

LIETUVOS PIENINIŲ GALVIJŲ POPULIACIJOS PIENO BALTYMŲ GENETINĖS ĮVAIROVĖS ĮTAKA PIENO KIEKIUI IR PIENO SUDĖČIAI

Nijolė Pečiulaitienė, Iona Miceikienė, Sigita Kerzienė

Lietuvos veterinarijos akademija, Gyvūnų veisimo ir genetikos katedra, K. Janušausko gyvūnų genetikos laboratorija, Tilžės g. 18, Kaunas LT–47181; tel.36 36 64; el. paštas: nijole@lva.lt

Santrauka. Galvijų pieno kiekis, sudėtis bei perdirbamosios savybės susiję pieno baltymų alfa_{s1} kapa kazeinų bei beta laktoglobulino polimorfizmo genetiniais variantais. Ištirti 394 Lietuvos pieninių veislių negiminingų karvių (109 LJ, 168 LZ, 68 LŠ ir 49 LB) mėginiai. Pieno baltymų genams identifikuoti taikytas PGR–RFIP metodas.

Išanalizavus Lietuvos pieninių galvijų populiacijos pieno kiekio ir pieno sudėtinųjų dalių vidurkį nustatyta, kad pieno baltymo kapa kazeino lokuso BB genotipas statistiškai patikimai veikia didesni riebalų (4,50±0,5%) ir baltymų (3,47±0,04%) vidurkį, tuo tarpu kapa kazeino BE genotipas pasižymėjo didesniu pieno kiekio vidurkiu (5776±27 kg). Statistiškai patikimi skirtumai pagal vidutinį pieno baltymų procentą nustatyti tarp BB genotipo ir AA genotipo (0,21; p<0,001) bei BB genotipo ir AB genotipo (0,15; p<0,05). Išrūgų baltymo beta laktoglobulino lokuso BB genotipas sąlygojo didesni pieno riebalų (4,67±0,01%) vidurkį. Statistiškai patikimas skirtumas nustatytas tarp beta laktoglobulino lokuso BB genotipo ir BC genotipo pagal vidutinį pieno riebalų procentą (+0,28; p<0,05). Pieno baltymo alfa_{s1} lokuso BB genotipas darė įtaką didesniai pieno kiekiui (5242±14 kg), tuo tarpu pieno baltymų vidurkis (3,64±0,09%) didesnis veikiant CC genotipui. Statistiškai patikimi skirtumai pagal pieno kiekį kilogramais nustatyti tarp pieno baltymo alfa_{s1} lokuso BB genotipo ir BC genotipo (+328; p<0,05) bei tarp BB genotipo ir CC genotipo (-1015; p<0,05).

Mūsų studijų duomenimis, didžiausia kapa kazeino geno įtaka nustatyta pieno baltymų procentui. Kapa kazeino genas veikė 5,9% pieno baltymų (p<0,001). Analizuojant alfa_{s1} kapa kazeinų haplotipų įtaką, didžiausia statistiškai patikima nustatyta pieno baltymų procentui (p<0,001), mažiausia – riebalų kiekiui (p<0,001). Lyginant produktyvumo rodiklių vidurkį pagal pieno baltymų alfa_{s1} kapa kazeinų haplotipus, BC haplotipas labiausiai veikė vidutinį pieno baltymų procentą, AB haplotipas – vidutinį pieno kiekį kilogramais.

Pieno baltymus apsprendžiančių genų identifikavimas gali būti ekonomiškai svarbus kriterijus formuojant pienines bandas, pieno baltymų lokusai ateityje gali būti naudojami galvijų selekcijos programose kaip papildomi selekcijos kriterijai ir informatyvūs molekuliniai žymekliai pagal pieno išėigą, sudėtį ir technologines savybes.

Raktažodžiai: kazeinas, laktoalbuminas, laktoglobulinas, pienas, polimerazės grandinės reakcija, galvijai.

EFFECT OF MILK PROTEIN GENETIC POLYMORPHISM ON MILK YIELD AND COMPOSITION IN LITHUANIAN DAIRY CATTLE POPULATION

Summary. Milk yield, composition and manufacturing properties are related to milk protein polymorphism genetic variants of bovine milk proteins AlfaS1-casein, Kappa-casein and Beta- lactoglobulin. Three hundred ninety four blood samples of Lithuanian dairy breeds of unrelated cows were investigated (109 LWB, 168 LR, 68 LLG ir 49 LBW). Milk protein genes were identified by polymerase chain reaction (PCR) and RFLP method. It was assessed that BB genotype of milk protein Kappa-casein locus affected major milk fat (4.50±0.5 %) and protein (3.47 ±0.04 %) averages; whereas Kappa- casein BE genotype could be characterized by higher milk yield average (5776±27 kg). The whey protein BB genotype of Beta-lactoglobulin locus had influenced major milk fat (4.67±0.01%) average. Alfa_{s1}-casein BB genotype affected higher milk yield average (5242±14 kg), whereas Alfa_{s1}-casein CC genotype was superior in protein average (3.64±0.09 %). In our study statistically higher influence of Kappa-casein gene was estimated for milk protein percentage (5.9%, P<0.001). AlfaS1- Kappa haplotypes were associated with the highest protein percentage (2.2%, P<0.001) and lowest fat, kg (0.4%, P<0.001) in bovine milk. Further, in studied Lithuanian dairy cattle population milk protein AlfaS1- Kappa casein haplotypes, BC haplotypes had highest effect on average milk protein percentage and AB haplotype was associated with average milk yield, kg.

The identification of milk protein genes could be an economically important selection criteria for dairy herds designated for industrial milk production. Moreover, milk protein polymorphism can be used as selection criteria and informative molecular markers for yield, composition and technological properties of milk in cattle selection programs.

Keywords: casein, lactoalbumin, lactoglobulin, milk, polymerase chain reaction, cattle.

Įvadas. Pagrindiniai galvijų kiekybiniai požymiai susiję su pieno produkcija – primilžiu, baltymų riebalų kiekiu, baltymų kokybine sudėtimi. Į pieno sudėtį įeina pagrindinis baltymas kazeinas (alfa, beta ir kapa) ir sutraukinimo baltymai – alfa laktoalbuminas ir beta laktoglobulinas. Kazeinų genai chromosomoje išsidėstę labai arti vienas kito, todėl dažnai paveldimi kartu ir sudaro haplotipą. Neseniai patvirtinta, kad galvijų kazeinų genai (alfa_{s1}, beta, alfa_{s2} ir kapa) fiziniame žemėlapyje

išsidėstę 200 kb regione, 6 chromosomoje (Threadgill, Womack, 1990; Ferretti, Sgaramella, 1990). Daugybė tyrimų nustatyta, kad beta laktoglobulino ir kazeinų genai turi skirtingus alelinius variantus, nuo kurių priklauso pieningumas, pieno riebumas bei baltymingumas, bet ypač pieno kokybinė sudėtis, o nuo jos – ir perdirbamosios pieno savybės (Arave et al., 1971; Brum et al., 1968; Comberg et al., 1964; Gonyon et al., 1987; Haenlein et al., 1987; Lin et al., 1986; Ng-Kwai-

Hang et al., 1984). Galvijų pieno baltymų genų lokusų alelės gali būti naudojamos kaip genetiniai žymekliai kiekybinių savybių lokusų selekcijai pagal pieno išmilžį, pieno sudėtį ir kokybę. Pieno baltymų polimorfizmo tyrimai sparčiai plėtojami siekiant kelių tikslų: atrasti daugiau naujų variantų, juos apibūdinti, ir, svarbiausia, suprasti kiekvieno varianto galimą įtaką pieno produkcinėms, maistinėms ir technologinėms savybėms. Konkretus pieno baltymų polimorfizmą lemiančių alelių lokusų išaiškinimas galvijų genome leidžia padidinti selekcijos, nukreiptos į pieno perdirbimo galimybes bei pieno tinkamumą atskirų produktų gamybai, poveikį. Be to, žinant atskirų populiacijos individų genome esančių alelių, lemiančių vieno ar kito pieno baltymo varianto pasireiškimą, lokusus, galima atrinkti gyvulius poravimui. Pageidaujamas jų palikuonių požymis bus labiausiai išreikštas.

Atsižvelgiant į kiekybinių savybių lokusų įtaką galvijų požymių pasireiškimui, auginamus galvijus tikslinga tirti šių lokusų polimorfizmo atžvilgiu. Žinant, kad tam tikro gyvulio genotipe yra vienas ar keli kiekybinių savybių lokusai, lemiantys pageidaujamo ar nepageidaujamo požymio pasireiškimą, žinant poveikio ir pasireiškimo dėsningumus įvairiose palikuonių kartose, galima vykdyti kryptingą atranką baltymus apsprendžiančių genų atžvilgiu.

Darbo tikslas – ištirti pieno baltymų genetinių variantų paplitimą Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje bei nustatyti įtaką pieno kiekiui, kokybei ir sudėtinėms dalims.

Medžiagos ir metodai. Pieno baltymus apsprendžiančių genų įtakai nustatyti, produktyvumui ir pieno sudėčiai ištirti paimti 394 kraujo mėginiai iš negiminingų Lietuvos pieninių veislių karvių (109 LJ, 168 LŽ, 68 LŠ ir 49 LB). Produktyvumo analizei panaudoti Lietuvos pieninių veislių karvių kontrolės 2001–2004 metų produktyvumo rodikliai iš VŠĮ Kaimo verslo plėtros ir informacijos centras.

Kraujas pieno baltymų genų tyrimui imtas į vakuuinius mėgintuvėlius iš Jungo venos (Venojekt, Belgija) su 19,5 mg konservanto EDTA (K₃) (Pharmacia Biotech, Švedija), po 10 ml iš kiekvieno gyvulio. DNR iš kraujo išskirta chloroforminiu fenoliniu metodu pagal S.A. Miller ir kitus tyrėjus (1988). Pieno baltymų genai identifikuoti PGR–RFIP (polimerazės grandinės reakcija, restrikcinių fragmentų ilgio polimorfizmas) metodu (Sakai et al., 1988).

Pieno baltymo alfa_{s1} kazeino geno variantų tyrimas. Alfa_{s1} kazeino geno variantams nustatyti PGR reakcijai panaudoti šie pradmenys: A pradmuo– 5'- GGC ACA CAA TAC ACT GAT GC - 3'; B pradmuo– 5'- CAG TGG CAT AGT AGT CTT TT - 3' ir C pradmuo– 5'- CAG TGG CAT AGT AGT CTT TC - 3'. PGR reakcijai naudoti reagentai: 10,5 μl ddH₂O, 5 μl 10xPCR buferis, 5 μl dNTP (2 mM), 2 μl alfa_{s1}– A pradmuo, 2 μl alfa_{s1}– B pradmuo, 2 μl alfa_{s1}– C pradmuo, 3 μl MgCl₂ (50 mM), 0,5 μl BSA, 2 μl *Taq* polimerazė. PGR reakcija vykdoma amplifikatoriuje (Applied Biosystem; GeneAmp PCR System 2700) tokiu režimu: 34 ciklai (94°C 30 sek., 60°C 30 sek., 72°C 30 sek.) 72°C, 5 min., PGR produktas išanalizuotas elektroforeze 2% agarozės gelyje, 100 V, 35 min. Gelis buvo dažomas etidžio bromidu 15–20 min. ir

analizuojamas UV šviesoje (bangos ilgis 300 nm) Bio Doc 1000 videodokumentavimo sistemoje (BioRad, USA). Rezultatas – gautas PGR produktas buvo 87 bp dydžio. DNR fragmentų dydis po PGR priklauso nuo alfa_{s1} kazeino geno alelių dydžių.

Pieno baltymo kapa kazeino geno variantų tyrimas. Kapa kazeino geno variantams nustatyti PGR reakcijai buvo panaudoti šie pradmenys: K346A-5'-CAT-TTA-TGG-CCA-TTC-CAC-CAA-AG-3' ir K346B-5'-CAT-TTC-GCC-TTC-TCT-GTA-ACA-G-3'. PGR reakcijai panaudoti reagentai: 12 μl ddH₂O, 5 μl 10xPCR buferis, 2,5 μl dNTP (2 mM), 3 μl MgCl₂ (50 mM), 2,5 μl K346A (10 pmol), 2,5 μl K346B (10 pmol), 0,5 μl BSA, 2 μl *Taq* polimerazė. PGR reakcija vykdyta amplifikatoriuje (Applied Biosystem; GeneAmp PCR System 2700) tokiu režimu: 34 ciklai (94°C 30 sek., 58°C 30 sek., 72°C 30 sek.) 72°C, 5 min. Amplifikuotas PGR produktas (337 bp dydžio) karpomas *Hae III* ir *Hinf I* restrikciniais fermentais (MBI Fermentas, Lietuva; 10 units/20ml, 37°C). 10 μl PGR produkto karpoma su 10,5 μl restrikcinio mišinio (8 μl ddH₂O, 2 μl 10xMbuf., 0,5 μl *Hae III*, 8 μl ddH₂O, 2 μl 10xMbuf., 0,5 μl *Hinf I*). Paliekama termostate nakčiai (15 h) 37°C. Karpytas PGR produktas elektroforezės būdu frakcionuojamas 3% agarozės gelyje, 100 V, 35 min. Gelis dažomas etidžio bromidu 15–20 min. ir analizuojamas UV šviesoje (bangos ilgis 300 nm) „Bio Doc 1000“ videodokumentavimo prietaisu (BioRad, USA). DNR fragmentų dydis priklauso nuo kapa kazeino geno alelių dydžių.

Pieno baltymo beta laktoglobulino geno variantų tyrimas. Beta laktoglobulino geno variantams nustatyti PGR reakcijai buvo panaudoti šie pradmenys: JBLG 2: 5'-TGT GCT GGA CAC CGA CTA CAA AAA G-3' ir JBLG 3: 5'- GCT CCC GGT ATA TGA CCA CCC TCT-3'. PGR reakcijai panaudoti reagentai: 9,2 μl ddH₂O, 2,5 μl 10xPCR buferis, 2,5 μl dNTP (2 mM), 1,5 μl MgCl₂ (50 mM), 2 μl BLG 2 (10 pmol), 2 μl BLG 3 (10 pmol), 0,5 μl BSA, 2 μl *Taq* polimerazė. PGR reakcija vykdoma amplifikatoriuje (Applied Biosystem; GeneAmp PCR System 2700) tokiu režimu: 35 ciklai (94°C 40 sek., 58°C 50 sek., 72°C 50 sek.) 72°C, 5 min. Gautas PGR produktas (247 bp dydžio) karpomas restriktažėmis. PGR produktui karpyti naudotas *Hae III* restrikcinis fermentas (MBI Fermentas, Lithuania; 10 units/20ml, 37°C) 0,5 μl. 10 μl PGR produkto karpoma su 10,5 μl restrikcinio mišinio (8 μl ddH₂O, 2 μl 10xMbuf., 0,5 μl *Hae III*). Paliekama termostate nakčiai 15 val. 37°C temperatūroje. Karpytas PGR produktas frakcionuojamas 3% agarozės gelyje, 100 V, 35 min. Gelis dažomas etidžio bromido tirpale 15–20 min. ir analizuojamas UV šviesoje (bangos ilgis 300 nm) „Bio Doc 1000“ videodokumentavimo prietaisu (BioRad, USA). DNR fragmentų dydis po PGR priklauso nuo beta laktoglobulino genų alelių dydžių.

Statistinė duomenų analizė. Skaičiavimai atlikti statistiniu R–paketu (Gentlemen, Ihaka, 1997). Siekiant įvertinti Lietuvos pieninių galvijų populiacijos pieno baltymų alfa_{s1} ir kapa kazeinų bei jų haplotipų ir išrūgų baltymo beta laktoglobulino įtaką pieno kiekiui ir pieno sudėtinėms dalims, atlikta daugiafaktorinė dispersinė analizė (ANOVA).

Genotipų įtaka pieno kiekiui ir sudėčiai Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje apskaičiuota pagal tiesinį mišrųjį modelį:

pieno kiekis $ijklmn = \mu + \text{kapa kazeinas}_i + \text{beta laktoglobulinas}_j + \text{alfa}_{s1} \text{ kazeinas}_k + \text{veislė}_l + \text{ūkis}_m + \text{laktacija}_n + e_{ijklmn}$;

riebalai procentais $ijklmno = \mu + \text{kapa kazeinas}_i + \text{beta laktoglobulinas}_j + \text{alfa}_{s1} \text{ kazeinas}_k + \text{veislė}_l + \text{ūkis}_m + \text{laktacija}_n + \text{regresija su pieno kiekiu}_o + e_{ijklmno}$;

riebalai kg $ijklmno = \mu + \text{kapa kazeinas}_i + \text{beta laktoglobulinas}_j + \text{alfa}_{s1} \text{ kazeinas}_k + \text{veislė}_l + \text{ūkis}_m + \text{laktacija}_n + \text{regresija su pieno kiekiu}_o + e_{ijklmno}$;

baltymai procentais $ijklmno = \mu + \text{kapa kazeinas}_i + \text{beta laktoglobulinas}_j + \text{alfa}_{s1} \text{ kazeinas}_k + \text{veislė}_l + \text{ūkis}_m + \text{laktacija}_n + \text{regresija su pieno kiekiu}_o + e_{ijklmno}$;

baltymai kg $ijklmno = \mu + \text{kapa kazeinas}_i + \text{beta laktoglobulinas}_j + \text{alfa}_{s1} \text{ kazeinas}_k + \text{veislė}_l + \text{ūkis}_m + \text{laktacija}_n + \text{regresija su pieno kiekiu}_o + e_{ijklmno}$.

Haplotipų (alfa_{s1} kapa kazeinų) įtaka pieno kiekiui ir pieno sudėtinėms dalims Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje apskaičiuota pagal tiesinį mišrųjį modelį:

pieno kiekis $ijklm = \mu + \text{haplotipas}_i + \text{veislė}_j + \text{ūkis}_k + \text{laktacija}_l + e_{ijkl}$;

riebalai procentais $ijklm = \mu + \text{haplotipas}_i + \text{veislė}_j + \text{ūkis}_k + \text{laktacija}_l + \text{regresija su pieno kiekiu}_m + e_{ijklm}$;

riebalai kg $ijklm = \mu + \text{haplotipas}_i + \text{veislė}_j + \text{ūkis}_k + \text{laktacija}_l + \text{regresija su pieno kiekiu}_m + e_{ijklm}$;

baltymai procentais $ijklm = \mu + \text{haplotipas}_i + \text{veislė}_j + \text{ūkis}_k + \text{laktacija}_l + \text{regresija su pieno kiekiu}_m + e_{ijklm}$;

baltymai kg $ijklm = \mu + \text{haplotipas}_i + \text{veislė}_j + \text{ūkis}_k + \text{laktacija}_l + \text{regresija su pieno kiekiu}_m + e_{ijklm}$.

Tyrimų rezultatai. Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje buvo analizuota trijų pieno baltymų sistemų bei dvylikos skirtingų pieno baltymų genotipų įtaka pieno produktyvumo savybėms. 1 lentelėje pateikta 394 karvių aštuonių laktacijų pieno kiekio ir pieno sudėtinėms dalių vidurkiai pagal pagrindinių pieno baltymų alfa_{s1} , kapa kazeinų ir išrūgų baltymo beta laktoglobulino genotipus. Išanalizavus Lietuvos pieninių galvijų pieno kiekio ir pieno sudėtinėms dalių vidurkį nustatyta, kad pieno baltymo kapa kazeino lokuso BB genotipas daro įtaką didesniam riebalų ($4,50 \pm 0,5\%$) ir baltymų ($3,47 \pm 0,04\%$) vidurkiui. Statistiškai patikimas skirtumas nustatytas tarp BB genotipo ir AA genotipo, pieno baltymų procento ($0,21$; $p < 0,001$) bei pieno riebalų procento vidurkių ($+0,27$; $p < 0,05$). Tarp kapa kazeino lokuso BB genotipo ir AB genotipo pieno baltymų procento vidurkių skirtumai ($+0,15$; $p < 0,05$) buvo taip pat statistiškai patikimi. Kapa kazeino BE genotipas pasižymėjo didesniu pieno kiekiu (5776 ± 27 kg), riebalų ($251,4 \pm 14,4$ kg) bei baltymų ($187,9 \pm 9,3$ kg) vidurkiu. Statistiškai patikimas skirtumas tarp BE genotipo ir BB genotipo nustatytas pieno kiekio ($+1163$; $p < 0,001$) bei pieno baltymų kilogramais vidurkio ($+44,5$; $p < 0,05$).

1 lentelė. Pieno kiekio ir pieno sudėtinėms dalių vidurkis pagal pieno baltymų kapa, alfa_{s1} kazeinų ir beta laktoglobulino genotipus Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje (n=394)

Kapa kazeino genotipai	n	Pienas, kg	Riebalai, %	Riebalai, kg	Baltymai, %	Baltymai, kg
AA	859	4963±46,4	4,22±0,01	210,4±2,18	3,26±0,01	162,8±1,57
AB	676	4787±39,2	4,45±0,02	213,2±1,93	3,32±0,01	159,0±1,42
AE	101	5512±180	4,36±0,03	243,8±9,00	3,19±0,02	176,1±5,82
BB	39	4613±128	4,50±0,55	206,9±6,39	3,47±0,04	160,9±4,52
BE	25	5776±277	4,32±0,45	251,4±14,4	3,25±0,06	187,9±9,38
Beta laktoglobulino genotipai	n	Pienas, kg	Riebalai, %	Riebalai, kg	Baltymai, %	Baltymai, kg
AA	227	4820±106	4,18±0,03	204,8±5,44	3,18±0,01	155,4±3,64
AB	555	5152±57,0	4,29±0,01	221,5±2,64	3,24±0,01	168,2±1,94
BB	908	4830±37,0	4,67 ±0,01	211,0±1,78	3,33±0,01	161,5±1,27
BC	10	4133±238	4,39±0,06	193,3±12,6	3,63±0,12	150,8±11,6
Alfa _{s1} kazeino genotipai	n	Pienas, kg	Riebalai, %	Riebalai, kg	Baltymai, %	Baltymai, kg
BB	1563	5242±146	4,15±0,03	220,5±6,65	3,24±0,02	173,2±5,18
BC	124	4914±31,3	4,34±0,01	213,8±1,52	3,28±0,01	162,1±1,06
CC	13	3899±245	4,27±0,12	168,5±14,5	3,64±0,09	143,7±11,9

Mūsų tyrimų duomenimis, beta laktoglobulino lokuso BB genotipas darė įtaką didesniam pieno riebalų ($4,67 \pm 0,01\%$) vidurkiui, tuo tarpu didesniu vidutiniu pieno baltymų procentu ($3,63 \pm 0,1\%$) pasižymėjo BC genotipas. Didžiausias pieno kiekis ($5152 \pm 57,0$ kg) nustatytas veikiant išrūgų baltymo beta laktoglobulino lokuso AB genotipui. Statistiškai patikimas skirtumas nustatytas tarp beta laktoglobulino lokuso BB genotipo ir BC genotipo pagal vidutinį pieno riebalų procentą ($+0,28$; $p < 0,05$). Sirtumai pagal pieno kiekį nustatyti tarp beta

laktoglobulino lokuso AB genotipo ir BB genotipo (-322 ; $p < 0,001$), BC genotipo ir AB genotipo (-1020 ; $p < 0,001$), statistiškai patikimi.

Pieno baltymo alfa_{s1} lokuso BB genotipas darė įtaką didesniam pieno kiekiui vidurkiui (5242 ± 14 kg) palyginti su BC ir CC genotipais. Didesnis pieno riebalų vidurkis ($4,34 \pm 0,01\%$) gautas veikiant pieno baltymo alfa_{s1} lokuso BC genotipui, tuo tarpu pieno baltymų vidurkis ($3,64 \pm 0,09\%$) didesnis veikiant CC genotipui. Statistiškai patikimi skirtumai nustatyti tarp pieno baltymo alfa_{s1}

lokuso BB genotipo ir BC genotipo (+328; $p < 0,05$) bei tarp BB genotipo ir CC genotipo (-1015; $p < 0,05$) pagal pieno kiekį kilogramais (1 lentelė).

2 lentelėje pateikta individuali įtaka kapa ir α_{s1} kazeinų ir beta laktoglobulino genų pieno kiekiui ir pieno sudėtinėms dalims. Didžiausią statistiškai patikimą įtaką kapa kazeino genas darė pieno kiekiui ir pieno sudėtinėms dalims. Mūsų studijų duomenimis, didžiausia kapa kazeino geno įtaka buvo nustatyta pieno baltymų procentui, kur kapa kazeino genas veikia 5,9% pieno baltymų kiekio įvairovės ($p < 0,001$). Išrūgų baltymo beta

laktoglobulino įtaka pieno baltymams siekė 3,7% ($p < 0,05$). Iš trijų tirtų pieno baltymų sistemų pieno baltymą apsprendžiančio α_{s1} kazeino geno įtaka pieno kiekiui ir pieno sudėtinėms dalims nustatyta mažiausia. Didelę dalį pieno produkcijos požymių įvairavimo paaiškina ir negenetiniai faktoriai, pavyzdžiui, ūkis. Statistiškai patikima ūkio įtaka įvairavo nuo 22,6% ($p < 0,001$) pieno riebalams iki 9,5% ($p < 0,001$) pieno baltymams. Laktacijos įtaka įvairavo nuo 8,5% ($p < 0,001$) pienui kilogramams iki 0,5% riebalams (2 lentelė).

2 lentelė. Lietuvos pieninių galvijų veislių pieno baltymų genų polimorfizmo įtaka pieno kiekiui ir sudėčiai (n=394)

Genetiniai ir negenetiniai veiksniai	Klasių skaičius	Pienas, kg	Riebalai, %	Riebalai, kg	Baltymai, %	Baltymai, kg
Kapa kazeinas	5	2,5**	3,8%***	2,17 %***	5,9 %***	0,90 %***
Beta laktoglobulinas	4	1,6%*	2,5 %*	1,17 %**	3,7%	0,95 %
α_{s1} kazeinas	3	1,0%*	0,50 %*	0,60 %*	0,50%***	0,65 %***
Veislė	4	13,6 %*	5,3 %***	13,2 %**	7,7 %	10,3 %
Ūkis	80	15,8%***	22,6%***	19,3%***	9,5 %***	15,7%***
Laktacija	8	8,5 %***	0,5 %	6,8 %	3,3 %***	10,4 %***
Regresija su pieno kiekiu	c	-	0,01 %	45,0 %***	0,04 %	52,2 %***

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

Analizuojant α_{s1} kapa kazeinų haplotipų (šis kazeinų lokusų derinys yra paveldimas kaip genetinis vienetas) įtaką, didžiausia statistiškai patikima nustatyta

pieno baltymų procentui (2,2%; $p < 0,001$), mažiausia – riebalų kilogramams (0,4%; $p < 0,001$) (3 lentelė).

3 lentelė. α_{s1} kapa kazeinų haplotipų, veislės, ūkio ir laktacijos įtaka pieno kiekiui ir sudėčiai Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje (n=394)

Genetiniai ir negenetiniai veiksniai	Klasių skaičius	Pienas, kg	Riebalai, %	Riebalai, kg	Baltymai, %	Baltymai, kg
α_{s1} kapa kazeinų haplotipas	5	0,7%	1,1%***	0,4%***	2,2%***	0,7 %***
Veislė	4	12,0%*	9,0%**	17,9%**	10,8%*	12,7%***
Ūkis	80	28,4%***	25,4%***	30,8%***	20,0%***	24,6%***
Laktacija	8	6,9%***	0,53%***	5,7%**	3,2%***	8,5%***
Regresija su pieno kiekiu	c	-	0,10%*	50,7%***	0,14%**	54,2%***

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$

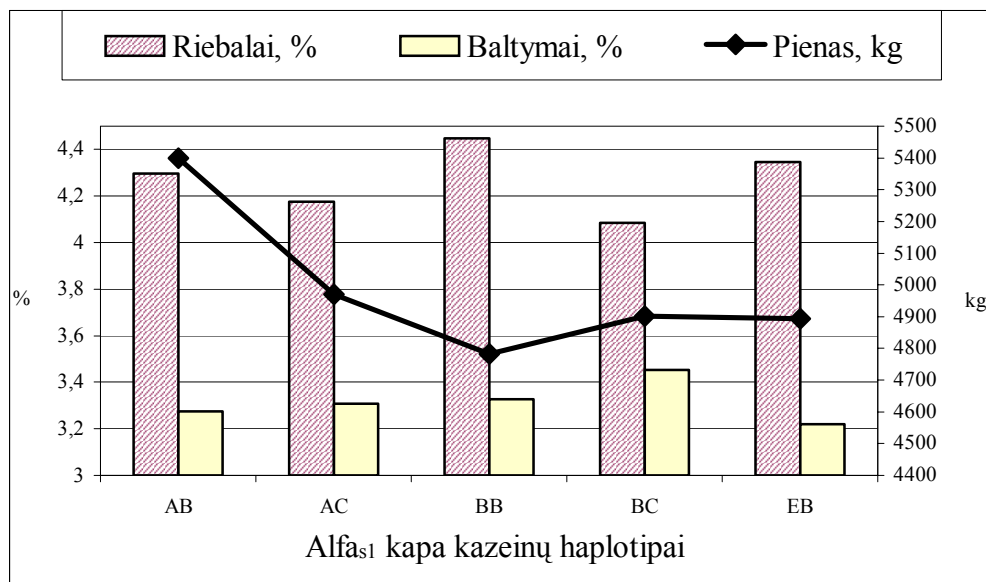
Analizuojant α_{s1} kapa kazeinų haplotipus, BC haplotipas labiausiai veikė vidutinį pieno baltymų procentą, o AB haplotipas darė įtaką vidutiniams pieno kiekiui kilogramais (paveikslas).

Aptarimas ir išvados. Mūsų tyrimų rezultatai glaudžiai susiję su kitose studijose gautais duomenimis, t. y. kapa kazeino BB genotipas statistiškai patikimai sąlygojo didesnį baltymų kiekį piene (Ng-Kwai-Hang et al., 1990; Threadgill, Womack, 1990; Bovenhuis and Van Harendonk, 1992; Welch et al., 1997). Daugumos literatūros duomenimis, kapa kazeiną apsprendžiantis

genas labiausiai veikė pieno baltymų procentą (Schaar et al., 1985; Lin et al., 1986; Bonvillani et al., 2000; van Eenennaam, Medrano, 1991). Didėjant baltymų kiekiui atitinkamai daugėja kazeinų frakcijų. Tai gali būti ekonomiškai svarbu sūrių gamintojams, kadangi sūrių išėiga yra tiesiogiai susijusi su kazeinų frakcijomis piene. Pieno baltymų kiekis yra glaudžiai susijęs su pieno baltymą kapa kazeiną apsprendžiančiu genu (Ng-Kwai-Hang, Grosclaude, 1992). Baltymų išėiga kilogramais daugelyje studijų yra didesnė piene turinčiame kapa kazeino BB genotipą, bet tai nėra pastovus efektas. Be to,

tyrėjas M. Ron yra nustatęs genų, susijusių su kazeinų kompleksu ir beta laktoglobuliniu, įtaką riebalų procentui (Ron et al., 1994). Anot R. Aleandri ir grupės mokslininkų (1990), beta laktoglobulino BB genotipas darė 12% didesnę įtaką pieno riebalų procentui negu AA. Beta laktoglobulino įtaka pieno riebalų procentui ir kapa kazeino įtaka pieno baltymų procentui yra patvirtinta

daugeliu studijų (Ng-Kwai-Hang et al., 1990; Ng-Kwai-Hang et al., 1984; van Eenennaam, Medrano, 1991). Pienas, turintis išrūgų baltymo beta laktoglobulino lokuso BB genotipą, turi daugiau kazeino ir riebalų negu pienas, turintis AA genotipą (NG-Kwai-Hang et al., 1987; Erhardt et al., 1997; Fries, Ruvinsky, 1999; Bonvillani A.G., 2000).



Paveikslas. Pieno kiekio kg, riebalų % ir baltymų % vidurkio palyginimas pagal pieno baltymų haplotipus Lietuvos pieninių galvijų populiacijoje

Remiantis literatūros duomenimis (Aleandri et al., 1990; Ikonen et al., 2000; Lien et al., 1995) ir mūsų studijų rezultatais nustatyta, kad alfa_{S1} kapa kazeinų BC haplotipas darė įtaką pieno baltymų procentui. Tuo tarpu alfa_{S1} kapa kazeinų BB haplotipas labiau veikė vidutinį pieno riebalų procentą. Literatūra nurodo, kad BB haplotipas didina pagrindinio baltymo kazeino bei riebalų kiekį piene (Braunschweig et al., 2000).

Pieno baltymus apsprendžiančių genų identifikavimas gali būti ekonomiškai svarbus kriterijus sudarant pienines bandas, o galvijų selekcijos programose pieno baltymų lokusai gali būti ateiityje naudojami kaip papildomi selekcijos kriterijai ir informatyvūs molekuliniai žymekliai pagal pieno išėigą, sudėtį ir technologines savybes. Todėl, išaiškinus genetinius veiksnius, kurie daro įtaką pieno kiekiui, pieno kokybinei sudėčiai bei technologinėms savybėms, galima gaminti pieno produktus, pasižyminčius didesne išėiga ir geresne kokybe.

Literatūra

- Aleandri R., Buttazzoni L. G., Schneider J. C., Caroli A., Davoli R.: The effects of milk protein polymorphism on milk components and cheese – producing ability. *Dairy Sci.* 1990. Vol. 73. P. 241.
- Arave C. W., Lamb R. C., Hines H. C. Blood and milk protein polymorphisms in relation to feed efficiency and production traits of dairy cattle. 1971. *Dairy Science.* Vol. 54. P.106.
- Bovenhuis H. and Van Harendonk J.A.M. Estimation of milk protein gene frequencies in crossbred cattle by maximum likelihood. 1992. *Journal of Dairy Science.* Vol. 74. P. 2728–2736.
- Bonvillani A. G., Di Renzo M. A., Tiranti I. N. Genetic polymorphism of milk protein loci in Argentinian Holstein cattle. 2000. *Genet. Mol. Biol. Sao Paulo* Vol. 4. P. 23.
- Braunschweig M., Hagger C., Stranzinger G., Puhan Z. Associations between casein haplotypes and milk production traits of Swiss Brown cattle. *Dairy Sci.* 2000. Vol. 83. P. 1387–1395.
- Brum E. W., Rausch W. H., Hines H., Ludwick T. M. Association Between traits of Holstein cattle. 1968. *Dairy Science.* Vol. 51. P. 1031.
- Comberg G., Meyer H., Growing M. Correlations between beta-lactoglobulin types in cattle and age at first calving, milk yield and fat contents. 1964. *Zuechtungskunde* Vol. 36 P. 248.
- Ikonen T., Possibilities of genetic improvement of milk coagulation properties of dairy cows. 2000. Helsinki. P. 12–24.
- Erhardt G., Godovac-Zimmermann J., Juszcak J., Prinzenberg E-M., Krick-Saleck H., Panicke L. Milk protein polymorphism in Polish and German Red Cattle and the characterization of a new genetic Beta-lactoglobulin variant. *Proceeding of the 48th EAAP Meeting, 25th - 28th August 1997.* Vienna, Austria: P.1–7.
- Fries R., Ruvinsky A. The Genetics of Cattle. 1999. USA. P. 15–33.
- Ferretti L., Sgaramella V. Long range restriction analysis of the bovine casein genes. 1990. *Nucleic Acids Research.* Vol. 18. P. 6829–6833.
- Grosclaude F., Joudrier P., Mahé M. F. Polymorphisme de la caséine Alfa_{S2} bovine: étroite liason du locus Alfa_{S2}-Cn avec les loci Alfa_{S1}-Cn, Beta-Cn et Kappa-Cn; mise en evidence d'une délétion dans le variant Alfa_{S2}-Cn D. 1978. *Annales de Génétique et de Sélection Animale.* Vol. 10. P. 313–327.
- Gonyon D. S., Mather R. E., Hines H. C., Haenlein G. F. W., Arave C. W., Gaunt S. N. Association of bovine blood and milk polymorphisms with lactation traits: Holsteins. 1987. *Dairy Science.* Vol. 70. N. 2585.
- Gentlemen R., Ihaka R. Notes on R: A programming environment for data analysis and graphics. 1997. Department of statistics university of Auckland.
- Lien S., Gomez-Raya L., Steine T., Fimland E. and Rogne S. Associations between casein haplotypes and milk yield traits. *Dairy Sci.* 1995. Vol. 78. P. 2047–2056.
- Lin C. Y., McAllister A. J., Ng-Kwai-Hang and Hayes J. F. Effects of milk protein loci on first lactation production in dairy cattle. 1986. *Dairy Science.* Vol. 69. P. 704.

17. Haenlein G. F. W., Gonyon D. S., Mather R. E., Hines H. C. Associations of bovine blood and milk polymorphisms with lactation traits: Guernseys. 1987. Dairy Science. Vol. 70 P. 2599.
18. Ng-Kwai-Hang K. F., Hayes J. F., Moxley J. E., Monardes H. G. Association of genetic variants of casein and milk serum proteins with milk, fat and protein production by dairy cattle. 1984. Dairy Science. Vol. 67. P. 835.
19. Ng-Kwai-Hang K. F., Hayes J. F., Moxley J. E. and Monardes H. G. Variation in milk protein concentrations associated with genetic polymorphism and environmental factors. 1987. Dairy Science. Vol. 70. P. 563–570.
20. Ng-Kwai-Hang K. F., Monardes H. G., Hayes J.F. Association between genetic polymorphism of milk proteins and production traits during three lactations. 1990. Dairy Science . Vol. 73. P. 3414–3420.
21. Ng-Kwai-Hang K. F., Grosclaude F. Genetic polymorphism of milk proteins. 1992. Advanced Dairy Chemistry. Vol. 1. P. 405–455.
22. Miller S. A., Dykes D., Polecky H. E.: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988. Vol. 16. P. 3.
23. Ron M., Yoffe O., Ezra E., Medrano J. F., Weller J. L. Determination of effects of milk protein genotype on production traits of Israeli Holsteins. 1994. Dairy Science. Vol. 77. P.1106–1113.
24. Van Eenennaam A., Medrano J. F. Milk protein polymorphisms in California Dairy Cattle. 1991. Dairy Science. Vol. 5. P. 74.
25. Welch R. A. S., Burns D. J. W., Davis S. R., Popay A. I., Prosser C. G. Milk composition, production and biotechnology. 1997. New Zealand. P. 98–114.
26. Schaar J., Hansson B., Pettersson H. Effects of genetic variants of Kappa – casein and Beta – lactoglobulin on cheesemaking. 1985. Dairy Res. Vol. 52. P. 429.
27. Sakai R. K., Gelfand D. H., Stoffel S., Scharf S. J., Higuchi R., Horn G. T., Mullis K. B., Erlich H. A.: Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Anim. Sci. 1988. Vol. 239. P. 487–491.
28. Threadgill D. W., Womack J. E. Genome analysis of the major bovine milk protein genes. 1990. Nucleic Acid Res. Vol. 18. P. 6935.