

На правах рукописи

РАЧКОВА ЕКАТЕРИНА НИКОЛАЕВНА

**АССОЦИАЦИИ ГЕНОВ, СВЯЗАННЫХ С МОЛОЧНОЙ
ПРОДУКТИВНОСТЬЮ И РЕЗИСТЕНТНОСТЬЮ К МАСТИТУ
КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА**

06.02.07 – разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Казань - 2017

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана».

- Научный руководитель:** доктор биологических наук, доцент
Ахметов Тахир Мунавирович
- Официальные оппоненты:** **Долматова Ирина Юрьевна** - доктор биологических наук, профессор кафедры пчеловодства, частной зоотехнии и разведения животных ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»
- Шарафутдинов Газимзян Салимович** - доктор сельскохозяйственных наук, профессор кафедры биотехнологии, животноводства и химии ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет»
- Ведущее учреждение:** ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»

Защита диссертации состоится «28» декабря 2017 года в «12⁰⁰» часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.02 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» (420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте www.ksavm.senet.ru

Автореферат разослан «___» _____ 2017 года и размещен на сайтах <http://vak2.ed.gov.ru> и <http://www.ksavm.senet.ru>

Ученый секретарь
диссертационного совета

Р.Я. Гильмутдинов

1 Общая характеристика работы.

Актуальность темы. Насыщение продовольственного рынка продуктами, имеющими наилучшее качество, и от отечественного производителя, в достаточном количестве невыполнимо без улучшений в отрасли животноводства, и одним из компонентов является результирующая селекция. Сейчас уже никто не допускает сомнений в действенности применения ген-маркеров (группы крови, биохимические показатели белков, ферменты), новые маркеры, обнаруженные при помощи ПЦР (полимеразной цепной реакции). При использовании маркерной селекции появляется возможность выявить генетические дефекты и предсказать генетический потенциал особи тотчас же после рождения [Гончаренко Г.М, 2009] .

Наибольшее количество генетических исследований, связанных с лактацией и здоровьем вымени уже были выполнены благодаря своей экономической значимости для молочной продуктивности и производства. Это привело к значительному улучшению надоев молока; однако, прогрессирование технологических свойств молока и здоровья вымени идет относительно медленными темпами [Matukumalli L.K. et al., 2009].

Дальнейшее улучшение производства молока может быть достигнуто за счет разведения молочного скота, которое будет иметь необходимую наследственность, способного к производству максимального количества молока, требуемого состава и качества.

Наиболее значительный вклад в селекционный процесс привносит изучение генов и ДНК племенных животных, что позволяет идентифицировать гены, прямо или косвенно связанные с хозяйственно-полезными признаками и генетическими аномалиями. Разработаны методики, обеспечивающие анализ полиморфизма генов, участвующих в формировании продуктивности животных [Macdonald K.A. et al., 2008].

Идентификация аномалий, обусловленных генетикой и отбраковка животных-носителей (главным образом, производителей), а также преимущественное пользование животными с требуемыми аллелями генов хозяйственно - полезных признаков является приоритетом на современном этапе развития животноводческой отрасли.

Беря во внимание актуальность таких опытов и интеграцию поддержки в научном сообществе, производстве и рынке, существует практическая необходимость в разработке, тестировании и применении расширенной комплексной генетической оценки крупного рогатого скота, взяв за основу технологии молекулярной генетики. Это повышает достоверность оценивания племенной ценности животных и ускоряет отбор, позволяющий в ближайшем будущем увеличить на 5% -10% его эффективность, и процесс разведения молочного скота [Закирова Г.М. и др., 2011].

Данные отечественных и зарубежных исследователей указывают на наличие влияния генотипов по локусу гена бета - лактоглобулина на состав,

биологическую ценность и технологические свойства молока коров (термоустойчивость и сыродельческие качества).

Поиск значимой взаимосвязи полиморфных вариантов гена пролактин с конкретными параметрами молочной продуктивности, основан на активном участии продуктов этого гена в формировании признака молочной продуктивности.

Гормоны щитовидной железы, в частности, тиреоглобулин, играют важную роль в регуляции метаболизма и могут повлиять на рост, дифференциацию клеток тканей и гомеостаз жировых отложений, а также участвуют в процессах образования жировых клеток.

Таким образом, повышение продуктивности является основной задачей племенной работы в скотоводстве. Одним из подходов для решения этой задачи является применение ДНК-маркеров для отбора особей, несущих желательные аллели и генотипы исследованных нами генов, связанных с хозяйственно-ценными признаками.

Степень разработанности проблемы. Вопросом изучения аллельного полиморфизма генов маркеров и его влияния на продуктивные качества крупного рогатого скота занимались российские ученые, такие как – Байдильдинова Г.К. (2014), Горячева Т.С. (2010), Закирова Г.М. (2011), Зиннатова Ф.Ф. (2013), Лазебная О.Е. (2012), а также иностранные – Alfonso E. (2012), Aliranah M. (2008)–исследовали ген пролактина; исследованием полиморфизма гена тиреоглобулина заняты – Беган М.А. (2014), Ларионова П.В. (2005), Харзинова В.Р., Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А. (2011), Anton I. (2012), Carvalho T.D. (2012), Yardibi H. (2013); изучением бета-лактоглобулина увлечены следующие ученые – Ахметов Т.М., Тюлькин С.В, Зарипов О.Г. (2015), Валиуллина Э.Ф. (2007), Глотова Г.Н. (2007), Зиннатова Ф.Ф. (2012), Федотова Н.В. (2011).

Также в условиях Республики Татарстан не изучалась степень влияния полиморфизма генов PRL, TG5, BLG на предрасположенность к маститу, и не исследовались ассоциации приведенных генов с воспроизводительными качествами, а в частности индекса плодовитости, продолжительности сервис-периода и межотельного периода.

Цель и задачи исследования. Целью исследования явилось молекулярно – генетическое тестирование племенного стада крупного рогатого скота голштинской породы племхоза Атнинского района Республики Татарстан по генам – маркерам хозяйственно – полезных признаков, а также изучение ассоциаций их полиморфизма с молочной продуктивностью и воспроизводительными качествами.

Для достижения этой цели были поставлены следующие задачи:

- провести молекулярно – генетическое тестирование коров и первотелок по локусам генов пролактина, тиреоглобулина, бета-лактоглобулина, определить их аллельные варианты, оценить частоты встречаемости аллелей и генотипов, наличия генного равновесия;

- установить взаимосвязь между генотипами исследуемых генов и признаками молочной продуктивности коров и РИБ;
- выявить корреляцию между основными признаками молочной продуктивности крупного рогатого скота;
- изучить воспроизводительные качества коров-первотелок и установить взаимосвязь с изучаемыми генами;
- установить значение коэффициента наследуемости между исследованными животными и их предками.

Научная новизна работы. Определены ДНК – маркеры и соответствующие праймеры, подобраны условия проведения ПЦР – ПДРФ анализа и освоена методика выполнения анализа для генотипирования крупного рогатого скота по генам хозяйственно – полезных признаков. Изучена взаимосвязь генотипов с молочной продуктивностью, выявлены частоты встречаемости аллельного полиморфизма первотелок, содержащихся в условиях СХПК «Племенной завод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан, для каждого генотипа определен характер молочной продуктивности, отраженный в графике. Впервые в условиях Республики Татарстан изучено влияние селекционных признаков на особей разных генотипов генов PRL, TG5, BLG и фенотипическое проявление воспроизводительных качеств. Также впервые была изучена взаимосвязь между различными генотипами пролактина, тиреоглобулина и бета-лактоглобулина и предрасположенность к маститу коров, выращенных в условиях Республики Татарстан.

Теоретическая и практическая значимость работы. В связи с тем, что на формирование признаков молочной продуктивности оказывают влияние группы признаков, рекомендуем проводить молекулярно-генетическое тестирование молочных пород скота по нескольким генам, включая исследованные нами - PRL, TG5 и BLG. В нашем исследовании были определены желаемые аллели генов, и как следствие, животные, выявленные как наиболее ценные, могут быть использованы в дальнейших селекционно- племенных работах при подборе родительских пар, для получения потомства с наилучшими показателями молочной продуктивности и хорошими воспроизводительными качествами. Также полученные результаты могут быть использованы для более широко изучения темы влияния определенных генотипов на предрасположенность к маститу, на воспроизводительную функцию крупного рогатого скота.

Методология и методы исследований. В проведении исследования использовали зоотехнические методики постановки опыта и определяли показатели продуктивности свиней в соответствии с общепринятыми методиками. Для определения генотипов у животных использовали молекулярно-генетические методы. Расчёт количественных показателей осуществляли математическим и вариационно-статистическим методами.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Выявлены генетические сходства и различия коров и первотелок голштинской породы по частоте встречаемости аллелей и генотипов генов пролактина, тиреоглобулина и бета-лактоглобулина. Для гена пролактина и тиреоглобулина характерно преобладание желательных для молочной продуктивности аллелей А и С, соответственно. Для гена бета-лактоглобулина мы наблюдаем преобладание аллеля В.

2. Наиболее высокие показатели молочной продуктивности выявлены при сравнительном анализе взаимосвязи с аллельным полиморфизмом генов PRL, TG5, BLG у животных с гомозиготным генотипом – PRL - AA, TG5 - CC, BLG – AA и BB, и, таким образом были выявлены желательные генотипы;

3. Установлены типы динамики молочной продуктивности и коэффициент постоянства лактации для всех генотипов изучаемых генов: для гена пролактина характерна высокая и быстро снижающаяся лактация. Для тиреоглобулина наиболее характерна высокая устойчивая лактация. У коров, имеющих генотипы АВ гена бета-лактоглобулина сильная и устойчивая лактация. У животных с генотипом AA высокая, неустойчивая лактация, быстроспадающая. Сильная, неустойчивая лактация наблюдается у особей, имеющих генотип BB.

4. Молочная продуктивность коров за 305 дней лактации имеет тенденцию к уменьшению, в корреляции с увеличением продолжительности сервис-периода. Данная тенденция наблюдается по всем исследованным генам и их генотипам. Снижение молочной продуктивности, на фоне удлинения межотельного периода, происходит у всех особей, которые были исследованы.

5. Степень наследуемости высокая по генотипам АВ + ВВ пролактина. По генотипу AA связь между удоями дочерей и матерей была низкая. При расчете коэффициента наследуемости для гена тиреоглобулина между матерями и дочерьми получены высокие показатели наследуемости ($h^2 \leq 0.40$) по всем изученным генотипам. При исследовании коэффициента наследуемости гена бета-лактоглобулина мы получили высокие показатели степени наследуемости ($h^2 \leq 0.40$) по всем изученным генотипам между матерями и дочерьми.

Степень достоверности и апробация результатов.

Достоверность результатов исследований обеспечена использованием комплекса современных методов и соблюдением общепринятых методик проведения научно-производственных опытов.

Основные положения диссертации доложены на:

- международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 2016);

- программа содействия молодым ученым «УМНИК» (Казань, 2016);

- международной научно-практической конференции «Инновационные решения в ветеринарной медицине, зоотехнии и биотехнологии в интересах развития агропромышленного комплекса» (Казань, 2017).

Публикации. Опубликовано 10 научных работ, в том числе 5 статей в журналах, рекомендованных ВАК России.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 Материалы и методы исследований

Исследования проводились в 2014-2017 годах на кафедре технологии животноводства ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана», на базе ФГБНУ «Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства» (г. Казань) и СХПК им. Ленина Атнинского района Республики Татарстан.

Для проведения молекулярно-генетических исследований, по теме диссертационной работы была отобрана кровь у 184 первотелок голштинской породы.

За период проведения исследований, все опытное поголовье крупного рогатого скота находилось в одинаковых условиях кормления, технологического содержания, ветеринарного обслуживания, а хозяйства были благополучны по инфекционным и инвазионным болезням.

Анализ происхождения, продуктивности и воспроизводительной способности коров был произведен с помощью программного пакета «Селекс 3.1» (АРМ Плинор, Санкт-Петербург).

Молочную продуктивность определяли путем проведения контрольных доек. Анализ качества молока производили на приборе «Лактан 1-4» и «Клевер-2» в соответствии с инструкциями производителя. Для измерения использовали свежее молоко.

Кровь, полученную утром до кормления из хвостовой вены животных, вносили в пробирки с 100 мМ ЭДТА до конечной концентрации 10 мМ.

Выделение ДНК проводили с помощью набора для выделения «ДНК-Сорб В» (ИнтерЛабСервис, Россия) согласно методике, предоставленной фирмой изготовителем.

Научно-хозяйственные опыты поставлены согласно схеме исследования (рисунок 1).

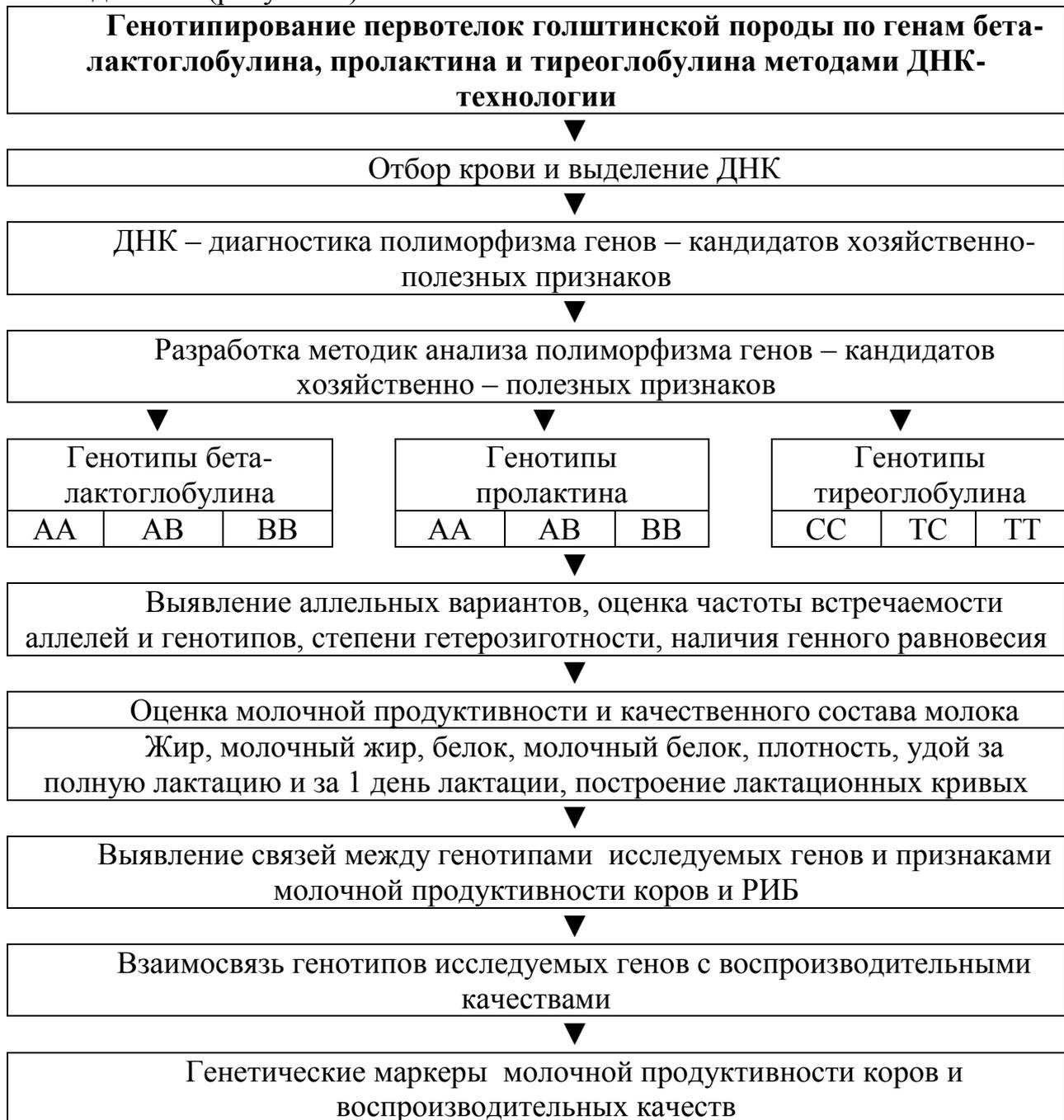


Рисунок 1 – Схема исследования

Анализ локуса гена бета-лактоглобулина при проведении ПЦР-ПДРФ.

Аллели гена BLG определяли методом полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ), с предварительной амплификацией этих фрагментов с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на

программируемом термоциклере MyCycler (BioRad, США), с использованием праймеров:

BLGP3: 5'-TGTGCTGGACACCGACTACAAAAAG – 3',

BLGP4: 5'-GCTCCCGGTATATGACCACCCTCT – 3'.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) происходила в следующих условиях: первоначальная денатурация при 95°C в течение 3 мин, затем денатурация при 95°C в течение 15 сек, отжиг при 58,5°C - 15 сек, и расширение при 72°C в течение 15 секунд, всего 40 циклов. ДНК была амплифицирована в общем объеме 20 мкл, из которых 200 мкл dNTPs, Taq-буфер x1 – 2 мкл, 1 ед Taq ДНК - полимеразы и по 0,4 мкл каждого праймера.

Для выявления аллелей гена BLG, ПЦР фрагменты обрабатывали рестриктазой *HaeIII* (СибЭнзим, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. 20 мкл ПЦР-продукта было расщеплено с использованием 5 ед. эндонуклеазы рестрикции в течение 16 часов при 37°C.

Результаты были проанализированы методом гель-электрофореза в 2,5% агарозном геле. Полученные данные фиксировали с помощью системы BioRad XR.

Анализ локуса гена пролактина при проведении ПЦР-ПДФ.

Полиморфизм гена пролактина определяли методом полимеразной цепной реакции с дальнейшим использованием метода определения полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДФ), на программируемом термоциклере MyCycler (BioRad, США), с использованием праймеров:

PRL1: 5'-CGAGTCCTTATGAGCTTGATTCTT-3',

PRL2: 5'-GCCTTCCAGAAGTCGTTTGTTTTTC – 3'.

Условия полимеразной цепной реакции (ПЦР): первоначальная денатурация - 95°C в течение 3 мин, затем денатурация - 95°C в течение 30 сек, отжиг - 59°C - 60 сек, и элонгация при 72°C в течение 35 секунд, всего 34 цикла. ДНК была амплифицирована в общем объеме 20 мкл, из которых 200 мкл dNTPs, Taq-буфер x1 – 2 мкл, 1 ед Taq ДНК - полимеразы и по 0,4 мкл каждого праймера.

Для выявления аллелей гена PRL, ПЦР фрагменты обрабатывали рестриктазой *RsaI* (СибЭнзим, Россия), 20 мкл ПЦР-продукта было расщеплено с использованием 5 ед. эндонуклеазы рестрикции в течении 16 часов при 37°C.

Пробы анализировали методом электрофореза в 2,5% агарозном геле. Данные зафиксировали системой BioRad XR.

Анализ локуса гена тиреоглобулина при проведении ПЦР-ПДФ.

Для определения аллелей гена TG использовали метод полиморфизма длин рестриционных фрагментов (ПДФ), с предварительной амплификацией фрагментов с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) на программируемом термоциклере MyCycler (BioRad, США), с использованием праймеров:

TG5F: 5'- GGGGATGACTACGAGTATGACTG-3';

TG5R: 5'- GTGAAAATCTTGTGGAGGCTGTA-3'.

Условия для полимеразной цепной реакции гена TG5: первоначальная денатурация происходила при 95°C в течение 3 мин, 34 цикла; денатурация при 95°C в течение 30 сек, отжиг при 63°C - 60 сек, элонгация при 72°C в течение 35 секунд. ДНК была амплифицирована в объеме смеси 20 мкл: 2 мкл dNTPs, Taq-буфер x1 – 2 мкл, 1 ед Taq ДНК - полимеразы и по 0,4 мкл каждого праймера.

Для выявления аллелей гена TG5 ПЦР-фрагменты обрабатывали рестриктазой *BstXI2* (СибЭнзим, Россия), соблюдая рекомендации производителя. 20 мкл ПЦР-продукта было расщеплено с использованием 5 ед. эндонуклеазы рестрикции в течение 16 часов при 60°C.

Продукты реакции проанализировали электрофорезным способом в 2% агарозном геле и зафиксировали при помощи системы BioRad XR.

Статистическую обработку данных производили в программе Microsoft Excel методами вычисления биометрических параметров.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Полиморфизм гена пролактина крупного рогатого скота

При анализе частот встречаемости аллелей пролактина, очевидно преобладание аллеля А, частота его встречаемости составляет 0,87, частота встречаемости аллеля В – 0,13. Частота аллеля А превышала частоту аллеля В на 0,74.

Среди 184 особей «СХПК им. Ленина» 135 коров-первотелок, или 76% имели генотип АА, 23% – генотип АВ (46 голов) и лишь 1% или 3 головы – генотип ВВ. Для биометрической обработки, мы объединили животных с генотипами АВ и ВВ в единую группу.

2.2.2 Полиморфизм гена тиреоглобулина крупного рогатого скота

Для гена тиреоглобулина характерно преобладание аллеля С – 0,71, в то время как частота встречаемости аллеля Т у данного гена составляет – 0,29.

Для гена TG5 наиболее часто встречается генотип СС, наименее распространенный генотип ТТ.

2.2.3 Полиморфизм гена бета-лактоглобулина крупного рогатого скота

Для изученного гена характерно небольшое преобладание аллеля В – 0,52, частота аллеля А, в свою очередь, 0,48.

Нами было установлено, что генотип АА имели 18,5% первотелок или 34 головы, с генотипом АВ 58,2% изучаемого поголовья (107 голов) и генотип ВВ имели 23,4% особей (43 головы) от общей выборки.

2.2.4 Изучение взаимосвязи полиморфизма гена пролактин с молочной продуктивностью и качественным составом молока

Таблица 1 - Продуктивность женских и мужских предков в зависимости от полиморфизма гена пролактина

Генотип первотелок	Удой матери, кг	Родительский индекс быка	
		удой, кг	массовая доля жира, %
АА	6467 ± 64,6***	12741 ± 105,9	3,92 ± 0,023
АВ + ВВ	6155 ± 139,1	12889 ± 283,7	4,02 ± 0,05
в среднем по стаду	6382 ± 58,7	12768 ± 101,4	3,9 ± 0,021

*Примечание здесь и далее: * - $P < 0,05$, ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$*

Наибольший удой матерей отмечен для дочерей с генотипом АА, меньшая продуктивность характерна для матерей исследуемых коров-первотелок с генотипами АВ + ВВ. Удой матерей, дочери которых имеют генотип АА, был достоверно больше на 312 кг, или на 5,1% ($p < 0,001$), удою матерей, у дочерей которых выявлен генотип АВ и ВВ.

При рассмотрении РИБ по молочной продуктивности предков имели преимущество потомки с генотипами АВ + ВВ, что составило 148 кг, или 1,2%. По массовой доле жира высокий родительский индекс быка отмечен у коров, имеющих генотипы АВ + ВВ и составляет 4,02%, с различием 0,1% от животных с генотипом АА.

Таблица 2 - Молочная продуктивность за полную лактацию коров-первотелок в разрезе полиморфизма гена пролактина

Генотип	n	Удой, кг	Массовая доля жира, %	Массовая доля белка, %	Молочный жир, кг	Молочный белок, кг
АА	97	6258 ± 109,5*	4,3 ± 0,12	3,1 ± 0,02	201,9 ± 10,4***	145,1 ± 6,1
АВ + ВВ	27	6010 ± 204	4,2 ± 0,22	3,2 ± 0,04***	181,7 ± 16,4	139,5 ± 12,4

По молочной продуктивности достоверно наибольший удой установлен у коров-первотелок, имеющих генотип АА. Он составил 6258 кг, против 6010 кг у коров-первотелок с генотипами АВ + ВВ. При этом разница составила 248 кг, или 4,1% ($p < 0,05$).

По массовой доле жира в молоке преимущество имели коровы-первотелки с генотипом АА, что равно 4,3%. Однако, по массовой доле белка достоверно имели преимущество коровы-первотелки с генотипами АВ + ВВ, этот показатель составил 3,2% против 3,1% ($p < 0,001$).

При расчетах выхода молочного жира и белка с молоком, коровы – первотелки с генотипом АА превосходили сверстниц с генотипами АВ + ВВ, соответственно, на 20,2 и 5,6 кг или на 11,1% ($p < 0,001$) и 4,0%.

2.2.5 Изучение взаимосвязи полиморфизма гена молочного гормона тиреоглобулин на молочную продуктивность и качественный состав молока

Таблица 3 - Продуктивность женских и мужских предков в зависимости от полиморфизма гена тиреоглобулина

Генотип	Удой матери, кг	Родительский индекс быка	
		удой, кг	массовая доля жира, %
СС	6543*** ± 121,6	12698 ± 209,3	3,96*** ± 0,046
ТС	6305 ± 150,6	12752 ± 231,7	3,93 ± 0,050
ТТ	5578 ± 222,6	12823 ± 348,4	3,82 ± 0,070
в среднем по стаду	6343 ± 89,9	12737 ± 142,2	3,94 ± 0,031

Наибольший удой у матерей коров с генотипом СС, наименьший у женских предков коров с генотипом ТТ. Материнский удой первотелок с генотипом СС гена TG5 превосходит над удоём потомков с генотипом ТТ на 971 кг или 14,8% ($p < 0,001$).

Более продуктивными по РИБ оказались потомки с генотипом ТТ гена тиреоглобулина, но по массовой доле жира превосходят потомки, имеющие генотип СС, над особями с генотипом ТТ, на 5%.

Таблица 4 - Продуктивность коров-первотелок в разрезе полиморфизма гена тиреоглобулина

Генотип	n	Удой, кг	Массовая доля жира, %	Массовая доля белка, %	Молочный жир, кг	Молочный белок, кг
СС	96	6545***± 122,3	4,20***± 0,141	2,96***± 0,038	264,8***± 12,05	185,7**± 6,25
ТС	68	5830± 155,5	3,82 ± 0,112	2,92 ± 0,056	224,5 ± 10,5	173,3 ± 7,63
ТТ	20	5993± 346,9	3,79 ± 0,187	2,83 ± 0,135	224,5 ± 18,33	168,7 ± 14,81

Высокая продуктивность по всем показателям у особей, имеющих генотип СС гена TG5. Коровы – первотелки, с генотипом СС, превзошли коров, у которых был выявлен генотип ТС, на 715 кг или 11% ($p < 0,001$).

По массовой доле жира и белка в молоке преимущество имели коровы с генотипом СС, что равно 4,2% жира и 3,0% белка, против сверстниц с генотипами ТС и ТТ, превосходя их, соответственно, на 9,5% и 6,7%.

Наименьшей массовой долей белка и выходом молочного белка охарактеризовались животные, представляющие генотип ТТ.

2.2.6 Изучение взаимосвязи полиморфизма гена молочного белка бета-лактоглобулина с молочной продуктивностью и качественным составом молока

Таблица 5 - Продуктивность женских и мужских предков в зависимости от полиморфизма гена BLG

Генотип	Удой матери, кг	Родительский индекс быка	
		удой, кг	массовая доля жира, %
AA	6262 ± 205,7	12915 ± 326,0	3,95 ± 0,076
AB	6368 ± 122,8	12476 ± 152,4	3,93 ± 0,041
BB	6339 ± 173,2	13250 ± 390,0	3,96 ± 0,066
в среднем по стаду	6343 ± 89,9	12737 ± 142,2	3,94 ± 0,031

Удой матерей коров находится почти на одном уровне, небольшое отклонение, в большую сторону, наблюдается у матерей коров, имеющих генотип АВ.

Продуктивность по РИБ наибольшая у дочерей, имеющих генотип ВВ. Наименьшие показатели имеют потомки с генотипом АВ.

Таблица 6 - Продуктивность коров-первотелок в разрезе полиморфизма гена BLG

Генотип	n	Удой, кг	Массовая доля жира, %	Массовая доля белка, %	Молочный жир, кг	Молочный белок, кг
AA	34	6472** ± 237,2	4,20 ± 0,327	2,93 ± 0,082	268,1 ± 22,23	186,2 ± 8,70
AB	107	5778 ± 127,6	3,99 ± 0,089	2,92 ± 0,042	234,1 ± 8,30	171,0 ± 5,78
BB	43	6432 ± 215,1	4,37 ± 0,224	2,98 ± 0,035	289,8** ± 18,95	197,8** ± 8,35

Наибольшим удоем по собственной продуктивности отличились коровы-первотелки с генотипом АА бета-лактоглобулина, превосходя сверстниц на 694 кг. Наибольшая массовая доля жира и белка в молоке наблюдается у особей, имеющих генотип ВВ. Наименьшие данные по всем показателям получены для генотипа АВ.

2.2.7 Характер молочной продуктивности коров по генам пролактина, тиреоглобулина и бета-лактоглобулина

В ходе наших исследований были построены лактационные кривые по изучаемому поголовью для каждого изучаемого гена.

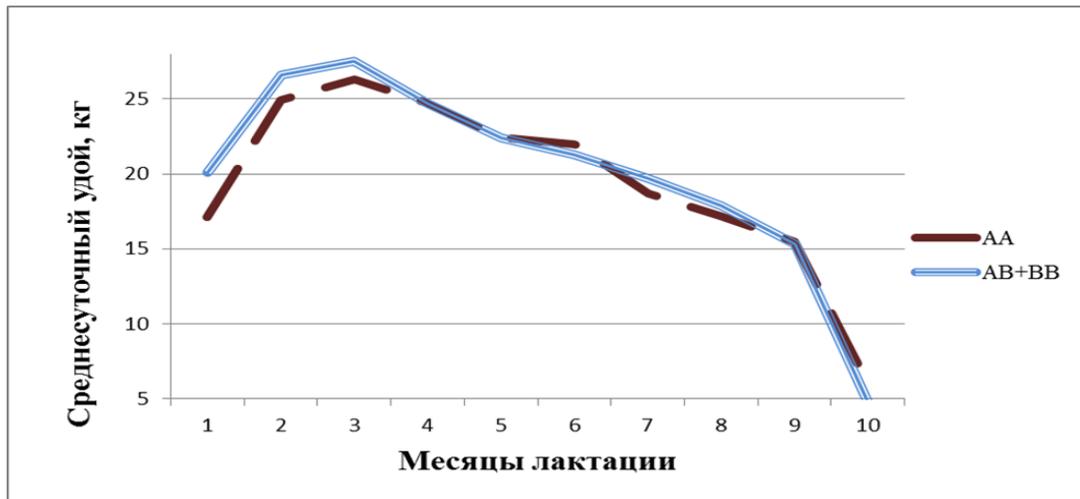


Рисунок 2 - Характер лактации коров по гену пролактина (PRL) по генотипам

По гену пролактина высокая, но быстроспадающая лактация, при этом достаточно высокий коэффициент постоянства лактации.

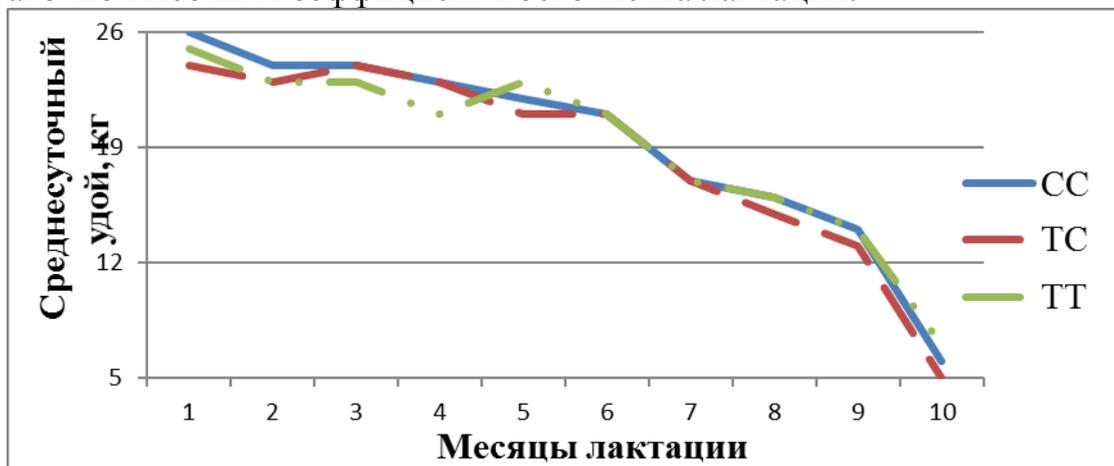


Рисунок 3 - Динамика молочной продуктивности коров в разрезе генотипов гена TG5

Для генотипов TC и TT тиреоглобулина характерна высокая устойчивая лактация, что подтверждает и коэффициент постоянства.

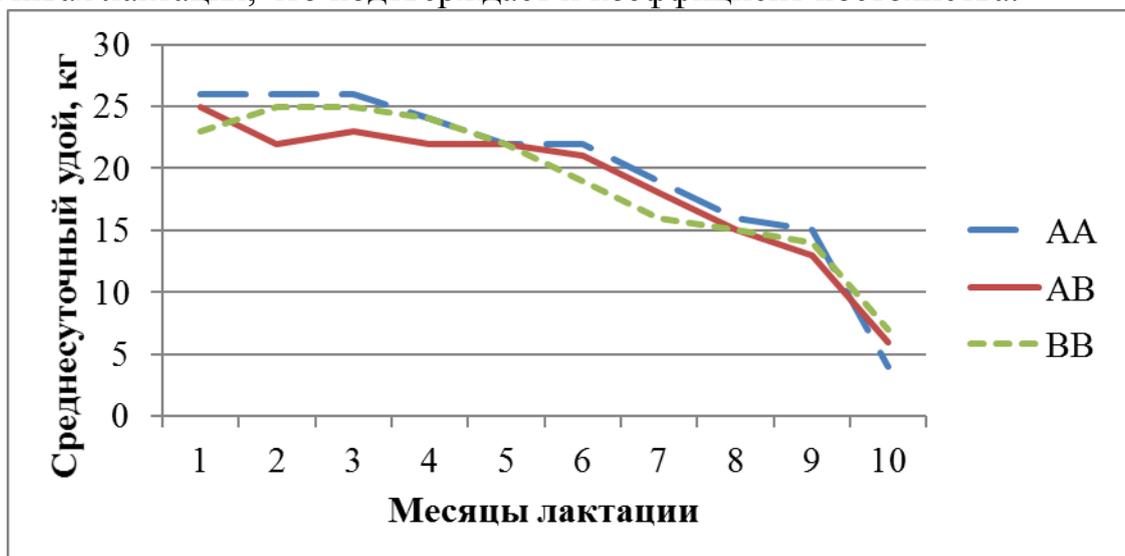


Рисунок 4 - Характер молочной продуктивности коров с различными генотипами гена BLG

Что касается, гена бета-лактоглобулина, то наивысший коэффициент устойчивости лактации наблюдается лишь для генотипа АВ. У особей с остальными генотипами высокая, но быстроспадающая лактация.

2.2.8 Взаимосвязь генов пролактина, тиреоглобулина, бета-лактоглобулина с предрасположенностью к заболеваемости маститом крупного рогатого скота

Таблица 7 - Содержание соматических клеток в молоке в зависимости от уровня продуктивности коров

Генотип		n	Удой за лактацию, кг	Количество соматических клеток, тыс./мл	Массовая доля жира, %	Массовая доля белка, %
TG5	CC	96	6545***±122,3	321±17,26	4,2±0,141	2,96±0,038
	TC	68	5830±155,5	329**±19,93	3,82±0,112	2,92±0,056
	TT	20	5993±346,9	266±28,10	3,79±0,187	2,83±0,135
PRL	AA	135	6258±109,5	316±14,44	4,31±0,024	3,1±0,024
	AB+BB	49	6010±204,0	324±22,07	4,2±0,223	3,2**±0,046
BLG	AA	34	6472±237,2	297±22,04	4,20±0,327	2,93±0,082
	AB	107	5778±127,6	325±17,40	3,99±0,089	2,92±0,042
	BB	43	6432±215,1	322±23,83	4,37**±0,224	2,98±0,035

Наименьшая предрасположенность наблюдается для генотипа ТТ гена тиреоглобулина и генотипа АА бета-лактоглобулина и составляет менее 300 тыс. соматических клеток/мл. Для остальных генотипов изучаемых генов содержание соматических клеток находится почти на одном уровне. Эти гены наиболее подходят для маркерной селекции по молочной продуктивности.

2.2.9 Анализ селекционно-племенной работы в исследуемом хозяйстве

2.2.9.1 Определение плодовитости стада по индексу Дохи

Достижение успеха в увеличении показателя репродуктивности, в большинстве случаев, зависит от того, насколько эффективны методы регулирования паратипических факторов, таких как кормление, содержание, предотвращение гинекологических заболеваний, благовременное лечение после отела, совершенствование техники искусственного осеменения, надлежащий контроль над качественным производством спермы и так далее. Потому как эти показатели в селекционной работе, иногда учесть не

получается, то проблемы взаимодействия методов разведения и репродуктивной способности часто остаются вне поля зрения. Уклонение от участия в этом вопросе ссылается на низкую степень наследуемости воспроизводительной способности.

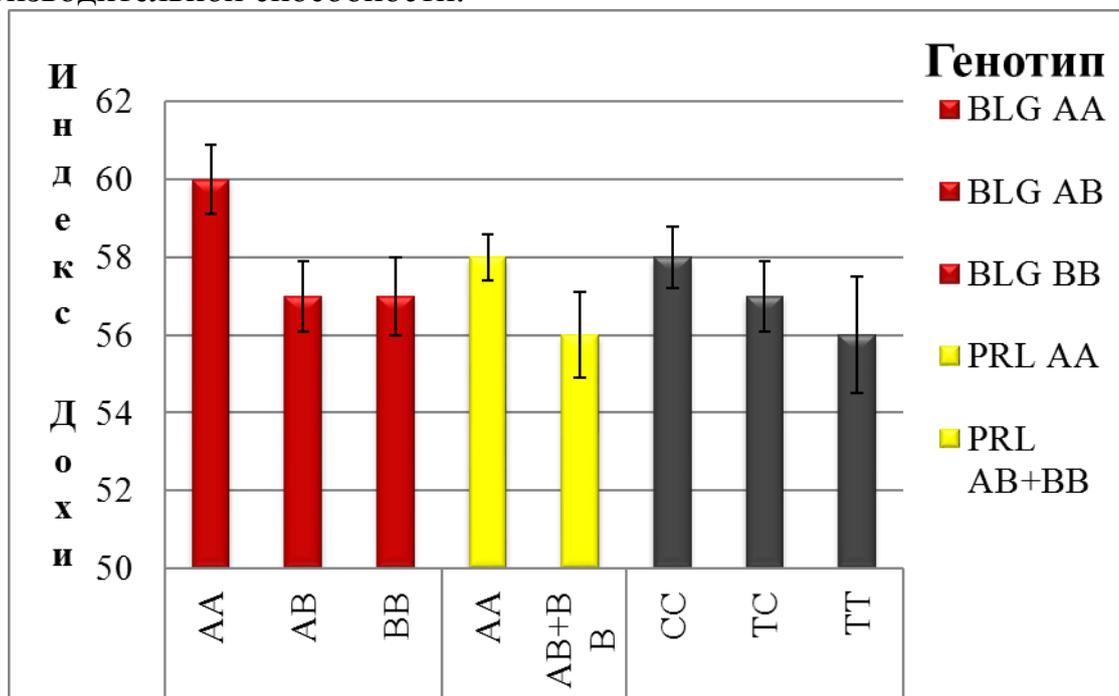


Рисунок 5 - Ассоциации изучаемых генов с индексом плодовитости

В представленной графике все животные, с исследуемыми нами генотипами имеют высокий индекс плодовитости - выше 48. Наивысший показатель плодовитости у особей с генотипом AA по гену бета-лактоглобулина - 60.

2.2.9.2 Влияние продолжительности сервис-периода и межжотельного периода на воспроизводительные качества

Сервисный период является нормальным отрезком физиологического цикла коровы, за это время особь должна быть готова к плодотворному осеменению. Продолжительность сервис-периода в качестве индикатора качества производства может дать представление о репродуктивной функции стада в целом, и каждой коровы в отдельности.

**Таблица 8 - Влияние продолжительности сервис-периода на потери
молока за сутки**

Продолжительность сервис-периода, дней	Показатели	Гены							
		PRL		TG5			BLG		
		AA	AB+BB	CC	TC	TT	AA	AB	BB
60-90	n	45	17	37	17	7	14	31	15
	Удой за лактацию, кг	6235±188,1	6088±218,4	6229±151,2	6246±151,3	5815±580,9	6466±262,7	6107±150,4	6127±253,7
	Выход молочного жира, кг	246,3±18,89	221,0±21,49	240,5±16,03	231,3±15,87	249,6±31,05	279,6±16,29	226,5±14,95	228,7±26,93
	Выход молочного белка, кг	182,5±6,61	161,4±14,66	174,0±9,26	178,7±9,68	181,2±16,6	196,9±7,40	171,8±8,84	166,7±16,35
	Лактация, дней	270±6,8	282±8,9	266±6,8	281±9,9	293±19,9	281±9,1	270±7,45	274±13,34
	Среднесуточный удой за лактацию, кг	24,3±1,05	22,2±1,09	24,6±1,20	22,9±0,97	20,4±2,15	23,5±1,28	23,7±1,17	23,7±1,84
91-120	n	32	14	19	12	5	8	25	8
	Удой за лактацию, кг	5892±150,8	5894±303,6	5915±149,2	5773±317,9	6042±391,0	5506±308,1	6075±192,2	6017±218,9
	Лактация, дней	293±7,9	310±10,9	298±9,5	297±11,5	294±15,8	285±14,7	314±6,5	277±13,5
	Среднесуточный удой за лактацию, кг	20,6±0,72	19,4±1,34	20,5±0,93	19,6±1,06	20,8±1,36	19,8±1,45	19,5±0,79	22,4±1,27
	Выход молочного жира, кг	227,8±14,66	236,7±16,38	231,1±15,01	236,9±19,61	212,2±42,56	231,1±20,4	224,5±18,32	246,2±22,92
	Выход молочного белка, кг	166,5±9,70	184,4±9,20	169,3±10,45	177,2±10,18	164,9±29,33	106,1±8,88	191,1±13,43	171,4±13,74

	Недополуче но молока в сутки по сравнению с сервис- периодом в 60 дней, кг	3,7	2,8	4,1	3,3	-0,4	3,7	4,2	1,3
	Недополуче но молока за весь сервис- период, кг	222	168	246	198	-24	222	252	78
121 и более	n	58	18	40	39	8	12	51	20
	Удой за лактацию, кг	6268± 151,5	6654± 174,0	6533± 208,8	6194± 184,6	6215± 233,3	6441± 380,1	6404± 158,6	6193± 244,1
	Лактация, дней	355±10,2	402± 25,1	381± 15,8	346±1 3,4	370± 26,6	388± 30,7	352± 12,5	376± 16,8
	Среднесуточ ный удой за лактацию, кг	18,5± 0,62	17,8± 1,28	18,3± 0,90	18,7± 0,79	17,7± 1,50	17,9± 1,70	19,2± 0,73	17,1± 0,92
	Выход молочного жира, кг	236,0± 12,73	216,2± 24,21	254,3 ±18,3 2	204,0 ±16,6 0	250,3± 14,32	218,6 ±28,8 3	231,3± 15,3	240,1 ± 21,00
	Выход молочного белка, кг	175,3± 8,10	168,9± 17,71	181,2 ± 11,40	161,0 ± 11,91	194,1± 7,09	169,6 ± 21,83	174,2± 10,09	175,8 ± 12,32
	Недополуче но молока в сутки по сравнению с сервис- периодом в 60 дней, кг	5,8	4,4	6,3	4,2	2,7	5,6	4,5	6,6
	Недополуче но молока за весь сервис- период, кг	696	528	756	504	324	672	540	792

Увеличение продолжительности сервис–периода не увеличивает молочную продуктивность и выход молочного жира и белка. Следовательно, увеличение его продолжительности более 90 дней экономически нецелесообразно.

Таблица 9 - Воздействие продолжительности межотельного периода на среднесуточные потери молока

Продолжительность МОП, дней	Показатели	Генотипы							
		TG5			PRL		BLG		
		CC	TC	TT	AA	AB+BB	AA	AB	BB
	n	58	31	44	30	9	20	41	19
365-385	Удой за лактацию, кг	5930±191,0	6203±265,5	5561±310,6	5986±168,9	5954±293,1	5944±231,6	6001±210,3	5978±334,4
	Выход молочного жира, кг	230,9±13,38	251,3±16,12	237,1±19,60	238,9±13,37	253,7±18,71	234,4±13,56	235,8±16,21	249,8±23,92
	Выход молочного белка, кг	178,2±8,28	192,1±9,72	176,6±11,38	180,5±6,98	189,1±9,73	183,3±6,80	186,2±7,59	239,3±14,86
	Лактация, дней	300±9,3	303±5,9	300±6,7	296±6,2	315±13,1	297±14,1	302±5,1	305±12,3
	Среднесуточный удой за лактацию, кг	19,9±0,5	20,5±0,8	18,6±1,0	20,3±0,5	19±0,7	20,3±0,8	19,9±0,7	19,6±0,8
386 и более	n	77	18	52	38	11	14	66	24
	Удой за лактацию, кг	7238±337,2	6862±333,6	7853±475,5	7088±239,4	7699±541,6	7082±475,5	7317±278,9	7113±479,3
	Выход молочного жира, кг	315,8±27,65	283,5±17,01	294,3±23,41	309,2±14,89	312,5±34,59	312,0±19,81	310,5±19,81	311,3±25,75
	Выход молочного белка, кг	213,4±16,01	211,6±9,92	245,3±13,56	219,3±7,48	237,7±19,91	218,8±12,72	230,0±9,33	213,9±14,92
	Лактация, дней	392±19,4	373±15,2	433±23,8	378±11,6	446±32,5	370±11,7	391±16,3	404±24,9
	Среднесуточный удой за лактацию, кг	18,7±0,7	18,5±0,8	18,3±0,8	18,9±0,5	17,4±0,9	19,2±0,9	19,0±0,7	17,7±0,7
	Недополуч. мол. в сутки по сравнению с МОП в 365 дней, кг	1,2	2,0	0,3	1,4	1,6	1,1	0,9	1,9
	Недополуч. ч. мол. за весь МОП, кг	463	772	116	540	618	425	347	733

Практически для всех изученных генотипов выход молочного жира и молочного белка значительно повышается при удлинении периода между отелами.

Молочная продуктивность в расчете на средний удой за один день, ниже у коров в группе с более продолжительным межотельным периодом, следовательно, увеличение продолжительности лактации приводит к недополучению надоев молока, сумма которых за весь межотельный период может достигать 7723 кг. Однако в разрезе полиморфного состояния генов продуктивности потери молока могут различаться до 52%.

2.2.10 Степень наследуемости признаков

Степень наследуемости достаточно высока лишь по генотипам АВ + ВВ гена пролактина, где ее коэффициент наследуемости в связи мать-дочь составил 0,4. По генотипу АА связь между удоями дочерей и матерей была значительно ниже (0,2). Это говорит о том, что эти животные более чувствительны к условиям содержания. Поэтому для полного раскрытия генетического потенциала следует изменить условия содержания и кормления.

При расчете коэффициента наследуемости по методу однофакторной дисперсии для гена тиреоглобулина между матерями и дочерьми получены высокие показатели наследуемости ($h^2 \leq 0.40$) по всем изученным генотипам.

При исследовании коэффициента наследуемости гена бета-лактоглобулина мы получили высокие показатели степени наследуемости ($h^2 \leq 0.40$) по всем изученным генотипам между матерями и дочерьми, что указывают на возможность применения в стаде в качестве основного метода селекции отбора по собственной продуктивности.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволили сделать следующие выводы:

1. Наивысший удой 6258 кг у особей, имеющих генотип АА пролактина, у них же высокие показатели по массовой доле жира – 4,3%, и как следствие выше выход молочного жира. У коров, с аллелем В гена пролактина более высокая доля белка – 3,2% в молоке, но выход молочного белка выше у коров с генотипом АА.
2. За 305 дней лактации коров по гену тиреоглобулина наибольший удой – 6545 кг, имели особи с генотипом СС, при этом имея высокое содержание жира и белка в молоке.
3. Наибольшие показатели молочной продуктивности за 305 дней лактации имели коровы-первотелки с генотипом АА по гену ВLG – 6472 кг, но более высокие показатели по массовой доле жира и белка у животных, гомозиготных по аллелю В – 4,37% и 2,98%, соответственно. Наименьшие показатели получили, рассматривая продуктивность коров, имеющих генотип АВ, но коровы с данным генотипом занимают большую часть выборки, что говорит о том, что

- селекция по генетическим маркерам продуктивности в хозяйстве не проводится.
4. Характер молочной продуктивности в разрезе полиморфизма гена пролактина отличается высокой, но быстроспадающей лактацией, имея высокий коэффициент постоянства лактации – 98% для генотипа АА. У генотипов ТС и ТТ тиреоглобулина высокая устойчивая лактация, высокий коэффициент постоянства – 92%. Для гена бета-лактоглобулина наивысший коэффициент устойчивости лактации наблюдается лишь для генотипа АВ – 93%. У особей с другими генотипами высокая, но быстроспадающая лактация.
 5. Наименьшая предрасположенность к маститу наблюдается у коров с генотипом ТТ гена тиреоглобулина и генотипом АА бета-лактоглобулина. Для остальных особей с другими генотипами PRL, TG5, BLG также отмечено низкое содержание соматических клеток, ниже 500 тыс. соматич. клеток на 1 мл молока.
 6. Высокий индекс плодовитости наблюдается для всех животных, несущих полиморфные генотипы PRL, TG5, BLG, выбранных для исследования генов, но наибольший характерен для особей с генотипом АА гена BLG. Наибольшая продолжительность межотельного периода у животных, имеющих аллель В гена пролактина, и сервис-периода у животных, гомозиготных по аллелю Т гена тиреоглобулина. Наивысшая живая масса при отеле у животных, имеющих в генотипе пролактина аллель В.
 7. Увеличение продолжительности сервис-периода и межотельного периода не увеличивает молочную продуктивность за всю лактацию. Наибольшие потери молока при увеличении продолжительности сервис-периода 792 кг наблюдаются у животных, имеющих генотип ВВ бета-лактоглобулина, при продлении межотельного периода до 386 и более дней, наибольшие потери у коров с генотипом ТС тиреоглобулина – 772 кг молока. Но возрастание продолжительности межотельного периода приводит к повышению выхода молочного жира и белка.
 8. Низкий коэффициент наследуемости продуктивности выявлен для гена пролактина. Гены тиреоглобулина и бета-лактоглобулина имеют высокие показатели наследуемости молочной продуктивности.

Рекомендации производству

1. Следует проводить скрининг генов в совокупности со сбалансированным кормлением, соблюдением зоогигиенических норм и правил содержания. В этом случае скрининг окажется полезным.
2. Потомство, полученное от животных, имеющих желательный генотип, оставлять для дальнейшего использования на племя. Первотелок с генотипами, несущими низкие показатели по удою и качеству молока желательно выбраковать.

3. Не удлинять продолжительность сервис-периода более 90 дней и межотельного периода более 365 дней, потому как это ведет к потерям молока, в пересчете за 305 дней лактации.

Перспективы дальнейшей разработки темы: дальнейшие исследования могут быть направлены на всесторонний ДНК-анализ генов PRL, TG5 и BLG и других маркерных генов продуктивности крупного рогатого скота Республики Татарстан. Также планируется изучение более расширенного перечня биологических и продуктивных особенностей крупного рогатого скота в разрезе полиморфизма генов пролактина, тиреоглобулина, бета-лактоглобулина и других генов продуктивности.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Рачкова, Е.Н. Влияние сервис-периода на молочную продуктивность коров голштинской породы в связи с генетическими аспектами / Е.Н. Рачкова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2017. - Т. 230. - № 2. - С. 114-117.*
2. Рачкова, Е.Н. Оценка полиморфизма гена стеарол-коадесатуразы коров-первотелок голштинской породы в условиях Республики Татарстан/ Е.Н. Рачкова, Ф.Ф. Зиннатова, Ю.Р. Юльметьева и др. // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» - 2016. - С. 161-162.
3. Рачкова, Е.Н. Полиморфизм гена каппа-казеина в стадах крупного рогатого скота Республики Татарстан/ С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Л.Р. Загидуллин, и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2016. - Т. 225. - № 1. - С. 148-151.
4. Рачкова, Е.Н. Наследуемость молочной продуктивности в зависимости от полиморфизма гена бета-лактоглобулина/ Е.Н. Рачкова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2016. - Т. 226. - № 2. - С. 209-213.
5. Рачкова, Е.Н. Типы лактационных кривых и коэффициент постоянства лактации у коров с разными генотипами каппа-казеина/ С.В. Тюлькин, Л.Р. Загидуллин, Е.Н. Рачкова и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2016. - Т. 226. - № 2. - С. 213-217.
6. Рачкова, Е.Н. Ассоциация полиморфизма генов tg5 и lcr с динамикой лактации коров-первотелок/ Е.Н. Рачкова, Ф.Ф. Зиннатова, Ю.Р. Юльметьева и др. // Ветеринарный врач. - 2016. - № 6. - С. 61-66.*
7. Рачкова, Е.Н. Полиморфизм гена пролактина у телок голштинской породы/ Е.Н. Рачкова, Ф.Ф. Зиннатова, Ю.Р. Юльметьева и др. // Материалы Всероссийской научно-практической конференции, посвященной 95-летию со дня основания ТатНИИСХ «Повышение эффективности АПК в современных условиях» - 2015. - С. 522-526.

8. Рачкова, Е.Н. Влияние генетических аспектов на динамику молочной продуктивности голштинского скота. / Ю.Р. Юльметьева, Ф.Ф. Зиннатова, Е.Н. Рачкова и др. // Достижения науки и техники АПК. - 2015. - Т. 29. - № 11. - С. 99-101.*
9. Рачкова, Е.Н. Генотипирование ремонтного молодняка крупного рогатого скота для определения племенной ценности/ Ю.Р. Юльметьева, Ф.Ф. Зиннатова, Ш.К. Шакиров и др. // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2015. - № 223. - С. 243-248.*
10. Рачкова, Е.Н. ПЦР-ПДРФ на примере DGAT1-гена крупного рогатого скота/ С.В. Тюлькин, Р.Р. Вафин, А.В. Муратова и др. // Фундаментальные исследования. - 2015. - № 2-17. - С. 3773-3775.*

* - публикации в центральных изданиях перечня ВАК РФ.