

ÜLEVAADE EESTI VEISTE PIIMA LAAPUMISOMADUSTEST JA SEDA MÕJUTAVATEST TEGURITEST

I. Jõudu*, M. Henno, S. Värvi, H. Viinalass, T. Püssa, T. Kaart, O. Kärt

*Eesti Maaülikool, Veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituut
Kreutzwaldi 62, Tartu 51014, e-post: ivi.joudu@emu.ee*

ABSTRACT. *Milk rennet coagulation properties in Estonian dairy cattle and factors affecting it. A review.* This article summarises Ivi Jõudu's PhD thesis: *Effect of milk protein composition and genetic polymorphism on milk rennet coagulation properties. Milk rennet coagulation parameters were detected during the years 2001–2005 totally from 8,282 milk samples, collected simultaneously with milk recording from 1,269 cows represented all dairy breeds in Estonia (58.4% EHF, 29.5% ER and 9.9% EN). Percentages of noncoagulated and poorly coagulated ($E_{30} < 20$ mm) milks were 3.6%, and 16%, respectively. Milk rennet coagulation properties were influenced by stage of lactation, breed, milk composition, and milk protein genotypes. Milk coagulation properties were at their best at the beginning of lactation, deteriorated quickly during the first three months of lactation, were worst during midlactation, and subsequently improved during the second part of lactation. All measured rennet coagulation parameters were significantly better for the κ -Cn BB, and worse for the κ -Cn AA, AE, and EE genotypes. Cows of the Estonian Native and Estonian Red breeds, giving milk with better coagulation properties, had higher frequencies of the κ -Cn B allele. The frequency of the κ -Cn B allele, associated with better coagulation properties, has considerably decreased in Estonian Holstein cows. Higher contents of milk protein, casein and all the studied protein fractions (α_{S1} , α_{S2} , β -, κ -Cn and β -Lg), and the casein number reduced the rennet coagulation time and formed a firmer curd.*

Keywords: *milk rennet coagulation properties, non-coagulated milk, milk protein content, genotypes of milk proteins, Estonian dairy cattle breeds*

Sissejuhatus

Piimal, millest valmistatakse juustu, peavad lisaks muudele kvaliteedinäitajatele olema head laapumisomadused (lühike laapumisaeg ja tugev kalgend), sest halvasti kalgendumast piimast ei lähe osa kaseiini juustu koostisse, vaid jääb kaona vadakusse, põhjustades juustutööstustele suurt majanduslikku kahju, kuna juustu väljatulek väheneb ning kvaliteet halveneb (Ng-Kwai-Hang *et al.*, 1989; Riddell-Lawrence, Hicks, 1989; Lucey, Kelly, 1994; Johnson *et al.*, 2001). Paljudes arenenud veisekasvatusega riikides on leitud, et intensiivse aretustöö tulemusena on piimatoodang suurenenud, kuid piima laapumisomadused halvenenud. Samuti on suurenenud nende lehmade osakaal, kes võivad vähemalt

korra laktatsiooni jooksul anda mittelaapuvat piima (Malossini *et al.*, 1996; Tyriseva *et al.*, 2003). Eestis läbiviidud varasemad (2000–2002) uuringud näitavad, et 8–9% piimaproovidest ei kalgendu üldse ning täiendavalt 17–20% kalgendumadalt (Kübarsepp *et al.*, 2003). Mõnes karjas võib vähemalt kord laktatsioonil mittelaapunud piimaproovi andvate lehmade osakaal küündida meie andmetel kuni 39%ni. Antud uurimistöö moodustab ühe osa suuremast uurimusest, mille käigus selgitatakse näitajad, mille alusel on võimalik välja töötada võtted juustutootmiseks sobiliku piima saamiseks, ning suurendada selle abil piimatööstuse konkurentsivõimet. Käesolev artikkel annab ülevaate Ivi Jõudu doktoriväitekirjast (Jõudu, 2008), mille koostamise käigus selgitati erinevate tegurite mõju piima laapumisnäitajatele (Kübarsepp *et al.*, 2005; Kübarsepp *et al.*, 2006; Jõudu *et al.*, 2007; Jõudu *et al.*, 2008), leiti κ -kaseiini ja β -laktoglobuliini geneetiliste variantide esinemissagedus Eestis kasvatatavatel piimaveise tõugudel ning uuriti nende variantide mõju piima laapumisnäitajatele (Kübarsepp *et al.*, 2005; Kübarsepp *et al.*, 2006). Kuna nelja kaseiini geenid on aheldatud, siis uuriti eesti maatõu baasil piimavalkude geneetilist variatsioonide ja kaseiini agregaatgenotüüpide mõju piima laapumisnäitajatele (Jõudu *et al.*, 2007). Võrreldi eesti piimaveisetõugude piima valgulist koostist ning selgitati selle mõju piima laapumisnäitajatele (Jõudu *et al.*, 2008).

Võtmesõnad: Piima laapumisomadused, mittelaapuv piim, piima valgusisaldus, piimavalkude genotüübid, Eesti piimaveisetõud

Metoodika

Proovide kogumine. Piimaproove koguti 13 farmist (Tabel 1). Põlula katsefarmis olid esindatud kõik Eestis kasvatatavad piimaveise tõud ning nende söötmissüsteemid olid samad (Ots, 2006). Piimaproove koguti farmidest samaaegselt ja samal viisil piimajõudluse proovidega. Põlula katsefarmis oli proovide võtmise sageduseks 2 korda kuus ning teistest farmidest võeti proove üle ühe kuu. Kokku koguti piimaproove 1,269 lehmalt, kelledest 741 (58.4%) olid eesti holsteini (EHF) tõugu, 378 (29.8%) eesti punast (ER) tõugu, 126 (9.9%) eesti maakarja (EN) lehmad ja 24 (1.9%) punasekirjud holsteinid (RHF). κ -kaseiini ja β -laktoglobuliini genotüüpide määramiseks koguti loomadelt vereproovid, mis stabiliseeriti K_3 EDTA-ga.

Tabel 1. Proovide kogumine ja määratud näitajad
Table 1. Basic information of sampling and analysis

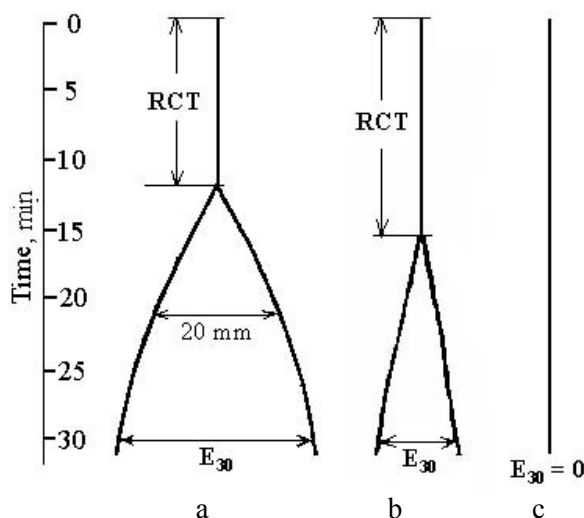
Farm ja ajavahemik <i>Farm and sampling period</i>	Proovide ja loomade arvud <i>Number of milk samples and cows</i>	Määratud näitajad <i>Analysis</i>
Põlula katsefarm <i>Põlula Research Farm</i>	2,758 piimaproovi / <i>milk samples</i>	pH, laapumise ja piimajõudluse näitajad / <i>pH, rennet coagulation and milk recording parameters</i>
Jaan. 2001 – Mai 2005 <i>Jan. 2001 – May, 2005</i>	220 lehma / <i>cows</i>	519 proovist / <i>samples</i> – α_{S1} -Cn, α_{S2} -Cn, β -Cn, κ -Cn, β -Lg sisaldused määrati kromatograafiliselt / <i>contents were analysed chromatographically</i> 1,911 proovist / <i>samples</i> – Ca sisaldus / <i>content</i> 509 proovist / <i>samples</i> – P sisaldus / <i>content</i> 780 proovist / <i>samples</i> – Cn sisaldus / <i>content</i>
6 aretusorganisatsioonide poolt soovitatud farmi <i>6 farms, recommended by breeding organisations</i>	5,189 piimaproovi / <i>milk samples</i>	pH, laapumise ja piimajõudluse näitajad / <i>pH, rennet coagulation and milk recording parameters</i>
Apr. 2003 – Mai 2004 <i>Apr. 2003 – May, 2004</i>	930 lehma / <i>cows</i>	κ -Cn, β -Lg genotüübid / <i>genotypes</i>
6 Eesti Maakarja farmi <i>6 farms, raise EN breed</i>	335 piimaproovi / <i>milk samples</i>	pH, laapumise ja piimajõudluse näitajad / <i>pH, rennet coagulation and milk recording parameters</i>
Veeb. 2004 – Sept. 2004 <i>Feb. 2004 – Sept. 2004</i>	112 lehma / <i>cows</i>	α_{S1} -Cn, β -Cn, κ -Cn, β -Lg genotüübid / <i>genotypes</i>

Laboratoorsed analüüsid. Piima pH määrati 20°C juures pH-meetriga (MP 220; Mettler Toledo GmbH, Greifensee, Switzerland) vahetult enne laapumisomaduste määramist. Piima kaltsiumi- ja fosforisisaldus määrati IDF standardmeetodidate 36A:1992, 42B:1990 järgi.

Piima laapumisomadused määrati 37°C juures kasutades Formograafi (Foss Electric, Hillerød, Denmark). Analüüsiks kasutati 10 ml piima, millele lisati 0.2 ml laapensüümi (Milase MRS 750 IMCU/ml; CSK Food Enrichment B.V., Netherlands) vesilahust (1:100 v/v). Saadud diagrammidelt registreeriti järgmised laapumist iseloomustavad parameetrid (Joonis 1): piima laapumise aeg (RCT – aeg minutites laapensüümi lisamisest kuni kalgendi moodustumise alguseni) ja kalgendi tugevus (E_{30} – diagrammi laius millimeetrites 30 minutit peale laapensüümi lisamist. Kui diagrammi laius jäi alla 20 mm, siis sellised piimad klassifitseeriti halvasti laapuvateks piimadeks (NK₂₀; Joonis 1b). Juustu tootmisel, jääks selliste piimade korral kalgendi tugevus liiga nõrgaks, et seda saaks hästi lõigata, ning kaod oleksid suured, st juustu väljatulek jääks väikeseks. Piimad, mis ei moodustunud kalgendit klassifitseeriti mittelaapunud piimadeks (NCM; Joonis 1c) ja neil oli võimalik registreerida vaid kalgendi tugevus ($E_{30} = 0$ mm).

κ -kaseiini (κ -Cn) ja β -laktoglobuliini (β -Lg) geneetilised variandid määrati restriksioonianalüüsiga (Velmalala *et al.*, 1993) EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi geneetikalaboris. Eesti maakarja lehmade α_{S1} -, β - ja κ -Cn ning β -Lg genotüübid määrati

elektroforeesi meetodil (Baranyi *et al.*, 1993) Müncheneri Tehnikaülikoolis.



Joonis 1. Piima laapumisdiagrammid (a – laapuv piim, b – halvasti laapuv piim (NK₂₀) ja c – mittelaapuv piim (NCM)) ja neilt mõõdetud laapumisparameetrid (RCT – piima laapumisaeg ja E_{30} – kalgendi tugevus)

Figure 1. Diagrams (a – normally coagulated milk, b – poorly coagulated milk (NK₂₀) and c – noncoagulated milk (NCM)) produced by a Formagraph, and the milk rennet coagulation parameters (RCT – rennet coagulation time and E_{30} – curd firmness) measured from the diagrams.

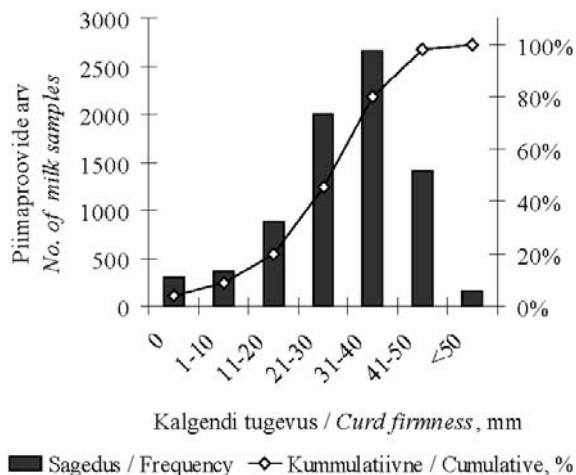
Piima peamised valgud: α_{S1} -, α_{S2} -, β - ja κ -Cn ning β -Lg, eraldati ja nende sisaldused määrati vedelikgromatograafiliselt (Jõudu *et al.*, 2008).

Andmete statistiline analüüs. Andmete analüüsil kasutati Eesti Jõudluskontrolli Keskuse andmeid loomade põlvnemise kohta ja piimajõudluse käigus määratud piima koostise näitajaid. Andmete analüüsiks on kasutatud erinevaid üldiseid lineaarseid mudeleid (Kübarsepp *et al.*, 2005, 2006; Jõudu *et al.*, 2007, 2008).

Tulemused

Fenotüübiline variatsioon. Piima laapumisnäitajad varieeruvad suures ulatuses. Nende näitajate variatsioonikoefitsendid olid üle 40%, samas piima peamiste koostisainete variatsioonikoefitsendid jäid alla 20% (Tabel 2). Keskmiselt hakkas piim laapuma 7.9 minutit peale laapensüümi lisamist ja moodustas 30 minuti jooksul kalgendi tugevusega 30 mm. Uuritud piimaproovidest ($n=8.282$) ei moodustanud kalgendit 325 proovi (3.9%)

ning 16% piimaproovidest moodustus lõikamiseks nõrk kalgend ($E_{30} < 20$ mm; Joonis 2).



Joonis 2. Piimaproovide jaotus kalgendi tugevuse alusel.
Figure 2. Distribution of values for curd firmness.

Tabel 2. Piima näitajate statistilised karakteristikud
Table 2. Descriptive statistics of studied milk traits

Näitaja / Trait	Keskmine / Mean	SD*	Min	Max	CV*, %
Rasv / Fat, %	4.00	0.793	1.44	8.87	19.8
Valk / Protein, %	3.47	0.392	2.33	7.13	11.3
Laktoos / Lactose, %	3.85	0.209	3.89	5.56	4.3
Ca, %	0.119	0.0148	0.078	0.221	12.4
P, %	0.098	0.0111	0.063	0.130	11.3
log(SRA) [#]	2.096	0.6000	0.301	4.081	28.6
pH	6.77	0.088	6.36	7.12	1.3
RCT, min	7.9	3.26	1	31.6	41.1
E_{30} , mm	30	12.4	0	61	41.0

* SD – standardhälve / standard deviation, CV – variatsiooni koefitsient / coefficient of variation

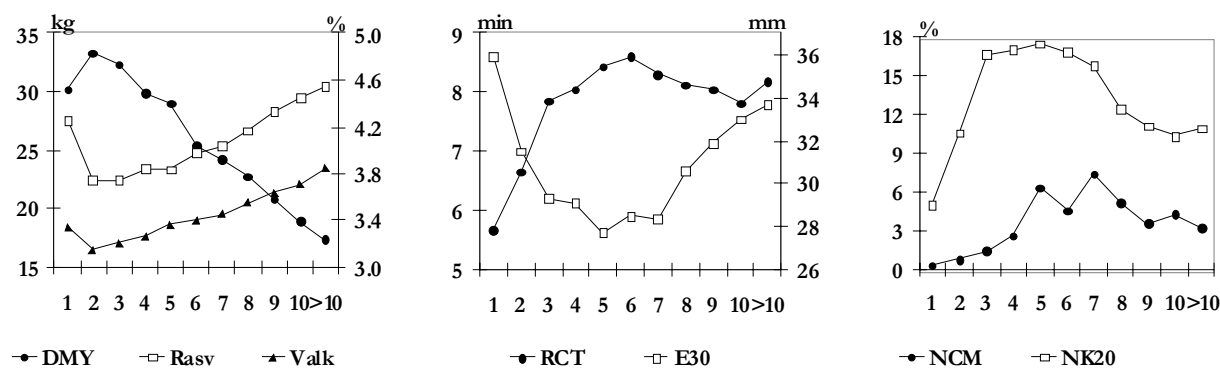
[#] SRA – somaariliste rakkude arv / somatic cell count

Laktatsioonijärgu ja peamiste piima koostisainete mõju. Laktatsiooni mõju piima laapumisomadustele ei olnud selgelt avaldunud. Eesti maakarja lehmade piima laapumisomadustele ei avaldanud laktatsioon mõju (Jõudu *et al.*, 2007). Teistel tõugudel oli laktatsioonil oluline mõju piima kalgendi tugevusele (Kübarsepp *et al.*, 2005). Enim mittelaapunud piimaproove esines esimesel laktatsioonil kui piima valgusisaldus oli madalaim. Kalgendi tugevus suurenes järgnevatel laktatsioonidel kui piima rasva ja valgusisaldused olid suuremad.

Olulist mõju avaldas piima laapumisnäitajatele laktatsioonikuu. Piima laapumisnäitajad olid paremad laktatsiooni alguses ja laktatsiooni teisel poolel (Joonis 3).

Laktatsiooni keskosas olid laapumisnäitajad halvemad ning sel perioodil oli mittelaapunud piimaproovide osakaal kõrgem. Piima rasva ja valgusisaldused vähenesid esimese kuu kahe jooksul ja hakkasid laktatsiooni keskel, kui laapumisomadused olid halvimal, tõusma.

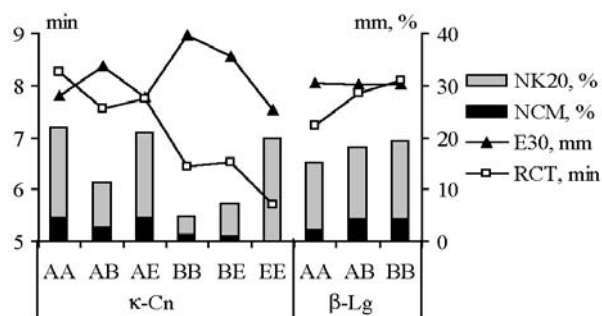
Piima laapumisnäitajaid mõjutasid piima peamiste koostisainete nagu rasva, valgu, laktoosi, kaltsiumi ja fosfori sisaldused ning piima pH. Piima laapumisaeg oli lühem ja moodustus tugevam kalgend kui piim sisaldas rohkem rasva, valku ja kaltsiumi ning kui piima pH oli madalam (Kübarsepp *et al.*, 2005; Jõudu *et al.*, 2008). Somaatiliste rakkude arvu mõju piima laapumisnäitajatele ei olnud statistiliselt oluline.



Joonis 3. Päevane piimatoodang (DMY), piima rasva ja valgusisaldused ning laapumisnäitajad erinevatel laktatsioonikuudel

Figure 3. Estimates of effect of lactation month on milk traits and percentages of noncoagulated (NCM; $E_{30} = 0$ mm) and poorly coagulated (NK₂₀; $0 < E_{30} < 20$ mm) milk samples within respective lactation month

Piimavalkude geneetilise polümorfismi mõju. Piima laapumisnäitajaid mõjutas statistiliselt oluliselt κ -kaseiini genotüüp (Kübarsepp *et al.*, 2005; Kübarsepp *et al.*, 2006). Piima paremad laapumisnäitajad kaasnesid κ -Cn BB ja halvemad AA, AE ja EE genotüüpidega (Joonis 4). κ -Cn BB genotüübiga lehmade hulgas oli ka madalaim mittelaapunud ja halvasti laapunud piimaproovide osakaal. Meie uuringud (Kübarsepp *et al.*, 2005; Kübarsepp *et al.*, 2006) on näidanud, et κ -Cn AB ja BB genotüüpidega kaasneb keskmisest kõrgem piima valgusisaldus. β -laktoglobuliini mõju piima laapumisnäitajatele ei olnud nii selgelt väljendunud. β -Lg AA genotüübiga kaasnes mõnevõrra lühem piima laapumisaega ja mittelaapunud piimaproovide väiksem osakaal (Joonis 4). Eesti maakarja lehmade hulgas oli β -Lg genotüübil oluline mõju kalgendi tugevusele. Võrreldes β -Lg BB genotüübiga oli AB genotüübiga lehmade piimast moodustunud kalgendi oluliselt nõrgem ja mittelaapunud piimade osakaal suurem. β -Lg AA genotüübiga maakarja lehmadel ei esinenud mittelaapunud piimaproove (Jõudu *et al.*, 2007).



Joonis 4. Piima laapumisnäitajad erinevate κ -kaseiini ja β -laktoglobuliini genotüüpide korral.

Figure 4. Milk coagulation parameters for different κ -casein and β -lactoglobulin genotypes.

Piima valkude, κ -Cn ja β -Lg, genotüübid määrati kokku 1,040 loomal, mis moodustas keskmiselt ~1% aastatel

2001–2005 Eesti Jõudluskontrolli Keskuse andmebaasis olnud lüpsilehmadest (keskmine piimaveiste arv oli neil aastatel 101,111). Sagedamini esines Eesti piimaveistel β -Lg AB ja BB genotüüpe (Tabel 3). Eesti holsteini tõugu lehmadel oli kõige sagedasem κ -Cn AA genotüüp, aga EN ja ER lehmadel esines enim κ -Cn AB genotüüpi. Põlula Katselauda lehmade hulgas ei leitud aastatel 2001–2002 κ -Cn E alleeli (Kübarsepp *et al.*, 2005), kuid kui loomade hulka andmebaasis suurendati, siis leiti seda alleeli nii EHF kui ka ER lehmadel. Eesti maakarja lehmadel κ -Cn E alleeli ei leitud.

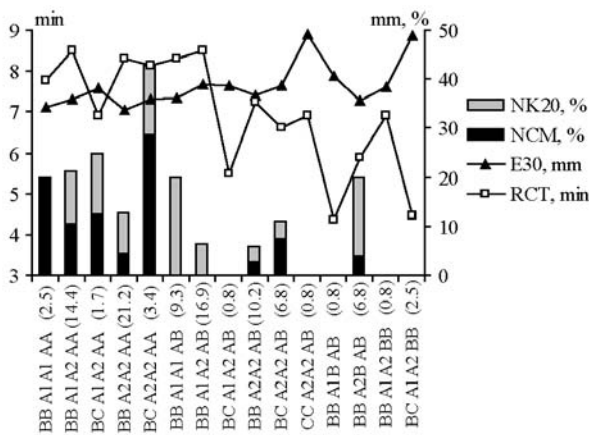
Tabel 3. Eesti piimaveiste κ -Cn ja β -Lg genotüüpide sagedused.

Table 3. Genotype frequencies of κ -Cn and β -Lg in Estonian dairy breeds.

Lookus/genotüüp <i>Locus/genotype</i>	EHF	ER	EN	Kõik <i>All</i>
κ-Cn				
AA	0.620	0.403	0.429	0.534
AB	0.215	0.422	0.529	0.313
AE	0.126	0.048		0.087
BB	0.022	0.105	0.042	0.050
BE	0.015	0.022		0.015
EE	0.002			0.001
β-Lg				
AA	0.203	0.044	0.101	0.141
AB	0.457	0.419	0.420	0.439
BB	0.340	0.537	0.479	0.420

Kuna piimavalgud on omavahel tugevas interaktsioonis ja kaseiinide sünteesi kodeerivad geenid paiknevad üksteisele väga lähedal ning on aheldatud uuriti Eesti maakarja baasil kaseiinide agregaatgenotüüpide mõju piima laapumisomadustele. Eesti maakarja lehmadel leiti kokku 16 α_{S1} - β - κ -Cn agregaatgenotüüpi, milledest 11 esinemissagedus oli suurem kui 1% ning neli neist: BB A²A² AA (21.2%), BB A¹A² AB (16.9%),

BB A¹A² AA (14.4%) and BB A²A² AB (10.2%) esines kahel kolmandikul loomadest. α_{S1} - β - κ -Cn agregaatgenotüüp avaldas statistiliselt olulist ($P < 0.05$) mõju Eesti maakarja lehmade piima laapumisnäitajatele. Teistest oluliselt paremad piima laapumisnäitajad kaasnesid CC A²A² AB ja BC A¹A² BB genotüüpidega (Joonis 5), kuid nende esinemissagedus oli madal (vastavalt 0.8 ja 2.5%). Sagedamini esinevate agregaatgenotüüpide hulgas seostusid paremad laapumisnäitajad BB A¹A² AB genotüübiga. Agregaatgenotüüpide hulgas, millel oli sama β - ja κ -Cn genotüüp, täheldati tendentsi, et võrreldes α_{S1} -BB genotüübiga seostusid piimadel lühem laapumisaeg ja moodustus tugevam kalgend α_{S1} -BC ja CC genotüübiga. Kui agregaatgenotüüp sisaldas α_{S1} -Cn BB ja κ -Cn AB oli piimadel pikem laapumisaeg kuid moodustus tugevam kalgend ja mittelaapunud piimaproove ei esinenud kui agregaatgenotüübis sisaldas β -Cn A¹A¹ või A¹A² võrreldes β -Cn A²B-ga. Eesti maakarja lehmadel pärines 78.9% mittelaapunud piimaproove lehmadel, kellel oli κ -Cn AA genotüüp. Kui agregaatgenotüübis oli κ -Cn AB, ei esinenud mittelaapunud piimaproove järgnevate α_{S1} - ja β -Cn kombinatsioonidega: BB A²A², BC A²A² ja BB A²B. Mittelaapunud piimaproove ei esinenud ka lehmadel, kellel oli κ -Cn BB, α_{S1} -Cn CC või β -Cn A¹B genotüüp, kuid α_{S1} -Cn CC ja β -Cn A¹B esines vaid ühel loomal.

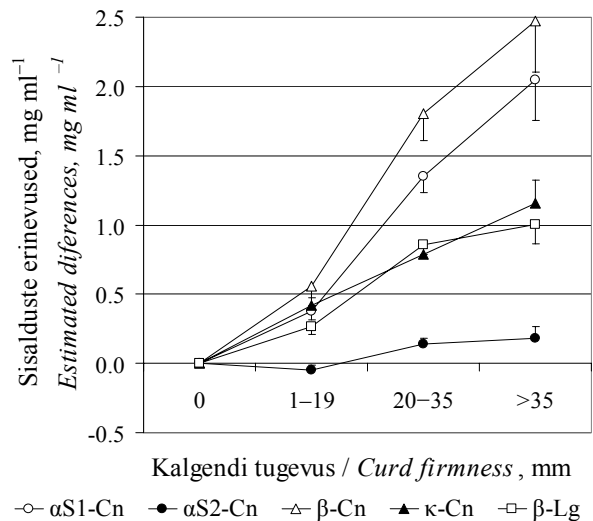


Joonis 5. Piima laapumisnäitajad erinevate α_{S1} - β - κ -kaseiini agregaatgenotüüpide korral (sulgudes on toodud vastava genotüübi esinemissagedus)

Figure 5. Milk coagulation parameters for different aggregate α_{S1} - β - κ -casein genotypes (frequency of genotype is given in brackets)

Piima valgulise koostise mõju. Uuriti üksikute piima-alkude (α_{S1} -Cn, α_{S2} -Cn, β -Cn, κ -Cn ja β -Lg) sisalduse, osakaalu kaseiinis ja omavaheliste suhete (kaseiin:valk, κ -Cn: β -Cn ja κ -Cn: α_{S1} -Cn) mõju piima laapumisnäitajatele. Piima laapumisnäitajaid mõjutasid oluliselt ($P < 0.01$) α_{S1} -Cn, β -Cn ja β -Lg sisaldused ning kaseiini osakaal kogu piimavalgust. κ -Cn sisaldus ja κ -Cn: β -Cn suhe mõjutas oluliselt ($P < 0.01$) kalgendi tugevust ja α_{S1} -Cn osakaal kaseiinis laapumise aega (Jõudu *et al.*, 2008). Piima laapumisaeg lühenes ja moodustus tugevam kalgend kui piim sisaldas rohkem valkusiid ning kaseiini osakaal kogu piimavalgust oli suurem. Kui

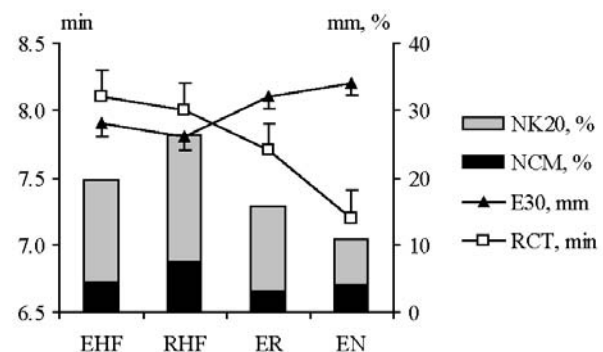
kaseiinis oli α_{S2} -Cn ja β -Cn osakaal väiksem või κ -Cn osakaal suurem moodustus tugevam kalgend. Kõikide uuritud piima valgufraktsioonide sisaldused olid mittelaapunud ($E_{30} = 0$ mm) ja halvasti laapunud ($E_{30} = 1-19$ mm) piimaproovides madalamad kui hästi laapunud ($E_{30} \geq 20$ mm) piimades (Joonis 6).



Joonis 6. Piima valkude sisalduste erinevused (standardvigadega (\perp) erineva kalgendi tugevuse korral (mittelaapunud ($E_{30} = 0$ mm) piimadel võrdsustati valkude sisaldused 0-ga)

Figure 6. Estimated differences (with standard errors (\perp)) in milk protein contents for the curd firmness classes ($E_{30} = 0$ mm was class of comparison)

Tõu mõju. Tõug avaldas piima laapumisnäitajatele olulist mõju (Kübarsepp *et al.*, 2005; Jõudu *et al.*, 2008). Võrreldes EHF ja RHF tõugu lehmadega olid paremad laapumisomadused EN ja ER lehmade piimal (Joonis 7). Holsteini tõugu lehmadel oli juustuvalmistamiseks ebasobivate piimade osakaal suurem kui eesti punast tõugu ja maakarja lehmadel. Oluliselt tugevam kalgend moodustus eesti maakarja lehmade piimast. Mittelaapunud piimaproove esines 52% RHF, 42% EHF, 32% ER ja 22% EN lehmadel.



Joonis 7. Piima laapumisnäitajad (standardvigadega (\perp) erinevatel tõugudel)

Figure 7. Milk coagulation parameters (with standard errors (\perp)) for different breeds

Arutelu

Piima koostise mõju. Laktatsiooni vältel varieerusid piima peamiste koostiskomponentide sisalduste kõrval ka piima laapumisomadused. Guinee (2003) refereerides mitmetele uurimustele tulemusi, leidis, et laktatsiooni käigus toimuvad muutused piima laapumisomadustes võivad olla põhjustatud piima koostises toimunud muutustega. Samas meie uurimuses ei ühtinud piima laapumisnäitajate ja koostiskomponentide sisalduste laktatsiooni trended (joonis 3). Piima rasva ja valgusisaldused olid madalaimad teisel laktatsioonikuul ja laktatsiooni keskel olid juba hakandu tõusma, samas kui piima laapumisnäitajad olid halvimal laktatsiooni keskel. Sarnaseid tulemusi laktatsiooni jooksul piima laapumisomadustes toimuvate muutuse osas on kirjeldanud ka Kreuzer *et al.* (1996), Ostensen *et al.* (1997) ja Ikonen *et al.* (1999, 2004). Samas Okigbo *et al.* (1985) ja Davoli *et al.* (1990) leidsid, et piima laapumisomadused halvenevad laktatsiooni lõpus ning Schaar (1984) and Lodes *et al.* (1996) ei täheldanud laktatsiooni jooksul olulisi erinevusi piima laapumisomadustes. Kreuzer *et al.* (1996) ja Ostensen *et al.* (1997) arvates võib üheks laktatsioonikuul erineva mõju põhjuseks olla erinevused söötmisses ja/või söötmistaseme arvestamata jätmises statistilistes analüüsid. Söötmissüsteemi olulist rolli on kinnitanud ka Lucey, Fox (1992), Macheboeuf *et al.* (1993) ja Ostensen *et al.* (1997), kes leidsid, et madal söötmistaseme põhjustab laktatsiooni lõpus laapumisomaduste halvenemise ja piimavalkude proteolüüsi suurenemise. Laktatsiooni lõpus võib piima laapumisomaduste halvenemise põhjustada plasmiooni aktiivsuse tõusust tingitud proteolüüs (Okigbo *et al.*, 1985; Bastian *et al.*, 1991; Ostensen *et al.*, 1997; Nicholas *et al.*, 2002). Plasmiooni toimel hüdrolyüsitakse β -kaseiin γ -kaseiinideks ja proteoosopeproonideks (Kelly, McSweeney, 2003). Piima γ -kaseiini sisaldus laktatsiooni lõpus on eriti kõrge madala söötmistasemega ja madala piimatoodanguga karjades (O'Keeffe *et al.*, 1982; O'Brien *et al.*, 1999). Ostensen *et al.* (1997) väitel tagab lehmade piisav söötmistaseme proteolüüsi madala taseme ja head piima laapumisomadused ka laktatsiooni lõpus. Ka meil, Põlula katsefarmis, kus loomi söödeti *ad libitum* tasakaalustatud segasöödaga, olid piima laapumisomadused head laktatsiooni lõpus (Kübarsepp *et al.*, 2003) ning β -kaseiini sisalduse vähenemist laktatsiooni lõpus ei täheldatud (andmeid ei ole esitatud).

Piima valgud, mis on juustu üheks peamiseks koostiskomponendiks ja võtavad otseselt osa ka laapumisprotsessist, mõjutavad oluliselt laapumisomadusi (Guinee, 2003). Meie uuringutes mõjutasid oluliselt piima laapumisnäitajaid kõik peamised piimavalgud v.a α_{S2} -Cn. Ka teised piima olulisemad koostiskomponendid korreleerusid piima laapumisnäitajatega ning vastavalt determinatsioonikordajatele on nende kontsentratsioonidega võimalik kirjeldada kuni 12% laapumisparameetrite variatsioonist (Tabel 4; Jõudu *et al.*, 2008). Vaid pH kirjeldab 19% laapumisaja variatsioonist ja piima kaltsiumisisaldus 18% kalgendi tugevuse variatsioonist. Samas aga kõik uuritud piimavalgud v.a α_{S2} -Cn kirjeldavad laapumisaja varieeruvusest kuni

17% ja kalgendi tugevuse varieeruvusest kuni 41%. Soomes läbiviidud uuringud (Ikonen *et al.*, 2004) näitasid aga, et fenotüübilised korrelatsioonid piima laapumisnäitajate ja valgu ning kaseiini sisalduste vahel olid madalad ($r < 0.1$). Sarnaselt meie uuringutega on ka Auldist *et al.* (2002) leidnud, et piima kaseiini ja sealhulgas κ -Cn sisalduse mõju piima laapumisnäitajatele on suurem kui üldvalgu sisaldusel. Ka Wedholm *et al.* (2006) on täheldanud, et madalam κ -Cn sisaldus piimas ja/või osakaal kaseiinis on seotud piima halvemate laapumisomadustega. Dalgleish (1992) põhjendab κ -Cn olulist mõju piima laapumisomadustele sellega, et kõrgema κ -Cn sisalduse korral moodustuvad väiksemad kaseiini mitsellid, mis omakorda soodustavad tugevama kalgendi moodustumist.

Tabel 4. Piima peamiste koostiskomponentide ja valgufraktsioonide sisalduste korrelatsioonid piima laapumisnäitajatega (RCT – piima laapumisaeg ja E_{30} – kalgendi tugevus)

Table 4. Correlation coefficients between milk rennet coagulation parameters (RCT – rennet coagulation time and E_{30} – curd firmness) and milk compositional characteristics.

Näitaja / Traits	RCT, min	E_{30} , mm
<i>Piima peamised koostisnäitajad / Major milk constituents</i>		
Rasv / Fat	-0.159***	0.271***
Valk / Protein	-0.180***	0.349***
Laktoos / Lactose	-0.175***	0.171***
Log(SRA)	0.016	0.028
pH	0.432***	-0.306***
Kaltsium / Calcium	-0.312***	0.425***
<i>Valguline koostis / Protein composition</i>		
Kaseiin / Casein	-0.384***	0.682***
Kaseiini valgu suhe / Casein number	-0.507***	0.467***
α_{S1} -Cn	-0.416***	0.638***
α_{S2} -Cn	-0.101*	0.274***
β -Cn	-0.370***	0.620***
κ -Cn	-0.209***	0.553***
β -Lg	-0.417***	0.598***

*** $P < 0.001$; * $P < 0.05$

Geneetiliste tegurite mõju. Meie uurimustulemustega sarnast kaseiini genotüüpide mõju on leidnud ka teised uurimisgrupid (Jakob, Puhane, 1992; Van den Berg *et al.*, 1992; Ikonen, Ojala, 1995; Lodes *et al.*, 1996; Ng-Kwai-Hang, 1998; Buchberger, Dovč 2000; Hallen *et al.*, 2007). Oma ülevaateartiklites on Jacob, Puhane (1992) ja Ng-Kwai-Hang (1998) järeldanud, et κ -Cn B alleeli positiivne mõju piima laapumisomadustele on kinnitust leidnud paljudes uurimustes. Võrreldes A alleeliga on κ -Cn B alleeliga piimadel laapumisaeg 10–40% lühem ja moodustunud kalgend 20–140% tugevam. κ -Cn B alleeli positiivne mõju võib olla tingitud selle variandiga seostuvast kõrgemast piima rasva, valgu ja eeskätt kaseiini sisaldusest (Ng-Kwai-Hang, 1998;

Ikonen et al., 1999a). Meie uuringud (Kübarsepp et al., 2005) näitasid, et κ -Cn AB ja BB genotüüpidega lehmade piim sisaldab keskmisest rohkem valku ja rasva, samuti oli nende lehmade piim kogu laktatsiooni jooksul keskmisest paremate laapumisomadustega ja seetõttu ka juustuvalmistamiseks sobivam (Kübarsepp et al., 2004). β -Lg genotüübi mõju piima laapumisomadustele ei olnud selgelt avaldunud. EN lehmade hulgas oli β -Lg genotüübil oluline mõju kalgendi tugevusele (Jõudu et al., 2007), kuid teiste tõugude hulgas oli mõju kas mitteoluline (Kübarsepp et al., 2006) või leiti oluline mõju vaid laapumisajale (Kübarsepp et al., 2005).

Tulenevalt nelja kaseiini geeni aheldatusest 6. kromosoomis 250kb pikkusel alal (Rijnkels, 2002), ei ole üksikute kaseiinide geneetiliste variantide segregatsioon üksteisest sõltumatu (Aleandri et al., 1990; Eenennaam, Medrano, 1991). Ikonen et al. (1999a) on arvanud, et see aheldatus võib olla põhjuseks, miks erinevate rühmade uurimustulemused üksikute kaseiini genotüüpide mõju osas on vastuolulised. Selleks et võtta arvesse kaseiinide aheldatust piimavalkude geneetilise polümorfismi mõju uurimisel soovitas ta kasutada kaseiini agregaatgenotüüpe. Uurides β - ja κ -Cn genotüüpide koosmõju piima laapumisomadustele leidsime, et nendel lehmadel, kellel on κ -Cn AA genotüüp ei erinenud piima laapumisnäitajad erinevate β -Cn genotüüpide korral. Kuid lehmadel kellel oli κ -Cn AB genotüüp, kaasnes β -Cn A¹A¹ genotüübiga lehmadel piima pikem laapumisaeg kui β -Cn A²A² või A²B genotüübiga ja moodustunud kalgend oli nõrgem kui lehmadel, kellel oli β -Cn A¹A² genotüüp (Jõudu et al., 2007).

α_{S1} -Cn genotüüpide mõju sageli ei hinnata, kuna enamusel piimaveise tõugudel on see lookus praktiliselt monomorfne (B alleeli esinemissagedus 95–99%) ja seetõttu oleks aretuslike võtete rakendamine selles lookuses alleelide esinemissageduse muutmise läbi piima laapumisomaduste parandamiseks raskendatud (Tervala et al., 1983; Ikonen et al., 1996; Lunden et al., 1997; Erhard et al., 1998; Lien et al., 1999). Ka κ - ja β -Cn lookustes on teatud variandid enamustel piimaveisetõugudel prevaalerivamad. Nii esinevad β -Cn A¹ ja A² ning κ -Cn A alleelid enamusel tõugudel suure sagedusega v.a lääne-soome, džörsi ja šviitsi tõud, kellel κ -Cn B on laialtlevinud (Tervala et al., 1983; Ikonen et al., 1996; Freyer et al., 1999). Eesti piimaveise tõugudel olid β -Lg A ja B alleelide sagedused sarnased naabermaade veisepopulatsioonidega (Bech and Kristiansen, 1990; Velmala et al., 1993; Ikonen et al., 1996; Lunden et al., 1997). Eesti holsteini tõugu lehmadel oli enim levinud κ -Cn AA genotüüp ja EN ja ER tõugude hulgas AB genotüüp. Paremate piima laapumisomadustega seostuvad κ -Cn BB ja AB genotüübid esinesid enamasti koos β -Lg BB ja laapumise seisukohast ebasoodsad κ -Cn AE ja EE genotüübid koos β -Lg AB genotüübiga (Kübarsepp et al., 2006). Uurides EN lehmade hulgas α_{S1} - β - κ -Cn agregaatgenotüüpide mõju piima laapumisomadustele, leidsime kokku 16 erinevat agregaatgenotüüpi, milledest 4 esines kahel kolmandikul loomadel (Jõudu et al., 2007). Samad genotüübid on sagedased ka rootsi punasel ja rootsi holsteini tõugu lehmadel (Lunden et al., 1997). Meie tulemused kaseiini

sageduste osas kinnitavad eesti maakarja ja lääne soome tõugude geneetilist sugulust, mida on esile toonud ka hiljutised DNA mikrosatelliitide uuringud (Tapio et al., 2006). Samas esinesid eesti maakarja ja lääne soome tõul erinevused β -Lg variantide esinemissagedustes. See võib olla aga põhjustatud džörsi tõugu pullide ja/või väiksemal hulgal holsteini ja/või punaste tõugude kasutamisest eesti maakarja aretuses. Kuigi EN kuulub samasse geneetilisse rühma teiste vanade põlistõugudega, näitasid piimavalkude agregaatgenotüüpide sagedused sarnast levikut kui on üldlevinud piimaveise tõugudel. Võrreldes piimavalkude alleelide sagedusi Eestis kasvatatavatel piimaveise tõugudel, leidsime, et heade laapumisomadustega seostuva κ -Cn B alleeli sagedus on ER ja EN oluliselt suurem kui EHF. Halbade laapumisnäitajatega seostuvat E alleeli leiti nii EHF kui ka ER kuid mitte EN lehmadel. Eestis läbiviidud varasemad uuringud (Toome, 1972; Orasson, 2000) näitavad, et κ -Cn B alleeli sagedus on EHF märgatavalt vähenenud, kuid ER läänud samale tasemele.

Tõugudevahelised erinevused piima laapumisnäitajate osas võivad olla põhjustatud erinevustest piima koostises, mis omakorda tulenevad erinevustest genoomis. Mitmed varasemad uuringud (Tervala et al., 1983; Macheboeuf et al., 1993; Auld et al., 2002) seostavad kohalike tõugude piima paremad laapumisomadused suurema κ -Cn B alleeli sagedusega nendel tõugudel. Selliseid tulemusi on näidanud ka meie uuringud, kus kõrgeima κ -Cn B alleeli sagedusega eesti maakarja lehmade piima laapumisnäitajad olid parimad sh mitte-laapunud ja halvasti laapunud piimaproovide osakaalud olid madalad (Kübarsepp et al., 2005; Jõudu et al., 2007).

Võimalused piima laapumisomaduste geneetiliseks parandamiseks

Seleksioon piima laapumisnäitajate alusel

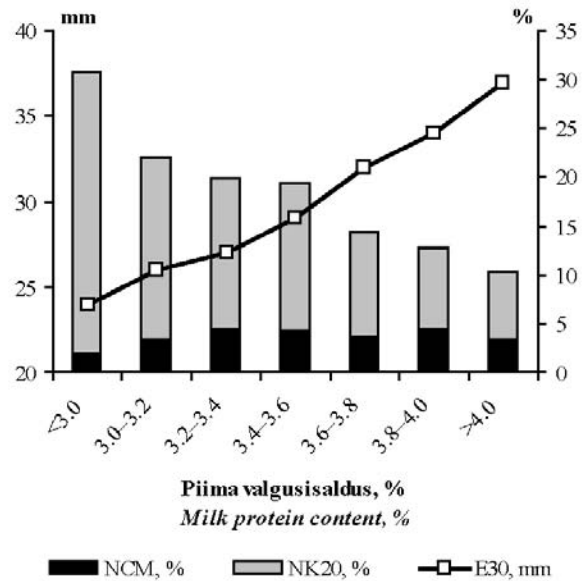
Piima laapumisomadusi on võimalik parandada valides järgmise põlvkonna täiendamiseks loomi otse antud tunnuse järgi. Selleks annab aluse piima laapumisnäitajate suur variatsioon (Tabel 2; Kübarsepp et al., 2005, 2006; Jõudu et al., 2007, 2008) ja see, et suur osa variatsioonist on geneetiline, mida näitasid OÜ Tervisliku Piima Biotehnoloogiate Arenduskeskuse raames läbiviidud uuringute käigus leitud piima laapumisaja ja kalgendi tugevuse kõrgeid päritavuskoeffitsendid (vastavalt 0.55 ja 0.73; Pärna et al., 2006). Ka Ikonen et al. (1999, 2004) ja Tyrisevä (2002) on leidnud piima laapumisnäitajatele kõrgeid päritavuskoeffitsente (E_{30} 0.31–0.40 ja RCT 0.22–0.36). Ikonen et al. (2004) andmetel on ka erinevate pullide tütarde hulgas mitte-laapunud piima andnud lehmade osakaalud erinevad (0–47%). Meie uuringutes (Kübarsepp et al., 2005) leiti, et 14.5% lehmadest andis laktatsiooni jooksul vähemalt ühel korral mittelaapuvat piima (mõnedes karjades küündis selliste loomade osakaal 39%-ni). OÜ Tervisliku Piima Biotehnoloogiate Arenduskeskuse uuringute esimesed tulemused näitavad erinevate EHF pullide tütarde laapumisnäitajates olulisi ($P < 0.0001$) erinevusi (Pärna et al., 2006). Selliste pullide sage kasutamine, kellede tütaridel on halvad piima laapumisnäitajad,

halvendab populatsiooni geneetilist potentsiaali piima laapumisomaduste osas. Samas häid piima laapumisomadusi edasipärandavate pullide olemasolu loob eeldused selektsiooni eduks ja selle tunnuse parandamiseks.

Selektsioon piima laapumisnäitajate alusel nõuab aga piima laapumisnäitajate täpset ja rutiinset määramist aretuseks kasutatavatel loomadel. Piima laapumisomadustele piisava usaldatavusega hinnangu andmiseks on Ikonen (2000) andmetel vaja vähemalt kolme mõõtmist laktatsiooni jooksul. Kõikidel jõudluskontrollis olevatel lehmadel (aastal 2007 oli Eesti Jõudluskontrolli Keskuse andmetel Eestis 104,100 lehma, kellest 90.9% oli jõudluskontrollis) piima laapumisnäitajate määramine oleks liiga aeganõudev (10 proovi analüüs kestab 45 minutit). Populatsiooni piima laapumisomaduste parandamiseks tuleb piima laapumisnäitajad määrata aretusloomadel: potentsiaalsetel pulliemadel ning noor- ja parandajapullide tütaridel, et välja selgitada piima laapumisomaduste parandajad ning leida vastavad aretusväärtused. Sellealast uurimistööd alustati OÜ Tervisliku Piima Biotehnoloogiaste Arenduskeskuses 2006.a.

Selektsioon piima laapumisomadustega seotud tunnuste alusel. Piima laapumisnäitajate parendamiseks saaks kasutada markerselektsiooni, mis kasutab seoseid piima laapumisomaduste, koostisainete sisalduse, ja piimavalkude geneetilise polümorfismi vahel. Piimavalkude geenivariantide alusel tehtaval valikul on võimalik genotüpiseerida ka isasloomi ja selekteerida soodsa mõjuga alleelikandidid. Paralleelselt piima laapumisomadustega soodsalt seotud alleelide esinemissageduse suurendamisega populatsioonis tuleb silmas pidada, et geenide ahelduse tõttu ei suureneks mõnele muule tunnusele ebasoodsa mõjuga alleelisagedused.

Mittelaapunud ja halvasti laapunud piimadel olid erinevate piimavalgufraktsioonide sisaldused oluliselt madalamad kui hästi laapunud piimadel (Joonis 6). Me leidsime, et nendel lehmadel, kellel leiti vähemalt korra laktatsiooni jooksul mittelaapunud piima ei olnud küll võrreldes ülejäänud loomadega olulist erinevust laktatsiooni keskmises piima valgusisalduses, kuid neil oli oluliselt ($P < 0.0001$) madalamad kaseiini ja κ -Cn sisaldused ning kaseiini ja valgu suhe oli madalam. Sarnaseid tulemusi on saanud ka Ikonen *et al.* (2004), kes järeldasid, et kui farmerid valivad loomi kõrgema piima valgusisalduse alusel, võidakse saavutada küll paremad piima laapumisnäitajad, kuid nende loomade osakaal, kes produtseerivad mittelaapuvat piima ei pruugi väheneda. Ka meie tulemused näitavad (Joonis 8), et piima valgusisalduse tõusule kaasneb kalgendi tugevnemine ja halvasti laapunud piimaproovide osakaalu vähenemine, kuid ei vähene mittelaapunud piimade osakaal. Ikonen *et al.* (2004) soovivad valikutunnusena eelistada pigem somaatiliste rakkude arvu (SRA) kui piima valgusisaldust, sest siis kaasneks laapumisomaduste paranemisele ka mittelaapunud piimade osakaalu vähenemine. Meil läbiviidud uuringud seda väidet ei toeta, sest SRA ei avaldanud olulist mõju piima laapumisnäitajatele, samuti ei leitud SRA ja laapumisklasside vahelisi erinevusi. Ka lehmadel, kellel esines piima mittelaapumist ei olnud teistest erinev piima somaatiliste rakkude arv.



Joonis 8. Piima valgusisalduse mõju piima laapumisnäitajatele

Figure 8. Effect of milk protein content on rennet coagulation properties.

Kokkuvõte

Nii piima laapumisomadused kui ka koostisainete sisaldused varieerusid suures ulatuses. Piima laapumisnäitajaid mõjutasid oluliselt laktatsioonijärk, tõug, piima koostis ja piimavalkude genotüübid. Piima laapumisomadused olid parimad laktatsiooni alguses ja halvimald laktatsiooni keskel. Laktatsiooni teisel poolel piima laapumisomadused paranesid. Piima laapumisaeg oli lühem ning moodustus tugevam kalgend, kui piim sisaldas rohkem valku, kaseiini, sh üksikuid peamisi piimavalkusid, ning kaseiini ja valgu suhe oli suurem. Tugevama kalgendi moodustamist soodustasid väiksem α_{s2} - ja β -kaseiini või suurem κ -kaseiini osakaal kogu kaseiinis ning suurem κ -kaseiini suhe α_{s1} - ja β -kaseiini.

Piima laapumisnäitajad olid paremad κ -kaseiini BB-genotüübiga lehmadel. Halvemad piima laapumisomadused kaasnesid κ -kaseiini AA-, AE- ja EE-genotüüpidega. Võrreldes varasemate (1972. a) Eestis läbiviidud uuringutega on piima paremate laapumisomadustega seostatava κ -kaseiini B-alleeli esinemissagedus eesti holsteini tõugu lehmadel märgatavalt vähenenud. Eesti maatõugu lehmadel ($n = 118$) leiti 16 kaseiinide (α_{s1} -, β -, κ -kaseiin) agregaatgenotüüpi, millest neli – BB A^2A^2 AA (21.2%), BB A^1A^2 AB (16.9%), BB A^1A^2 AA (14.4%) ja BB A^2A^2 AB (10.2%) – esines peaaegu kahel kolmandikul loomadel. Agregaatgenotüüp avaldas olulist mõju piima laapumisnäitajatele. Paremini laapumisele nende lehmade piim, kellel esines kaseiinide agregaatgenotüüp CC A^2A^2 AB või BC A^1A^2 BB. Võrreldes sagedamini esinevate agregaatgenotüüpidega lehma, ilmnes, et piima paremad laapumisomadused kaasnesid BB A^1A^2 AB-genotüübiga. Piimavalgu juustuks konverteerimist soodustavaid κ -kaseiini BB- ja α_{s1} -kaseiini BC- või CC-genotüüpe sisaldavaid agregaatgenotüüpe

leiti eesti maatõugu lehmadel harva. Enamik mitteleapunud piimaproove saadi lehmadel, kelle kaseiini agregaatgenotüüp sisaldas κ -kaseiini AA-genotüüpi. Eesti punast ja maatõugu lehmade piima paremad laapumisomadused võrreldes holsteini tõugu lehmadega on osaliselt põhjendatavad paremate laapumisomadustega seostuva κ -kaseiini B-alleeli suurema esinemisagedusega ning eesti punasel tõul ka suurema piimavalkude sisaldusega.

Selleks, et kasutada selle töö käigus saadud geneetilist informatsiooni aretusprogrammides, tuleks määrata piimavalkude genotüübid nii aretuspullidel kui ka potentsiaalsetel pulliemadel. See on vajalik, et suurendada paremate piima laapumisomadustega seostunud alleelide esinemisagedust, samas vältides ebasoodsate alleelide esinemisageduse suurenemist. Piima laapumisomadustega assotsieerivate koostisnäitajate (nagu näiteks piima valgu- või kaseiinisaldus) sobivus kasutamaks neid aretusprogrammides piima laapumisomaduste parandamiseks, vajab täiendavat uurimist. Sellealasteks uuringuteks annab hea eelduse OÜ Tervislike Piimatoodete Biotehnoloogiate Arenduskeskuse raames loodav andmebaas. Edasiste uuringutega tuleks välja selgitada ka piima mittelaapuvuse ja laktatsiooni keskel laapumisomaduste halvenemise põhjused.

Tänuavaldused

Käesolev töö on valminud EMÜ veterinaarmeditsiini ja loomakasvatuse instituudi söötmissakonna piima kvaliteedi uurimise laboris. Uurimistööd on finantseerinud Eesti Teadusfond (grandid nr 4823, 5001, 6158), Eesti Teadus- ja Haridusministeerium (sihtfinantseeritud teemad nr 0422102s02, 0422595s03), Eesti Põllumajandusministeerium (projektid “Eesti veisetõugude maksimaalse piimajõudluse väljaselgitamine”, “Toorpiima laapumisomaduste parandamine ja somaatiliste rakkude arvu vähendamine”) ja EPMÜ/EMÜ doktori-kool.

Kasutatud kirjandus / References

- Aleandri, R., Buttazzoni, L.G., Schneider, J.C., Caroli, A. Davoli, R. 1990. The effect of milk protein polymorphism on milk components and cheese-producing ability. *Journal of Dairy Science* 73, 241–255.
- Auldust, M., Mullins, C., O'Brien, B., O'Kennedy, B.T. Guinee, T. 2002. Effect of cow breed on milk coagulation properties. *Milchwissenschaft*, 57, 140–143.
- Baranyi, M., Bösze, Z.S., Buchberger, J. Krause, I. 1993. Genetic Polymorphism of Milk Proteins in Hungarian Spotted and Hungarian Grey Cattle: A Possible New Genetic Variant of β -Lactoglobulin. *Journal of Dairy Science*, 76, 630–636.
- Bastian, E.D., Brown, R.J., Erkstrom, C.A. 1991. Plasmin activity and milk coagulation. *Journal of Dairy Science*, 74, 3677–3685.
- Bech, A.-M. Kristiansen, K.R. 1990. Milk protein polymorphism in Danish dairy cattle and the influence of genetic variants on milk yield. *Journal of Dairy Research*, 57, 53–62.
- Buchberger, J. Dovč, P. 2000. Lactoprotein genetic variants in cattle and cheese making ability. *Food Technologie and Biotechnologie*, 38, 91–98.
- Dagleish, D.G. 1992. Bovine milk protein properties and the manufacturing quality of milk. *Livestock Production Science*, 35, 75–93.
- Davoli, R., Dall'Olio, S., Russo, V. 1990. Effect of κ -casein genotype on the coagulation properties of milk. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 107, 458–464.
- Eenennaam, A. Medrano, J.F. 1991. Milk protein polymorphisms in California dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 74, 1730–1742.
- Erhard, G., Juszcak, J., Panicke, L. Krick-Saleck, H. 1998. Genetic polymorphism of milk protein in Polish Red Cattle: a new genetic variant of β -lactoglobulin. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 115, 63–71.
- Freyer, G., Liu, Z., Erhard, G. Panicke, L. 1999. Casein polymorphism and relation between milk production traits. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 116, 87–97.
- Guinee, T.P. 2003. Role of protein in cheese and cheese products. In P.F. Fox and P.L.H. McSweeney (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry 1: Proteins, Part B*, 3rd ed. Kluwer Academic/Plenum Publisher, pp. 1083–1174.
- Hallén, E., Allmere, T., Näslund, J., Andrén, A., Lundén, A. 2007. Effect of genetic polymorphism of milk proteins on rheology of chymosin-induced milk gels. *International Dairy Journal*, 17, 791–799.
- IDF Standard 36A:1992 – Milk. – Determination of calcium content. – Titrimetric method.
- IDF Standard 42B:1990 – Milk. – Determination of total phosphorus content. – Spectrometric method.
- Ikonen, T. 2000. Possibilities of genetic improvement of milk coagulation properties of dairy cows. Academic dissertation, University of Helsinki, Department of Animal Science, Publications no. 49.
- Ikonen, T., Ahlfors, K., Kempe, R., Ojala, M., Ruottinen, O. 1999. Genetic parameters for the milk coagulation properties and prevalence of noncoagulating milk in Finnish dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 205–214.
- Ikonen, T., Morry, S., Tyrisevä, A.-M., Ruottinen, O., Ojala, M. 2004. Genetic and phenotypic correlations between milk coagulation properties, milk production traits, somatic cell count, casein content and pH of milk. *Journal of Dairy Science*, 87, 458–467.
- Ikonen, T., Ojala, M. 1995. Effect of milk protein genotypes on milk renneting properties assuming alternative models. *IDF Bulletin*, 304, 16–17.
- Ikonen, T., Ojala, M. Ruottinen, O. 1999a. Associations between milk protein polymorphism and first lactation milk production traits in Finnish Ayrshire cows. *Journal of Dairy Science*, 82, 1026–1033.

- Ikonen, T., Ruottinen, O., Erhardt, G. Ojala, M. 1996. Allele frequencies of the major milk proteins in the Finnish Ayrshire and detection of a new kappa-casein variant. *Animal Genetics*, 27, 179–81.
- Jakob, E. Puhon, Z. 1992. Technological properties of milk as influenced by genetic polymorphism of milk proteins. A review. *International Dairy Journal*, 2, 157–178.
- Johnson, M.E., Cen, C.M., Jaeggi, J.J. 2001. Effect of rennet coagulation time on composition, yield, and quality of reduced-fat Cheddar cheese. *Journal of Dairy Science*, 84, 1027–1033.
- Jõudu, I. 2008. Effect of milk protein composition and genetic polymorphism on milk rennet coagulation properties. PhD thesis. Estonian University of Life Sciences, 114 pp.
- Jõudu, I., Henno, M., Kaart, T., Püssa, T., Kärt, O. 2008. The effect of milk proteins contents on the rennet coagulation properties of milk from individual dairy cows. *International Dairy Journal*, 18(9), 967–970.
- Jõudu, I., Henno, M., Värvi, S., Kaart, T., Kalamees, K., Kärt, O. 2007. Milk protein genotypes and milk coagulation properties of Estonian Native cattle. *Agricultural and Food Science*, 16, 222–231.
- Kelly, A.L., McSweeney, P.L.H. 2003. Indigenous proteinases in milk. In P.F. Fox and P.L.H. McSweeney (Eds.), *Advanced Dairy Chemistry I: Proteins, Part A*, 3rd ed. Kluwer Academic/Plenum Publishers, pp. 495–522.
- Kreuzer, M., Schulz, J-P., Fry, C., Abel, H. 1996. Rennet coagulation properties of milk from cows at three stages of lactation supplied with graded levels of an antimicrobial feed supplement. *Milchwissenschaft*, 51, 243–247.
- Kübarssepp, I., Henno, M., Mihhejev, K., Kärt, O., Samarütel, J., Ling, K., Kaart, T. 2003. Piima laapumist mõjutavad tegurid. *Agraarteadus*, 14(2), 84–95.
- Kübarssepp, I., Henno, M., Pärna, E., Viinalass, H., Sabre, D. 2006. Frequencies of κ -Cn and β -Lg genetic variants among Estonian cattle breeds and their effect on the milk renneting properties. *Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*, August 13-18, 2006, Belo Horizonte, Brazil, Communication No 01–65. http://www.wcgalp8.org.br/wcgalp8/articles/paper/1_66-1731.pdf
- Kübarssepp, I., Henno, M., Viinalass, H., Sabre, D., Saveli, O. 2004. Influence of κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on the milk coagulation properties. *Proceedings "Research for Rural Development 2004"*, Latvia University of Agriculture, Jelgava 19-22. May, p. 14–19.
- Kübarssepp, I., Henno, M., Viinalass, H., Sabre, D. 2005. Effect of κ -casein and β -lactoglobulin genotypes on the milk rennet coagulation properties. *Agronomy Research*, 3(1), 55–64.
- Lien, S., Kantanen, J., Olsaker, I., Holm, L.-E., Eythorsdottir, E., Sandberg, K., Dalsgard, B. Addalsteinsson, S. 1999. Comparison of milk protein allele frequencies in Nordic cattle breeds. *Animal Genetics*, 30, 85–91.
- Lodes, A., Buchberger, J., Krause, I., Aumann, J. Klostermeyer, H. 1996. The influence of genetic variants of milk proteins on the compositional and technological properties of milk. 2. Rennet coagulation time and firmness of the curd. *Milchwissenschaft*, 51, 543–548.
- Lucey, J.A. Fox, P.F. 1992. Rennet coagulation properties of late-lactation milk: effect of pH adjustment, addition of CaCl_2 , variation in rennet level and blending with mid-lactation milk. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 31, 173–184.
- Lucey, J.A., Kelly, J. 1994. Cheese yield. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 47, 1–14.
- Lunden, A., Nilsson, M. Janson, L. 1997. Marked Effect of β -Lactoglobulin polymorphism on the ratio of casein to total protein in milk. *Journal of Dairy Science*, 80, 2996–3005.
- Macheboeuf, D., Coulon, J-B. D'Hour, P. 1993. Effect of breed, protein genetic variants and feeding on cow's milk coagulation properties. *Journal of Dairy Research*, 60, 43–54.
- Malossini, F., Bovolenta, S., Piras, C., Rosa, M.D. Ventura, W. 1996. Effect of diet and breed on milk composition and rennet coagulation properties. *Ann Zootech*, 45, 29–40.
- Ng-Kwai-Hang, K.F. 1998. Genetic polymorphism of milk proteins: Relationships with production traits, milk composition and technological properties. *Canadian Journal of Animal Science*, 78, 131–147.
- Ng-Kwai-Hang, K.F., Politis, I., Cue, R.I., Marziali, A.S. 1989. Correlations between coagulation properties of milk and cheese yielding capacity and cheese composition. *Journal of Canadian Institute of Food Science and Technology*, 22, 291–294.
- Nicholas, G.D., Auldist, M.J., Molan, P.C., Stelwagen, K., Prosser, C.G. 2002. Effects of stage of lactation and time of year on plasmin-derived proteolytic activity in bovine milk in New Zealand. *Journal of Dairy Research*, 69, 533–540.
- O'Brien, B., Mehra, R., Connolly, J. F. Harrington, D. 1999. Seasonal variation in the composition of Irish manufacturing and retail milks. 1. Chemical composition and renneting properties. *Irish Journal of Agricultural and Food Research*, 38, 53–64.
- O'Keefe, A.M., Phelan, J.A., Keogh, K., Kelly, P. 1982. Studies of milk composition and its relationship to some processing criteria. IV Factors influencing the renneting properties of a seasonal milk supply. *Irish Journal of Food Science and Technology*, 6, 39–48.
- Okigbo, L.M., Richardson, G.H., Brown, R.J. Ernstrom, C.A. 1985. Variation in coagulation properties of milk from individual cows. *Journal of Dairy Science*, 68, 822–828.
- Orasson, A. 2000. Genetic polymorphism of Estonian Holstein milk proteins. *Proceedings of the 6th Baltic Animal Breeding Conference*, Latvia, Jelgava, p. 33–37.

- Ostensen, S., Foldager, J. Hermansen, J.E. 1997. Effects of stage of lactation, milk protein genotype and body condition at calving on protein composition and renneting properties of bovine milk. *Journal of Dairy Research*, 64, 207–219.
- Ots, M. 2006. Katse organisatsioon ja üldmetoodika. Katselehmade söötmine. Eesti veisetõugude maksimaalse piimajõudluse väljaselgitamine. Tartu: Triip, 11–39.
- Pärna, E., Vallas, M., Kaart, T., Kübarsepp, I., Kiiman, H., Pärna, K. 2006. Genetic Improvement of Milk Coagulation Properties. Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, August 13–18, Belo Horizonte, Brazil, Communication No 01–55.
- Riddell-Lawrence, S. Hicks, C.L. 1989. Effect of curd firmness on stirred curd cheese yield. *Journal of Dairy Science*, 72, 313–321.
- Rijnkels, M. 2002. Multispecies comparison of the casein gene loci and evolution of casein gene family. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 7, 327–345.
- Schaar, J. 1984. Effects of κ -casein genetic variants and lactation number on the renneting properties of individual milk. *Journal of Dairy Research*, 51, 397–406.
- Tapio, I., Värvi, S., Bennewitz, J., Maleviciute, J., Finland, E., Grislis, Z., Meuwissen, T.H.E., Miceikiene, I., Viinalass, H., Vilkki, J. Kantanen, J. 2006. Prioritization for conservation of northern European cattle breeds based on analysis of microsatellite data. *Conservation Biology*, 20(6), 1768–1779.
- Tervala, H-L., Antila, V., Syväjärvi, J. Lindström, U.B. 1983. Variations in the renneting properties of milk. *Meijeritieteellinen Aikakauskirja XLI* (2), 24–33.
- Тооме, А.А. 1972. Генетический полиморфизм β -лактоглобулинов и казеинов и возможности его использования в селекции пород крупного рогатого скота в Эстонской ССР. Автореф. канд. с.-х. наук, Тарту, 27 с.
- Tyrisevä, A.-M., Ikonen, T., Ojala, M. 2003. Repeatability estimates for milk coagulation traits and non-coagulation of milk in Finnish Ayrshire cows. *Journal of Dairy Research*, 70, 91–98.
- Tyrisevä, A.-M., Vahlsten, T., Routtinen, O., Ojala, M. 2002. Milk coagulation ability and prevalence of noncoagulating milk in Finnish dairy cows. Proceedings of 7th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Montpellier, France, August 19-23, Communication No 09–02.
- Van den Berg, G.J., Escher, T.M., De Koning, P.J. Bovenhuis, H. 1992. Genetic polymorphism of κ -casein and beta-lactoglobulin in relation to milk composition and processing properties. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 46, 145–168.
- Velmala, R., Mäntysaari, E.A. Mäki-Tanila, A. 1993. Molecular genetic polymorphism at the κ -casein and β -lactoglobulin loci in Finnish dairy bulls. *Agricultural and Food Science in Finland*, 2, 431–434.
- Wedholm, A., Larsen, L.B., Lindmark-Månsson, H., Karlsson, A.H., Andrén, A. 2006. Effect of protein composition on the cheese-making properties of milk from individual dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 3296–3305.

Milk rennet coagulation properties in Estonian dairy cattle and factors affecting it. A review

I. Jõudu*, M. Henno, S. Värvi, H. Viinalass, T. Püssa, T. Kaart, O. Kärt

Summary

The coagulation properties of milk are of great importance because they influence cheese yield and quality. Milk used for cheese production, has to have, in addition to good quality parameters, also good rennet coagulation properties to ensure conversion of milk solids to cheese and to prevent losses in profit to the dairy companies. In many countries it has been found that, as a result of the breeding of cows, there has been an increase in milk production, but the coagulation properties of milk have decreased, and the number of cows in the population producing non-coagulated milk has increased. Previous (2000–2002) studies in Estonia showed, that about 8–9% of milk did not coagulate and additionally 17–20% of milk had poor rennet coagulation properties. To improve the efficiency of cheese production it is necessary to identify strategies to improve raw milk rennet coagulation properties. This study involves a more extensive analysis to ascertain

specific markers that could be used to identify milk suitable for cheese-making and thereby provide an economic advantage to the dairy industry.

This article summarises Ivi Jõudu's PhD thesis: Effect of milk protein composition and genetic polymorphism on milk rennet coagulation properties. The aims of this study were to review, and provide an overview of milk rennet coagulation properties and factors affecting it among dairy cattle in Estonia. To find the frequencies of the genetic variants of κ -casein and β -lactoglobulin, and their connections between milk rennet coagulation properties, in Estonian dairy breeds. Due to the nonindependent segregation of four Cn genes in cattle, to examine the genetic variation of different milk proteins in milk from EN cows, and to determine the genotypic distributions and their effects on milk coagulation properties. To evaluate the effect of milk proteins on rennet coagulation properties.

Milk rennet coagulation parameters were detected during the years 2001–2005 totally from 8,282 milk samples, collected simultaneously with milk recording from 1,269 cows represented all dairy breeds in Estonia (58.4% EHF, 29.5% ER and 9.9% EN). The milk rennet coagulation data was recorded, using a Formograph, diagrammatically (Figure 1): milk rennet coagulation time (RCT – time in minutes from the addition of rennet into milk to the beginning of coagulation), and curd

firmness (E_{30} – width of the diagram in mm 30 min after the addition of rennet). If diagram width was less than 20 mm, the samples were classified as milk with poor rennet coagulation properties (NK₂₀; Figure 1b). For samples that did not coagulate at all, it was only possible to record curd firmness ($E_{30}=0$), and these samples were classified as noncoagulated milk (NCM; Figure 1c). Besides milk rennet coagulation parameters also milk calcium, phosphorus, α_{S1} -Cn, α_{S2} -Cn, β -Cn, κ -Cn, and β -Lg contents were determined (Table 1). Information on the birth, calving, and pedigree of the cows and daily milk performance, milk protein, fat, and lactose contents, and somatic cell count data were obtained from the Estonian Animal Recording Centre. Based on the collected data the following conclusions can be made:

- A wide variance was observed both in the composition and in the rennet coagulation properties of the milk samples. Percentages of noncoagulated and poorly coagulated ($E_{30} < 20$ mm) milks were 3.6% and 16%, respectively. Milk rennet coagulation properties were influenced by stage of lactation, breed, milk composition, and milk protein genotypes, but results from the effects of parity and udder health, characterised by somatic cell count, were not clear.
- Milk coagulation properties were at their best at the beginning of lactation, deteriorated quickly during the first three months of lactation, were worst during midlactation, and subsequently improved during the second part of lactation.
- All measured rennet coagulation parameters were significantly better for the κ -Cn BB, and worse for the κ -Cn AA, AE, and EE genotypes. κ -Cn BB also exhibited the lowest percentage of noncoagulated and poorly coagulated milk samples. Milk from cows having κ -Cn AB and BB genotypes were, throughout the lactation, more suitable for cheese making than the mean of all milks. The effect of β -Lg genetic variants on rennet coagulation parameters was not clearly identified.
- The most frequent κ -Cn genotype among EHF cows was AA, and among ER and EN cows AB genotype. For β -Lg AB and BB genotypes were more frequent. Cows of the Estonian Native and Estonian Red breeds, giving milk with better coagulation properties, had higher frequencies of the κ -Cn B allele. The frequency of the κ -Cn B allele,

associated with better coagulation properties, has considerably decreased in Estonian Holstein cows. Estonian Native cattle showed a relatively high frequency of the favourable κ -Cn B allele, although predominantly in heterozygote combination with the A allele, whereas no unfavourable κ -Cn E alleles were detected in EN in the current study.

- Among Estonian Native cattle breed we found 16 aggregate casein genotypes (α_{S1} -, β -, κ -caseins), of which four – namely, BB A²A² AA (21.2%), BB A¹A² AB (16.9%), BB A¹A² AA (14.4%), and BB A²A² AB (10.2%) – occurred among nearly two-thirds of the analysed cows. Aggregate casein genotype had a significant overall effect on rennet coagulation parameters. Better rennet coagulation properties were found for aggregate casein genotypes CC A²A² AB and BC A¹A² BB, among frequent genotypes for BB A¹A² AB. On the other hand, favourable aggregate casein genotypes (containing κ -Cn BB, α_{S1} -Cn BC or CC genotype) for improving the conversion of milk protein into cheese were rarely observed in EN. Noncoagulated milk originated mainly from cows possessing κ -Cn AA genotype.
- Higher contents of milk protein, casein and all the studied protein fractions (α_{S1} -, α_{S2} -, β -, κ -Cn and β -Lg), and the casein number reduced the rennet coagulation time and formed a firmer curd. Milk formed a firmer curd when the proportion of α_{S2} -Cn and β -Cn in total casein was smaller, or the proportion of κ -Cn in total casein was higher. In addition, a higher proportion of κ -Cn with respect to α_{S1} -Cn and β -Cn assisted in forming a firmer curd.

In order to apply the genetic information obtained from this study in breeding programmes, we need to conduct additional determination of milk protein genotypes for breeding bulls and bull dams. It is necessary to increase the allele frequencies with a positive effect and to avoid unfavourable alleles in closely linked loci. Selection for associated milk compositional characteristics (such as milk protein or casein contents, or κ -Cn genotype) needs additional study. The database, formed with evaluation of milk coagulation properties within the framework of the Bio-Competence Centre of Healthy Dairy Products, gives a good foundation for the design and carrying out future research in this area. Further information about the factors causing the noncoagulation of milk needs to be discovered.