удою ($BB>AB>AA$). Установлены достоверные значения силы влияния генотипа по гену α -LA на удой и массовую долю белка – 1,4 и 2,5 % соответственно. Результаты исследований доказывают целесообразность использования полиморфизма гена α -LA для оценки молочной продуктивности коров украинской черно-пестрой молочной породы.

Ключевые слова: молочная продуктивность, ген альфа-лактальбумина, ПЦР-ПДРФ, генотипы, удой, состав молока, сыропригодность, термостойкость.

Надійшла 20.10.2015 р.