

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной
медицины имени Н.Э. Баумана»

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

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
доцент Ахметов Т. М.

Казань – 2017

Содержание

	Стр.
ВВЕДЕНИЕ.....	4
ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
1.1 Генетические и экологические факторы, влияющие на продуктивные признаки молочного скота.....	10
1.2 Применение маркерной селекции для разведения крупного рогатого скота голштинской породы.....	13
1.3 Современные методы молекулярно-генетической диагностики.....	18
1.4 Полимеразная цепная реакция.....	22
1.5 Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) – как метод определения аллельного полиморфизма.....	26
1.6 Полиморфизм гена молочного белка – бета-лактоглобулина.....	30
1.7 Полиморфизм генов – гормонов – пролактина и тиреоглобулина.....	34
1.8 Влияние воспроизводительной способности коров на эффективность селекции.....	37
2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ	
2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	41
2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	
2.2.1 Полиморфизм гена пролактина крупного рогатого скота.....	47
2.2.2 Полиморфизм гена тиреоглобулина крупного рогатого скота.....	49
2.2.3 Полиморфизм гена бета-лактоглобулина крупного рогатого скота.....	51
2.2.4 Изучение взаимосвязи полиморфизма гена пролактин с молочной продуктивностью и качественным составом молока.....	53
2.2.5 Изучение взаимосвязи полиморфизма гена молочного гормона тиреоглобулин на молочную продуктивность и качественным составом молока.....	55

2.2.6 Изучение взаимосвязи полиморфизма гена молочного белка бета-лактоглобулина с молочной продуктивностью и качественным составом молока.....	57
2.2.7 Характер молочной продуктивности коров по генам пролактина, тиреоглобулина и бета-лактоглобулина.....	59
2.2.8 Взаимосвязь генов пролактина, тиреоглобулина, бета-лактоглобулина с предрасположенностью к заболеваемости маститом крупного рогатого скота.....	62
2.2.9 Анализ селекционно-племенной работы в исследуемом хозяйстве	
2.2.9.1 Определение плодовитости стада по индексу Дохи.....	66
2.2.9.2 Влияние продолжительности сервис-периода и межотельного периода на воспроизводительные качества.....	70
2.2.10 Степень наследуемости признаков.....	78
3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	80
РЕКОМЕНДАЦИИ ПРОИЗВОДСТВУ.....	87
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	88
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	90
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	115

ВВЕДЕНИЕ

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 результативная 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 [25].

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 [164].

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 [160].

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. По данным Закировой Г.М. (2011) 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 [33].

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 хозяйственно-ценных признаков.

Степень разработанности темы. 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; полиморфизмом гена тиреоглобулина занимались – 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 представленной работы является молекулярно – генетическое тестирование племенного стада крупного рогатого скота голштинской породы племхозяйства 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. 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 исследования. 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.

- 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.

- 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;

- 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 ВВ.

- 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 межжотельного периода, происходит у всех особей, которые были исследованы.

- степень наследуемости достаточно высокая по генотипам АВ + ВВ пролактина. По генотипу АА 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).

1 Обзор литературы

1.1 Генетические и экологические факторы, влияющие на продуктивные признаки молочного скота

Отбор животных с более высокой продуктивностью или улучшенными репродуктивными качествами имеют важное значение как для селекционеров, так и для потребителей. Современные технологии позволяют ученым повысить точность и эффективность традиционных методов селекции с использованием генетических маркеров и с помощью маркерной селекции. Таким образом, изучение генетических полиморфизмов, которые связаны с конкретными чертами продуктивности, очень полезно. Определение полиморфизмов в генах, связанных с продуктивностью и идентификацией аллелей признаков, определяющих фенотип, может представлять интерес в селекции с помощью маркеров. Пониманию генетических основ развития молочной железы и её функций уделяется особое внимание, поскольку повышение производства молока не должно ставить под угрозу здоровье животного. Изменения в производстве молока не могут быть приписаны только одному гену, так как секреторная активность молочных желез контролируется каскадом гормонов, транскрипционными факторами, ферментами, затронутых мутацией в течение многих лет, что, вероятно, и является причинами этих отклонений.

На молочную производительность коров оказывают влияние пара факторов, делящихся на группы:

- 1) обусловленные генетически (породные особенности, вид, племенная ценность родителей)
- 2) негенетические (кормление, содержание, климатические условия, время года, физиологическое состояние особи и тому подобное).

Разные причины оказывают отличное друг от друга действие на молочные надои, массовую долю жира: качественные показатели молока во

многим зависят от следующих факторов: генетических (40%), меньше – от экзогенных: здоровье животного (15%), климатические показатели (10%).

Породные особенности крупного рогатого скота позволяют определить на каком уровне может быть получен удой и какого качества продукция, отрегулировать методы ведения работ по селекции. Отличившиеся молочной продуктивностью породы, имеющие мировое значение, улучшаются с использованием чистого разведения. В молочном животноводстве, помимо чистопородного разведения, повсеместно используют скрещивание с наилучшими породами в мире, что позволяет увеличить скорость улучшения популяции генетически. Также в первом поколении помесей проявится эффект гетерозиса, выраженный, в своей основе, продлением временем производственного пользования животными.

Племенная ценность отцов и дочерей, II (дедушки, бабушки), III (прадедушки и прабабушки) степеней помогают в определении продуктивных качеств особей, в основном качественных показателей получаемого молока. Присутствие в предшествующих поколениях животных с высокой производительностью приводит к накоплению желаемых генов в генотипе, повышают возможность подобной производительности у потомков. Совершенствование отбора может гарантировать сохранность популяции, основанной на специализированных, по чертам, особей. ПЦ быков-производителей, интенсификация их отбора в несколько сотен раз больше, нежели у матерей, что должно явиться основной гарантией увеличения продуктивных показателей животноводства.

Если мы принимаем воздействие экологических факторов (кормление, условия при содержании, особенности технологии) на производство молока за 100%, на кормление придется 65-70%, на условия содержания - 10-15%, на технологию - 20-30%.

Кормление. Лишь питание, которое тщательно сбалансировано по всем показателям будет имеет возможность для обеспечения увеличения надоев молока и повышения содержания в нем молочного жира.

Содержание. Поддержание оптимальных параметров микроклимата имеет место быть при самых различных системах содержания крупного рогатого скота, то есть температура должна держаться в пределах 5 - 15 ° С; относительная влажность воздуха - от 70 до 75%; скорость воздушного потока - 0,5 м/сек, концентрация диоксида углерода - 0,25%. аммиака - 20 мг/м³; к тому же могут допускаться только малые следы сероводорода.

Технология. Технология - это создание важных процессов производства для разведения и высокопродуктивного использования скота. При подготовке и создании технологии выращивания и содержания, которые могли бы обеспечивать желаемые стандарты роста, производительности, срока и эффективности пользования животными, необходимо учитывать характеристики каждой отдельно взятой породы.

Сезон отела должен быть определен, как правило, технологическими требованиями и селекцией. При условии обеспеченностью кормовой базы появляется возможность для планирования круглогодичного отела, но все-таки делая основную ставку на пастбищно – сезонный период. В наших условия наибольшая продуктивность достигается при планировании отелов коров в осенне-зимние периоды.

Климатические и сезонные факторы. В дополнение к сказанному выше, также некоторое воздействие на производительность особей проявляют климатические и сезонные факторы. Наиболее продуктивные животные более чувствительны к сочетанию холода и повышенной влажности, чем к температуре, ниже заявленных требования для содержания крупного рогатого скота. К тому же переизбыток радиации, исходящий от солнца и холодная погоды, сопровождаемая регулярными дождями, могут снижать получаемые молочные надои на 8-10% [16].

1.2 Применение маркерной селекции для разведения крупного рогатого скота голштинской породы

Изрядное 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, прогресс изучения технологических свойств молока и здоровья вымени идет относительно медленными темпами [177].

Генетические маркеры - это измеримые различия в последовательности ДНК в популяции. Наиболее распространенные типы генетических маркеров, как правило, называются полиморфизмом, относятся микросателлиты, вставки (например, инсерции или делеции фрагментов ДНК), одиночные нуклеотидные полиморфизмы (SNP) и варианты замены (CNVs) [119].

Термин «геномная селекция» был предложен Хайли и Вишером в 1998 году, а Мовиссен с соавторами в 2001 году разработали принципиальную методологию аналитической оценки племенной ценности на основе ДНК-маркеров, которые охватывают весь геном животного.

Несомненно, начальным этапом геномной селекции является маркерная селекция. Известно, что большая часть хозяйственно-ценных селекционных признаков имеет полигенный характер, т.е. контролируется множеством генов. При этом изменчивость признаков под воздействием факторов внешней среды может достигать 50 %. В то же время имеются гены или группа генов, а точнее аллели этих генов, вклад которых в проявление того или иного признака продуктивности при любых условиях среды более значителен и имеет четко выраженный эффект. Такие гены называются основными генами количественных признаков (Quantitative Trait Loci, QTL). Молекулярно-генетические методы позволяют определить различия между животными по аллельным вариантам в локусах ДНК, которые или непосредственно влияют на проявление признака, либо связаны с QTL, что

делает возможным картировать эти локусы и проводить отбор животных непосредственно по генотипам, т.е. по генетическим маркерам. Такой подход получил название маркерной селекции или MAS-селекции (Marker Assisted Selection, MAS).

Как правило, фрагменты ДНК, которые расположены близко друг к другу на хромосоме, наследуются сцепленно. Это явление позволяет использовать генетические маркеры для локализации сцепленных с ними QTL. Ряд стран с развитым животноводством использовали MAS-селекцию для оценки животных в раннем возрасте до определения их племенной значимости по продуктивным показателям потомства. Однако результаты картирования QTL в ряде случаев не совпадали. Сайты сцепления, установленные учеными в одних популяциях животных, не подтверждались в исследованиях других, выполненных на животных других стад.

Не остается сомнений в том, что начальная стадия геномной селекции - это маркерный отбор. Разумеется, что большинство ценящихся в селекции признаков несут полигенный форму, то есть их контролируют различные гены. В то же время, признаки могут изменяться под воздействием факторов, которые оказывает окружающая среда. Такая изменчивость может достигнуть 50%. Также существуют гены или группы генов, или, вернее, аллели данных генов, которые оказывают четко выраженное, наиболее значительное действие на выражение тех или иных продуктивных признаков в самых разных условиях окружающей среды. Это основные гены количественных признаков (Quantitative Trait Loci, QTL). Методы молекулярно-генетического анализа дают возможность для определения различий между особями в аллельных вариантах по локусам ДНК, которые напрямую оказывают влияние на выражение какого-либо признака или связанные с QTL, именно это дает возможность сопоставить эти локусы и выбирать животных по подходящим генотипам - по генетическим маркерам. Этот подход к селекции был вызван маркерной селекцией или MAS-селекцией (Marker Assisted Selection, MAS).

Известно, что те фрагменты ДНК, которые располагаются рядом друг с другом на одной хромосоме, имеют сцепленный тип наследования. Этот эффект делает возможным использование генетических маркеров для локализации сцепленных с ними QTL. В ряде стран с животноводством, имеющим высокий уровень развития используют маркерную селекцию для бонитировки животных в самом раннем возрасте, еще до установления племенной ценности по показателям продуктивности их потомства. Но итоги картирования QTL не совпадали при ряде обстоятельств. Сайты сцепления, которые были установлены исследователями в одних популяциях, не нашли подтверждения в исследованиях, выполняемых на крупном рогатом скоте из других стад.

Удачи в улучшении методологии биологии и молекулярной генетики, приумножении фундаментальных знаний в данных областях науки позволили в 2010 году произвести расшифровку генома наиболее важных видов сельскохозяйственных животных - крупного рогатого скота, свиней, овец и произвести генотипирование изучаемых видов по сотням ДНК-маркеров. Выяснилось, что из всего большинства генетических маркеров, самым информативным и наиболее удобным для практического применения явился SNP (Single Nucleotide Polymorphism) или однонуклеотидный полиморфизм, то есть разница в ДНК-последовательности в один нуклеотид (A, T, C, G), который может оказаться основанием для изменений аминокислотной последовательности белка. От таких изменений зависит усилится или ослабнет цепь биохимических реакций в белке, и это, впоследствии, изменит проявляемость продуктивных признаков в том или ином направлении. За много лет исследований ученые установили, что сельскохозяйственные животные имеют несколько сотен тысяч продуктивных маркеров, в среднем 50 000 нуклеотидов, равномерно распределенных по геному в общем.

Основным преимуществом в селекции по геному является вероятность установления наследования в генах отдельных, несущих ценность аллелей

почти сразу же после появления на свет. Итак, племенная ценность генотипа животных может быть оценена напрямую, не только благодаря фенотипическому проявлению в ходе производственного использования. Так, селекционная ценность особи может быть предсказана с самого раннего возраста, что значительно способно повысить эффективность отбора при разведении.

Стоит заметить, что наибольшие успехи в применении геномной селекции на практике были достигнуты для голштинской породы крупного рогатого скота. Ученые из США доказали, что при сравнении средних значений племенной ценности предков с информацией о геноме быков, участвующих в исследовании, по SNP маркерам, имеется возможность прогнозировать генетическую способность передачи наследственных качеств с 60-70% уверенностью, при том, что при традиционной оценке эта достоверность составляет только 25 - 40%.

Другие результаты опытов в других странах лишь подтвердили, что использование генетических и статистических методов при бонитировке по происхождению, по качеству потомства, вместе с геномным скринингом, должны обеспечить уверенность в родословной с прогноз на 70%, в некоторых случаях, в частности, по такому признаку, как количество надоев молока - 90% [147].

Маркерная селекция представляет большой интерес как одна из разработок ДНК-технологий. Потенциальные плюсы маркер-ассоциированной селекции включают:

1) сокращение степени различия с превосходящими животными, которое может быть выявлено в раннем возрасте, даже до рождения;

2) точность прогнозируемых показателей (наследуемости, h^2), которая увеличивается, когда информация по ДНК-маркерам связывается с данными по продуктивности особи или предков особи. Для ряда обнаруженных ДНК-маркеров фактическое влияние локусов остается неизвестным до сих пор. Гены-кандидаты могут оказывать непосредственное влияние на

продуктивные признаки, и могут служить в качестве маркеров сцепления с другими генами, влияющими на признаки [192].

Химический состав имеет первостепенное значение. Кроме того, цены на молоко, рентабельность и экономичность его производства зависят от качества молока. Одним из методов совершенствования содержания и технологических свойств молока является использование информации о полиморфизме единичных генов, вовлеченных в формирование этих важных свойств.

Первый скрининг генов при оценке быков, родившихся и выращиваемых в России (на базе ОАО «Уралплемцентр»), и последующее сравнения с эталонной популяцией французского голштинского скота продемонстрировал, что 40% быков смогли улучшить свои рейтинги, 15% нашли подтверждение. Результаты ясно показывают, что имеется реальная возможность получить ценных племенных животных, способных получать высокие оценки, в Российской Федерации, а также указывают на то, что необходимо официальное признание органами управления племенным животноводством геномной оценки при селекции и широкое применение данной методики.

По словам К. Племяшова, решение этой насущной задачи непременно должно быть затронуто на уровне государственного законодательства. Эта проблема требует организации, на базе центральных научно-исследовательских институтов, молекулярно-генетических лабораторий, соответствующих современным требованиям, должна быть разработана база данных для определения внутрипопуляционного разнообразия пород, которые разводят в России. Что создаст основу для полноценной информативной популяции и позволит получать дополнительные реальные материалы по геномной селекции.

Осуществление быстрых и радикальных действий в этой области даст толчок для создания необходимой основы для развития отечественных животных с заранее известными продуктивными качествами, это в

дальнейшем даст возможность российским организациям, занимающимся племенным разведением скота, иметь конкуренцию с иностранными производителями племенного материала и получить потенциал для экспорта собственных племенных продуктов [77].

1.3 Современные методы молекулярно-генетической диагностики

Во второй половине 20-го века, менее чем за 50 лет произошли две революции в биологии – одна в биохимии белка, а затем в молекулярной генетике – с крупными последствиями как для фундаментальных исследований, так и для медицинского применения. Развитие биохимии белка (в конце 1950-х годов) привело к обнаружению многих белков с последующим изучением – с помощью кристаллографии – их трехмерной структуры и, параллельно с этим, их секвенированием (определение связывания аминокислот) [191].

Использование молекулярно-генетических технологий открывает путь для отбора животных в раннем возрасте (даже на стадии эмбриона); для отбора по широкому диапазону качеств и повышения надежности прогнозирования фенотипа зрелого индивида. Основные категории использования существующих вариантов генных достижений включают:

- Молекулярный анализ генетического разнообразия
- Идентификация и прослеживаемость животных
- Совершенствование репродуктивных качеств;
- Трансгенные животные;
- Манипуляции с генеративной линией;
- Селекция по признакам на основе генов;
- Здоровье животных: диагностика, профилактика и лечение;
- Жвачное и нежвачное питание и обмен веществ.

И именно поэтому молекулярная генетика наиболее подходит для совершенствования животных, чем другие науки.

Были разработаны методы изоляции генов животных и их характеристики. Первый подход заключается в определении последовательности ДНК, связанной с хозяйственными признаками локусов. Вторым шагом является включение идентифицированного гена в три карты: (I) физическая карта хромосомы (ДНК-последовательности, которые назначены на определенные сайты по конкретным хромосомам), (II) карта сцепления (где связь различных генов и маркеров назначается в той же хромосоме), (III) генетическая карта (где наследование хозяйственных признаков корректируется с наследованием генов и маркеров) [174].

Применение молекулярных маркеров может играть важную роль для совершенствования скота через обычные способы размножения. Молекулярные маркеры имеют различные возможности применения – короткодействующие применение или немедленное и долго действующее применение.

Технология ПЦР (полимеразной цепной реакции): ПЦР – это метод, который эффективно увеличивает количество молекул ДНК в логарифмической и контролируемой форме. ПЦР является серьезной научной разработкой, и фермент Tag-полимераза имеет важное значение для успеха ПЦР. Химия в ПЦР зависит от комплиментарности (соответствия) нуклеотидных оснований в двухцепочной спирали ДНК. Когда молекула ДНК нагревается в достаточной степени, водородные связи, удерживающие вместе двойную спираль, нарушаются, и молекула отделяется или денатурируется в одиночную цепь.

Использование ПЦР: ПЦР можно очень эффективно использовать для изменения ДНК. Модификация означает, что возможно направление мутации или делеции при помощи добавления эндонуклеазы рестрикции сайта и, таким образом, генерации нужного сайта. ПЦР имеет огромное влияние на все молекулярных исследований, в том числе и в области диагностики. ПЦР кардинально повлияла на диагностику наследственных и инфекционных

заболеваний. Сегодня ПЦР играет важную роль в генетической типизации организмов или особей и молекулярной эпидемиологии.

Технология секвенирования ДНК: секвенирование ДНК – это процесс определения точного порядка миллиардов химических строительных блоков (так называемых баз, и сокращенно А, Т, С и G), которые составляют ДНК. Технология секвенирования ДНК, используется в настоящее время государственные и частные исследователи для расшифровки генома человека, растений, животных и микроорганизмов.

Наивысшая резолуция изменений ДНК может быть получена с помощью анализа последовательности. Анализ последовательности обеспечивает фундаментальную структуру генных систем. Секвенирование ДНК, как правило, не практично, чтобы определить различия между животными для всего генома, но является жизненно важным инструментом при анализе структуры и экспрессии генов.

Секвенирование оказало помощь в разработке карт генома скота, был высокий уровень сохранения последовательности генов между людьми, крупным рогатым скотом, овцами, козами, свиньями и мышами. По такой причине, информация о локусах конкретных последовательностей ДНК, картированных у одного вида, помогает в отображении генома у других. Сопоставление видов скота в значительной мере способствует увеличению доступности за счет изучения человеческих и мышинных последовательностей.

Технология клонирования: технология клонирования позволяет генерировать популяцию генетически идентичных молекул, клеток, растений или животных. Потому что технология клонирования может быть использована для получения молекулы, клетки, растения и некоторых животных, область применения этой технологии чрезвычайно широка.

Молекулярное или генное клонирование: молекулярное или генное клонирование, процесс создания генетически идентичных молекул ДНК, обеспечило основу революции молекулярной биологии и является

фундаментальным и важным инструментом биотехнологии исследований, разработок и коммерциализации. Практически все области применения технологии рекомбинантной ДНК, от проекта генома человека в фармацевтической промышленности до производства трансгенных культур, зависят от молекулярного клонирования. Сделанные, в результате исследований молекулярного клонирования, открытия, включают в себя - выявление, локализацию и характеристику генов; создание генетических карт и секвенирование целых геномов; связывания генов с чертами и определение молекулярной основы признака.

Клонирование животных: клонирование животных помогло быстро внедрить усовершенствования в поголовье скота на протяжении более двух десятилетий и является важным инструментом для анализа последовательности с 1950-х годов. Хотя дебют в 1997 году овечки Долли, клонированной овцы, принес мысль о клонировании животных в общественное сознание, разработка клона животного не был новой. Рекомбинантные ДНК – технологии, в сочетании с клонированием животных, предоставляют нам прекрасные модели животных для изучения генетических заболеваний, старения и рака, и в будущем, поможет нам обнаружить лекарства и оценить другие формы терапии, такие как генная и клеточная терапия. Клонирование животных также обеспечивает исследователей в зоопарках инструментом, который может помочь сохранить вымирающие виды. Клонирование может также использоваться и серийно для животных.

Трансгенез: перенос генов (или трансгенез) означает стабильное включение гена другого вида таким образом, что он функционирует в принимающем виде и передается от одного поколения к другому. У млекопитающих передача в основном производится путем прямой инъекции чужеродной ДНК в ядро на ранней эмбриональной стадии. Поскольку требуется много отдельных этапов, процент успеха часто низок, и, как правило, составляет один или два процента. Это влечет огромные расходы в

случае использования у крупного рогатого скота; поэтому большая работа была проведена у мышей, свиней и овец [108].

1.4 Полимеразная цепная реакция

Системная биология принимает интегративный подход к изучению целых систем и систем взаимодействия. Области исследования геномики и протеомики усовершенствовали наше понимание системной биологии. Ни одна технология не оказала большего влияния на исследование системной биологии, чем полимеразная цепная реакция (ПЦР). За 25 лет, с момента своего изобретения, эта преобразующая технология оказала влияние в различных областях науки, но особенно полезна в решении центральных вопросов с транскрипционными и эпигенетическими правилами экспрессии генов [148].

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) был обнаружен Маллисом в 1983 году (Маллис и др, 1986, 1987), за это достижение, спустя десятилетие, он получил Нобелевскую премию. Осознание значимости метода ПЦР распространилось по всему мировому научному сообществу к концу 1980-х годов и начали публиковать научные статьи в отношении различных видов использования метода ПЦР. К 1990 году наблюдалось значительное объединение последовательностей генов 16S РНК, которые были созданы для филогении микроорганизмов и эти последовательности могут быть использованы для праймеров путем выравнивания последовательностей. Были разработаны новые методы секвенирования, техника для секвенирования и компьютерные программы для работы с информацией о последовательностях, которые значительно ускорили накопление генетических последовательностей для развития новых и лучших способов ПЦР-анализа. Использование интернета сделало возможным доступ к научной информации для сопоставления генетических последовательностей со всего мира. Генетические библиотеки (GenBank, EMBL, DDBJ)

продолжают накапливать широкий выбор генетической информации о последовательностях для разработки и проверки достоверности молекулярно-диагностических процедур, касающихся человека и ветеринарии, на основе болезнетворных агентов [154].

ПЦР является быстрым, недорогим и простым способом. Метод усиливает специфические фрагменты ДНК из небольшого количества исходного материала, даже при том, что источник ДНК является относительно низкого качества. Полимеразная цепная реакция не обязательно требует использование радиоизотопов или токсичных химических веществ, она включает получение образца ДНК, и основную смесь с праймерами, и затем детектирование продуктов реакции.

Стадии полимеразной цепной реакции:

Денатурация: Фрагмент ДНК нагревают при высокой температуре, которые трансформируют двойную спираль ДНК в одну нить, таким образом, эти нити доступны для праймеров.

Отжиг: Реакционную смесь охлаждают. Праймеры отжигают с комплементарными областями в нитях ДНК-матрицы, и образуются двойные цепи, снова, между праймерами и комплементарными последовательностями.

Элонгация: ДНК-полимераза синтезирует комплементарную цепь. Фермент считывает противостоящую последовательность нитей и расширяет праймеры путем добавления нуклеотидов в том порядке, в котором они могут создать пару. Весь процесс повторяется снова и снова.

Все стадии ПЦР проводят, один за другим, циклично. Цикл 1 выглядит следующим образом:

- Во время денатурации (около 1 мин при 95 ° C), нити ДНК расходятся с образованием одиночных цепей.
- В процессе отжига (около 1 мин при температуре в интервале от 45 ° C до 60 ° C), один праймер связывается с одной цепью ДНК, и также связывается с комплементарной нитью. Сайты отжига праймеров выбирают таким

образом, что они будут синтезировать ДНК в первичной интересующей области во время расширения.

- В процессе элонгации (около 1 мин при 72 ° C), синтез ДНК протекает через целевую область и для переменных расстояний в фланкирующей области, что приводит к "длинным фрагментам" переменной длины.

ДНК-полимераза, известная как "Taq полимераза", была назван в честь бактерии горячих источников *Thermus aquaticus*, из которой он был первоначально выделен. Фермент может выдерживать высокие температуры, необходимые для разделения ДНК – цепей, и можно оставить в реакционной пробирке.

Цикл нагревания и охлаждения повторяется снова и снова, стимулируя праймеры для связывания исходных последовательностей и вновь синтезированных последовательностей. Фермент снова расширяет последовательности праймера. Эта цикличность температур приводит к копированию, а затем копированию копий, и так далее, что приводит к экспоненциальному увеличению количества копий специфических последовательностей. Поскольку ДНК помещают в пробирку в начале в очень малых количествах, почти вся ДНК в конце циклов реакции копируется последовательностями.

Продукты реакции разделяют с помощью электрофореза в геле. В зависимости от количества произведенного, и размера амплифицированного фрагмента, продукты реакции могут быть визуализированы непосредственно путем окрашивания бромистым этидием или окрашиванием серебром, или с помощью радиоизотопов и авторадиографии [136].

Потенциал полимеразной цепной реакции значительно вырос, и разработано несколько методик, основанных по принципу молекулярной амплификации:

- ПЦР с использованием геноспецифических праймеров. В данном случае осуществления полимеразной цепной реакции происходит по классической схеме, при использовании двух различных праймеров, которые являются

специфичными к установленной нуклеотидной последовательности, чтобы идентифицировать ген, увеличить количество фрагмента для дальнейших исследований.

- ПЦР с неспецифическими (произвольными) праймеры. Это модифицированный метод ПЦР использует короткие ДНК-фрагменты, которые генетически неспецифичны для ДНК-мишени, именуется RAPD-PCR (random amplified polymorphic DNA - случайным образом амплифицированная полиморфная ДНК). Способ заключается в том, что в качестве праймера берут произвольный олигонуклеотид, имеющий способность к гибридизации с ДНК-мишенью и её амплификации. Сейчас технологию RAPD-PCR массово используют для изучения генома (генетическое картирование, исследование генетической структуры популяций, генотипирование, обнаружение маркерных признаков).

- Полиморфизм длин амплифицированных фрагментов. При сочетании приведенных современных генетических методик анализа привело к образованию и другого метода - полиморфизм длин амплифицированных фрагментов AFLP (amplified sequence polymorphism) [31]. Представленный метод имеет огромное достоинство: при использовании этого метода не нужно обладать знанием о первичной последовательности ДНК или нуклеотидной последовательности праймеров. Способ подразумевает: рестрикцию - на этой стадии геномную ДНК разрезают рестрикционными ферментами, внесение олигонуклеотидного праймера к фрагменту рестрикции ДНК. Формирование области ДНК-ДНК на концах фрагментов рестрикции есть универсальная цель амплификации, проходящая по фрагментам рестрикции. Так, путем изменения нуклеотидной последовательности праймеров и с использованием различных ферментов рестрикции, возможно достигнуть амплификации только некоторых фрагментов, которые могут быть применены в качестве отпечатка пальцев (фингерпринт).

Метод AFLP, используется для изучения полиморфизма ДНК, который может быть применен для картирования генома, а также для получения конкретного индивидуального геномного отпечатка пальца.

- ПЦР-ПДРФ. Востребованным способом исследования полиморфизма ДНК является метод ПЦР-ПДРФ, отличие которого от метода AFLPs, заключается в том, что сначала амплифицируется ДНК-мишень, и затем она подвергается воздействию разных ферментов рестрикции. Этот метод часто используется в геномной "дактелоскопии" индивидуумов, при оценке точечных мутаций, которые приводят к разным наследственным дефектам, и прямо или косвенно связаны с полезными хозяйственными признаками [23].

1.5 Полиморфизм длин рестриционных фрагментов (ПДРФ) – как метод определения аллельного полиморфизма

Наиболее удобным методом диагностики аллельного полиморфизма ряда генов, отвечающих за хозяйственно-полезные признаки сельскохозяйственных животных, является ПЦР-ПДРФ. Благодаря своей простоте и точности он получил широкое распространение в диагностических научно-исследовательских учреждениях.

ПЦР-ПДРФ представляет собой простой по выполнению анализ. Следовательно, анализ ПЦР-ПДРФ может быть реализован в лаборатории в течение короткого промежутка времени. Кроме того, этот метод является недорогим, не имеет высоких требований к современному оборудованию. Недостатком метода ПЦР-ПДРФ является то, что она требует относительно большого количества времени. Хотя эта методика имеет небольшую пропускную способность, так как время увеличивается за счет интеграции стадий амплификации, обработкой ферментом рестрикции и электрофорезом в микрочипе, другие процедуры генотипирования легче поддаются автоматизации. В целом, ПЦР-ПДРФ лучше всего подходит для исследования малого количества образцов [184].

Присутствие мест для рестрикции в геномной ДНК и их относительное положение, определяются только благодаря нуклеотидной последовательности ДНК-мишени, потому что сайт рестрикции - это и есть хорошо определяемая последовательность ДНК-нуклеотидов, которая легко может быть узнана и расщеплена рестриктазными ферментами. Таким образом, всякое мутационное изменение, которое изменяет нуклеотидную последовательность рестрикционного сайта разрушает его. Абсолютный распад исследуемой геномной ДНК с помощью ферментов рестрикции приведет к появлению сформированной последовательности ДНК-фрагментов, их количество и размер будет соответствовать тем отрезкам, где расположены сайты рестрикции. Путем гибридизации по Саузерну, для определения размера и относительного положения фрагментов рестрикции ДНК, используют электрофоретическое разделение. Мутационную изменчивости в сайтах рестрикции можно быстро обнаружить с помощью изменения длин ДНК-гибридизации с использованием рестрикционных фрагментов специфичными ДНК – зондами. Если в одном из рестрикционных сайтов присутствует мутация, то этот сайт останется целым после завершения расщепления рестриктазами, это ведет к примыканию ближайших фрагментов рестрикции ДНК, разделенных сайтом с мутацией, образуя более крупный фрагмент ДНК. Благодаря чему, длины рестрикционных фрагментов ДНК, которые содержат участки с мутациями, превращаются в полиморфное, и обнаруживается путем сравнения ДНК из различных баз при помощи метода ПДРФ.

Анализ полиморфизма длины рестрикционных фрагментов, который анализом ПДРФ (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP analysis) состоит из следующих шагов: выделение ДНК из генома, ее рестрикцию специфичной эндонуклеазой рестрикции, электрофорез ДНК-фрагментов, полученных в результате реакции и опознавание ДНК-фрагментов, которые содержат полиморфный рестрикционный сайт, через блот – гибридизацию по Саузерну.

Если отсутствует полиморфный сайт рестрикции на электрофореграмме или радиоавтографии (зависит от того, каким способом помечали ДНК-зонды) обнаруживается большой фрагмент, который соответствует по размеру ДНК-последовательности между парой смежных постоянных сайтов рестрикции для этой эндонуклеазы. Если реакция рестрикции присутствует на электрофореграммах полиморфного локуса, то отмечается наличие меньшего по длине фрагмента, который равен промежутку между полиморфным сайтом, и ближайшим константным местом сайта рестриктазы.

От местоположения, используемого для анализа ДНК-зонда, зависит с каким из двух фрагментов, примыкающих к полиморфному локусу, произойдет гибридизация. В отдельных случаях, есть возможность одновременной гибридизации с парой смежных фрагментов рестрикции, это происходит в том случае, когда подобранный ДНК – зонд, имеет комплементарную последовательность с содержащим полиморфный сайт рестрикции. Тем не менее, приведенные зонды не так часто находят применение в практических работах, потому что длины фрагментов рестрикции в десять и более раз продолжительнее, чем у ДНК-зонда, иногда может не удастся различить и клонировать фрагмент ДНК, который содержит полиморфный сайт рестрикции. Наиболее часто если нет рестрикции в полиморфном сайте, ДНК-зонд гибридизуется с фрагментом длиннее, а в присутствии рестрикции гибридизующийся отрезок будет иметь длину меньше.

Следовательно, за время исследований ДНК индивидов, у которых в обеих хромосомах есть сайт рестрикции в полиморфной области, идентифицируется на электрофореграммном геле как один бэнд в нижней части, подобающий более коротким фрагментам ДНК. У организмов, гомозиготных по мутационным изменениям в последовательности, которые изменяют полиморфный сайт рестрикции, один бэнд будет виден вверху на

геле, который соответствует с фрагментом, имеющим большую длину, в то время как для гетерозигот видны оба бэнда.

Анализ ПДРФ может намного упроститься тогда, когда есть возможность специфической амплификации области ДНК, содержащей полиморфный сайт рестрикции. Изучение положения данного локуса становится возможным с помощью полимеразной цепной реакции и рестрикцией амплифицированного фрагмента. В том случае, когда нет сайтов узнавания в изучаемом отрезке ДНК, длина амплифицированного фрагмента не поменяется после воздействия подходящей эндонуклеазой, в то время как полное соответствие полиморфного региона сайту рестрикции производят пару фрагментов, меньших по длине. Для гетерозигот наблюдается присутствие трех фрагментов, один из них соответствует длине амплификата до рестрикции, и два небольших фрагмента с одной общей длиной. Из чего можно заключить, что как при использовании блот – гибридизации по Саузерну, три возможных варианта генотипа подойдут к трем различным вариантам на электрофореграмме.

Первоначальное определение полиморфного сайта рестрикции, сопряженного с конкретными генами возможно лишь при присутствии подходящих ДНК-зондов. Следующие действия должны быть направлены на определение эндонуклеазы для рестрикции, позволяющий выявить полиморфизм. Для этого используется огромный спектр рестрикционных ферментов для геномной ДНК, которая выделена у нескольких особей, не являющихся неродственными, которые являются репрезентативной выборкой среди популяции. Далее анализ ПДРФ выполняется независимо для каждого из множества рестрикционных ферментов, с доступными ДНК-зондами. После идентификации полиморфизма в одной из популяций, такие же опыты, проводятся и в других популяционных группах.

Полиморфные сайты рестрикции – это двухаллельная система, так что и при достаточно высокой изменчивости сайта, количество гетерозиготных особей по данному локусу в популяционной группе не превысит 50 %. В то

же время, лишь в присутствии полиморфного сайт в состоянии гетерозиготности мутантные аллели можно отличить от нормальных, то есть провести молекулярную маркировку. Таким образом, информационный охват этого полиморфизма является не столь большим.

Способ ПДРФ-анализа обширно используют при молекулярно-генетических изучениях популяций, так как присутствие в геноме индивида рестрикционных фрагментов ДНК известного размера, представляет собой отличный генетический маркер и в то же время фенотипический признак, очень близко связанный с генотипом особи. Что дает возможность контролировать распространение данного маркера в популяции, передавая его из поколения в поколение и используются для составления генетических карт изученных особей классическими генетическими методами. ПДРФ – маркеры из-за их строгой привязки к известным локусам гена не проигрывают по информационному содержанию общим биохимическим маркерам и часто становятся более подходящие, чем сложные фенотипические признаки (например, окрас радужки глаза, окрас шерстного или волосяного покрова, внешний вид листа или цветка у растений), которые определяются большим количеством локусов генов [10].

1.6 Полиморфизм гена молочного белка – бета-лактоглобулина

Молоко – является одним из ценнейших продуктов, употребляемых человеком в пищу, который имеет биологическую природу и образовывается в молочных железах млекопитающих. Его компоненты имеют способность к усвоению около 95-98% [13].

По своему составу молоко представляет собой коллоидное соединение воды, молочного жира, белков, лактозы, липиды, органических и неорганических солей, газов, ферментов, витаминов и других веществ. Некоторых из основных компонентов молока, таких как казеин и молочный сахар, не существуют в каких-либо иных природных веществах [7].

При проведении оценки коров и родительского индекса быков молочных пород большую роль играет не только высокий уровень продуктивности молока, но и его качественные показатели. В основе конкурентоспособности молочного животноводства и молочной промышленности, лежит качество используемого сырья, и, в частности, содержание не только жира, но также и белка.

Как известно, белок молока важен для питания человека. Белки в молоке и молочных продуктах содержат незаменимые аминокислоты, и лучше усваивается организмом, в отличие от других белковых продуктов. Было установлено, что в молоке содержится 25% от употребляемого человеком белка.

Белки молока представляют собой комплекс высокомолекулярных органических соединений, содержащих С, Н, О, N, S, Р. Из этих компонентов образуются частицы структуры белка - аминокислоты, связанные друг с другом, соответствующей им пептидной связью. За функциональное разнообразие белковых свойств, его специфику отвечают, содержащиеся в нем азот и сера [182].

Все белки молока характеризуются наличием обусловленных генетически полиморфных вариантов, отличающихся одной или несколькими аминокислотами (генетический полиморфизм) [116].

Полиморфизм белков молока первоначально найден на уровне белков, благодаря эволюции молекулярно-генетической оценки, на уровне ДНК-последовательности генетического соответствия. Надо заметить, что, даже при изменении внешних обстоятельств и состояния организма, конкретный генотип определенного гена, остается его же маркером [9].

Бета - лактоглобулин – серосодержащий белок, может быть осажден сычужным ферментом. Впервые был выделен в кристаллическом виде в 1934 году из молока коровы [181]. Он является очень ценным компонентом молока, необходим для роста молодняка, и таким образом, является главным белком сыворотки молока. Ген бета-лактоглобулина является довольно

большим, и состоит из семи экзонов и охватывает около 4000 п.о. Длина цепи белка бета-лактоглобулина составляет 178 аминокислот.

В настоящее время известно 11 аллелей бета-лактоглобулина, обозначенных как А, В, С, D, Е, F, G, H, X, Dg и W из которых А и В являются доминантными [133]. Аллель В бета-лактоглобулина может быть принят в качестве основного, т.к. он является наиболее распространенным у большинства видов. Генетические различия между ним и другим распространенным вариантом А заключены в наличии двух аминокислотных замен 64 Гли → Асп и 118 Ала → Вал. Секвенирование гена бета-лактоглобулина до сих пор не завершено [9].

Различия в молекулярных формах одинаковых белков произошли благодаря мутационным процессам, а их закрепление произошло из-за микроэволюции в молочном скотоводстве. Наследование этих различий всегда происходит по законам Менделя и только благодаря аллельным генам. Такие генетические варианты имеют различия только в одной или двух аминокислотах, в остальном они имеют одинаковые аминокислоты. Молекула белка – это прямой продукт генов в составе ДНК, совокупность которых несет название триплета (кодона). Благодаря чему, становится не сложно определить нуклеотидную последовательность структурного гена, если есть информация о аминокислотной последовательности молекулы белка.

Исследование наиболее распространенных аллелей бета-лактоглобулина крупного рогатого скота - β -LgA, β -LgB, β -LgC, и β -LgD базируется на идентификации аллель-специфических точечных мутаций с помощью подходящих ферментов рестрикции.

Исследуя последовательности аллельных вариантов гена BLG, установили, обусловленность его полиморфизма точечными мутациями (базовые замены) в позиции 2206 в экзоне I, в позиции 3065 и 3109 экзона II [База генетического банка № X 14710] [34].

Массовая доля белка и его выход наиболее высоко оценены в скотоводческих программах настоящего времени. К этому приводит, среди прочего, склонность к глубокой переработке молока. Откуда следует, что его химический состав, имеет первостепенное значение. Кроме того, цена молока, себестоимость и эффективность производства весьма от него зависимы. Одним из способов улучшения технологических свойств молока является использование информации о полиморфизме некоторых генов, которые принимают участие в формировании этих важнейших качеств [42].

В последние года были частые попытки продемонстрировать связь между полиморфизмом и выходом молочного белка, химическим составом и технологией обработки коровьего молока [48].

Гены, кодирующие белки лактоглобулинов являются системой субмицеллярных частиц, инициирующих, при наличии $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, появление больших мицелл, которые стабилизируются по поверхностям CSN_3 . И чем больше размер мицеллы, тем более стабильна молочная каллоидная система, и лучше сыродельческие качества. Белки бета-лактоглобулина и каппа-казеина находится в области шестой хромосомы, создают в группе сцепления кластер с длиной фрагментов приблизительно 200 - 250 тысяч. Обычное содержание молочных белков сохраняется в организме особей, путем баланса между различными типами казеинов и бета-лактоглобулина. Уменьшение количества в организме одного из них приведет к компенсаторному повышению содержания другого [93].

1.7 Полиморфизм генов – гормонов – пролактина и тиреоглобулина

Пролактин

Пролактин представляет собой полипептид, гормон, который синтезируется и секретируется в основном специальными клетками (лактотропами) в передней доле гипофиза. Кроме того, он производится многочисленными другими клетками и тканями, в том числе и молочной железы. Эксперименты по разрушению гена пролактин доказали свою существенную роль в развитии молочной железы (маммогенез), лактогенезу, поддержании секреции молока (лактация) и экспрессии генов молочного белка. Ген пролактина (PRL), является отличным кандидатом для анализа сцепления гена с локусами количественных признаков (QTL), влияющих на качественные показатели молока. Ген был картирован на хромосоме 23 и составляет 10 kb, состоит из пяти экзонов и четырех интронов, кодирующий предшественник 229-аминокислоты пролактина. Связующий пептид содержит 30 аминокислот; таким образом, пролактин состоит из 199 аминокислот [166].

Пролактин участвует в нескольких биологических функциях, связанных с размножением, осморегуляцией, разрастании покровов и взаимном усилении действия со стероидами. Это необходимо для инициации и поддержания лактации; он действует на уровне молочных желез - альвеол, способствуя синтезу и секреции белков, лактозы, липидов и других важных компонентов молока. Он также регулирует иммунологические функции и участвует в клеточной дифференциации и росте [109].

Итак, подводя итог, можно сказать, что пролактин выполняет следующие функции в организме:

- 1) осморегуляторную функцию у млекопитающих – пролактин принимает участие в регуляции водно-электролитного баланса в почках,

мочевом пузыре, потовых железах, ободочной кишке, и в молочных железах [183];

2) иммуномодуляторную функцию - пролактин задействован в регуляции гуморального и клеточного иммунитета - секреция антител, пролиферация клеток иммунной системы. Аутопаракринная регуляция иммунного ответа пролактина говорит о секреции пролактина иммунными клетками [130];

3) пролактин связан с размножением – он регулирует репродуктивную функцию у млекопитающих на всех этапах - от полового созревания и заканчивая вскармливанием своего потомства. Данный гормон выполняет важную функцию в регуляции работы яичников: пролактин - один из гонадотропных гормонов, который регулирует стероидные ферменты в яичниках [113];

4) воздействие на эндокринные процессы и обмен веществ - пролактин регулирует метаболизм липидов и углеводов у млекопитающих, изменяет стероидогенез в некоторых эндокринных органах. Пролактин влияет на рецепторы эстрогена, фолликулостимулирующего гормона, принимает активное участие в формировании собственных рецепторов во многих тканях;

5) функцию, связанную с регулированием роста и дифференцировки - пролактин, как и гормон роста, оказывает влияние на рост, и как следствие, они имеют максимально гомологичные молекулы;

б) регулирование поведения [175].

Количество пролактина увеличивается в течение последних недель беременности и в период лактации. Известно, что способность синтезировать пролактин имеют некоторые ткани и органы, среди них: тимус (timoциты), головной мозг (нейроны), молочные железы (эпителий), костный мозг (лимфоидные клетки), простата и другие.

Существует единственная форма пролактина, но надо сказать, что у крупного рогатого скота есть несколько генов, кодирующих пролактин - похожие белки [206].

Пролактин стал популярным генетическим маркером и используется для генетической характеристики популяции крупного рогатого скота с использованием ПЦР-ПДРФ. Этот маркер также был ранее использован для изучения возможных связей между аллелями гена пролактина и признаками молочной продуктивности [166].

Тиреоглобулин

Наиболее распространенным белком щитовидной железы является тиреоглобулин, и является предшественником гормонов щитовидной железы Т3 и Т4. Они высвобождаются путем гидролиза йодированного тиреоглобулина и секретируются в кровь. Гормоны щитовидной железы выполняют важную роль в регуляции обмена веществ и влияют на рост клеток и дифференцировку тканей, гомеостаз жира в организме, принимают участие в формировании жировых клеток

Как известно щитовидная железа состоит из небольших фолликулов, выстланных одним слоем кубического эпителия - тироциты. Эти клетки синтезируют предшественника тироидных гормонов - тиреоглобулин, который входит в просвет фолликула, где "дозревает", а затем обратно проникает в клетки [107].

Тиреоглобулин – это одним из ключевых белков щитовидной железы и выступает в качестве матрицы для образования гормонов щитовидной железы, к тому же для депонирования их внутри железы и ограниченного высвобождения по дозам.

Многие исследования показали, что у скота молочного направления, тиреоглобулин оказывает влияние на выход молочного жира и его процентное содержание в молоке. Ген тиреоглобулина, расположен на

центромерном конце хромосомы 14 и содержит 37 экзонов. Молекулярная масса составляет 660 кД и содержит 115 остатков тирозина. Следует отметить, что 8 - 10% TG представлены углеводами. Ген тиреоглобулина у крупного рогатого скота был секвенирован Дж. Парма и его соавторами.

Ген гормона щитовидной железы TG5 считается геном-кандидатом для QTL, оказывающий влияние на способность накапливать жиры. Тиреоглобулин находится в центромерной области 14ой хромосомы. Она же содержит QTL, имеющие связь с содержанием жира в молоке. Выявлена ассоциация генотипа TC TG5 с жирномолочностью молока коров [15].

Эндонуклеаза рестрикции BstYI разделяет ген тиреоглобулина 473 п.о. на доли, имеющие длину 295 и 178 п.о. Цельный фрагмент говорит о том, что индивидуум несет гомозиготную аллель TT. Гомозигота с противоположной аллелью CC нежелательна для разведения [11].

Для желаемого T аллеля гена TG5 ученые доказали рецессивный тип наследования. Это значит, что положительный эффект проявляется только тогда, когда животное гомозиготно по аллелю T. Таким образом, гомозиготный генотип TT может обеспечить высокий уровень продуктивности молока и мраморности мяса [123].

1.8 Влияние воспроизводительной способности коров на эффективность селекции

Получение молока от молочных коров выросло примерно на 20% за последние 10 лет. В то же время показатели репродуктивной эффективности ухудшились. Основываясь на анализе больших наборов данных, очевидно, что существует антагонистическая связь между продуктивностью и воспроизводством молока; однако влияние увеличения производства молока на воспроизводство относительно меньше по сравнению с влиянием других факторов.

Высокую молочную продуктивность не следует путать с отрицательным энергетическим балансом. Коровы подвергаются нормальному процессу выделения питательных веществ и мобилизации жировой ткани во время ранней лактации. Отрицательный энергетический баланс и потеря веса происходят во время ранней лактации, когда потребности в питательных веществах для поддержания и лактации превышают способность коровы потреблять энергию из кормов. Несколько исследований показывают, что влияние молочной продуктивности на воспроизводительную функцию можно наблюдать только у наиболее продуктивных коров.

Коровы первой лактации представляют большой процент дойных коров. У коров первой лактации более низкий энергетический баланс, потому как они едят меньше кормов и имеют потребность в энергии для роста в дополнение к лактации. Первотелки с более низким энергетическим балансом имеют продолжительные интервалы до первой овуляции и подвержены большему риску неудачи зачатия при первом осеменении [151].

Цель поддержания хороших показателей при беременности коровы в стаде, в современных производственных системах, является проблемой из-за больших стад, системы организации отелов, которые не всегда способствуют обнаружению течки, идентификации коровы и внедрению системы сбалансированного питания, которые отвечали бы требованиям отдельных коров во время сервис-периода и периода лактации, которые в конечном итоге влияют на репродуктивную эффективность [195].

Успешная программа восстановления зависит от многих факторов. Наиболее важным является состояние коров и телок во время отела и уровень кормления после отела. Неадекватное питание перед отелом приведет к более плохому состоянию организма и увеличению количества дней от отела до первой течки. Снижение потребления энергии после отела приводит к снижению уровня зачатия на ранних стадиях [133].

Улучшение эффективности и точности обнаружения течки также увеличивает индивидуальный удой молока. Пожизненная молочная продуктивность увеличивается, поскольку эффективность обнаружения течки возрастает, показатели беременности также увеличиваются, а это значит, что в среднем у коров в стаде больше лактаций в течение их жизни. При каждой лактации корова достигает пика молочной продуктивности, и поэтому удлиняется срок пожизненной молочной продуктивности, если корова остается здоровой [120].

Эффективность воспроизводства телок, коров и быков чрезвычайно важна для определения точной продуктивности коровы. Прощлые исследования показали, что многие из показателей воспроизводства имеют низкую наследуемость и будут медленно реагировать на селекцию. Некоторые из этих признаков состояли из нескольких компонентов. На эти сложные признаки сильное влияние оказывают экологические факторы, маскирующие выражение любых генетических различий между животными с их генетическим потенциалом, который мог быть использован для эффективного воспроизводства. Поэтому был сделан акцент на улучшение технологии и питания и использовании энергетического баланса, оказывающего влияние на организм в результате использования систем скрещивания для повышения эффективности репродуктивного здоровья [145].

Интенсивный отбор для высокой продуктивности молока среди различных коров молочного направления продуктивности за последние 20-30 лет усиливает проблему отрицательного энергетического баланса животных в раннем развитии лактации. В результате, по мере увеличения производства молока считается, что снижение воспроизводства связано с молочной продуктивностью. Следует отметить, что наследуемость репродуктивных признаков очень низкая (менее 0,1), и попытки улучшить этот показатель путем отбора все еще неэффективны. На этом этапе требуют дальнейшего

изучения поиск возможностей для создания высокопродуктивных животных, устойчивых к болезням и адаптированных к воспроизводству.

Научный курс состоит в том, что существуют значительные различия между показателями репродуктивной функции дочерей разных быков и коров отдельных семей. Есть доказательства того, что качества воспроизводства матерей передаются дочерям. Поэтому необходимо использовать более сложные методы отбора, основанные на оценке и идентификации генотипов отдельных животных, создании высокопродуктивных семейств и линий. Эйснер Ф.Ф. внес предложение проводить массовый отбор в соответствии с инденомиальным методом, включая показатели рождаемости. Следует отметить, что значительное влияние на воспроизводство молочных стад оказывают отцы и материнский организм.

Массовый отбор коров по фертильности не очень эффективен. Улучшение таких качеств, как продолжительность сервис-периода, межотельный период и оплодотворение, должны быть реализованы, главным образом, за счет комплекса мер по воспроизводству, полноценного кормления и содержания молочного скота. Однако приведенные ниже данные показывают относительно высокое наследование предрасположенности к функциональным нарушениям яичников.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

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

2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

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

За период проведения исследований, все опытное поголовье крупного рогатого скота находилось в одинаковых условиях кормления, технологического содержания, ветеринарного обслуживания, а хозяйство было благополучно 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.

Количество соматических клеток, содержащихся в 1 мл анализировали при помощи прибор «Соматос-В». Для получения возможности измерения количества соматических клеток в отобранных пробах был использован препарат «Мастоприм», согласно методике, прилагаемой производителем.

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-ПДРФ.

Полиморфизм гена пролактина определяли методом полимеразной цепной реакции, с дальнейшим использованием, метода определения полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ), на

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

PRL1: 5'-CGAGTCCTTATGAGCTTGATTCTT-3',

PRL2: 5'-GCCTTCCAGAAGTCGTTTGTTTTC - 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, Таq-буфер x1 – 2 мкл, 1 ед Таq 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 рестрикционных 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.

Статистическая обработка полученных данных

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

Частоту встречаемости генотипов определяли по формуле Г.Н. Шангина-Березовского [49]:

$$p = \frac{n}{N}, \text{ где}$$

p – частота определения генотипа,

n – количество особей, имеющих определенный генотип,

N – общее число особей.

Частоту отдельных аллелей определяли по формуле Е.К. Меркурьевой [49]:

$$P_A = (2n_{AA} + n_{AB}) : 2N$$

$$q_B = (2n_{BB} + n_{AB}) : 2N, \text{ где}$$

P_A – частота аллеля А,

q_B – частота аллеля В,

N – общее число аллелей.

Формулы для определения коэффициента наследуемости по однофакторной дисперсии:

$$C_y = \sum v^2 - H, \text{ где}$$

H – промежуточная величина, она равняется: $H = \frac{(\sum v)^2}{n}$,

$$C_x = \sum h_x - H,$$

где $\sum h_x = \frac{(\sum v)^2}{n}$,

$$h^2 = \frac{C_x}{C_y}, \text{ где}$$

C_y – общая дисперсия,

C_x – факториальная дисперсия.

Индекс плодовитости коров. Обобщенный показатель, отражающий пожизненную плодовитость самки. При его определении наряду с межотельным периодом учитывается возраст коровы при первом отеле. Определяется по формуле: $T = 100 - (K + 2i)$,

где T – индекс плодовитости коровы;

где K – возраст коровы при первом отеле, мес.;

i – средний межотельный период, мес.

Для оценки избытка гетерозигот в изучаемых выборках животных использовали χ^2 – квадрат (Е. К. Меркурьева [49]):

$$\chi^2 = \sum \frac{(H_o - H_e)^2}{H_e}, \text{ где}$$

H_o – наблюдаемая гетерозиготность,

H_e – ожидаемая гетерозиготность.

Соответствие фактического и ожидаемого распределения генотипов проверяли методом χ^2 -квadrat. Число степеней свободы равнялось числу генотипов минус число аллелей.

Ожидаемую гетерозиготность рассчитывали по формуле Ф. Айала:

$$H_e = 1 - (p^2 + q^2), \text{ где}$$

H_e – ожидаемая гетерозиготность,

p – частота аллеля А,

q – частота аллеля В.

Коров, отобранных для исследования, распределили по продолжительности сервис-периода по группам: в I группу вошли коровы с продолжительностью 60 – 90 дней, во II группу – 91 – 120 дней, и в III – 121 дней и более. По продолжительности межотельного периода особи были распределены следующим образом: первая группа с продолжительностью МОП 365 – 386 дней, вторая группа – продолжительностью 386 дней и более. Продолжительность сервис-периода, межотельного периода и удои за лактацию устанавливали по данным индивидуального компьютерного учёта в программе СЕЛЭКС.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Полиморфизм гена пролактина крупного рогатого скота

После проведения ПЦР-анализа были определены генотипы пролактина для всех 184 коров-первотелок голштинской породы, включенных в исследование. При амплификации ДНК, выделенной из цельной крови исследуемых животных с праймерами PRL1: 5'-CGAGTCCTTATGAGCTTGATTCTT-3', и PRL2: 5'-GCCTTCCAGAAGTCGTTTGTTC-3' получены фрагменты длиной 156 п.н. гена пролактина, выявлено два аллеля гена пролактина – А и В и отмечено наличие трех генотипов – PRL^{AA}, PRL^{AB} и PRL^{BB}.

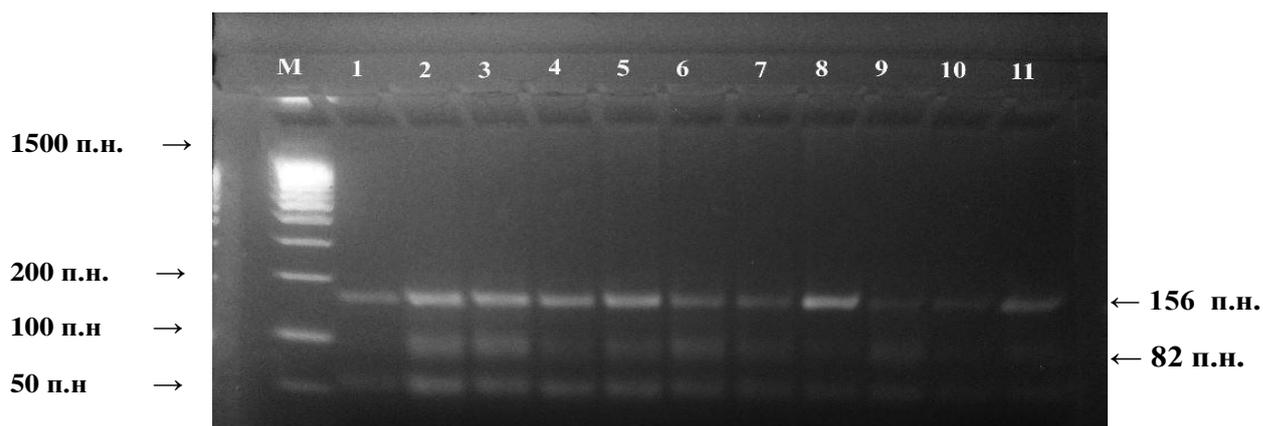


Рисунок 2 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена пролактин крупного рогатого скота с праймерами PRL1+PRL2 и эндонуклеазным расщеплением ферментом *RsaI*

Обозначения: М) ДНК-маркеры 1500 – 50 bp (СибЭнзим); 1) генотип AA (156 bp); 2) 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 генотип AB (156/82 bp).

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. Потому как такая низкая численность животных с генотипом ВВ сложна для биометрической обработки, мы объединили животных с генотипами АВ и ВВ в единую группу.

Таблица 1 - Полиморфизм гена PRL

Показатель	Количество голов (n)	Частота генотипов				Частота аллелей		χ^2
		AA		AB+BB		А	В	
		n	%	n	%			
Наблюдаемое распределение генотипов	184	135	76,9	49	23,1	0,867	0,133	1,23
Ожидаемое распределение генотипов		138	75,1	42	23,1			

Полученное значение хи-квадрата равно 1,23. Это значение меньше стандартного значения и, как следствие, в исследованной популяции соблюдается генное равновесие, согласно закону Харди-Вайнберга.

2.2.2 Полиморфизм гена тиреоглобулина крупного рогатого скота

При исследовании гена тиреоглобулина, влияния его на молочную продуктивность коров-первотелок, нами были определены генотипы для 184 голов. Для гена тиреоглобулина характерно преобладание аллеля С – 0,71, в то время как частота встречаемости аллеля Т у данного гена составляет – 0,29.

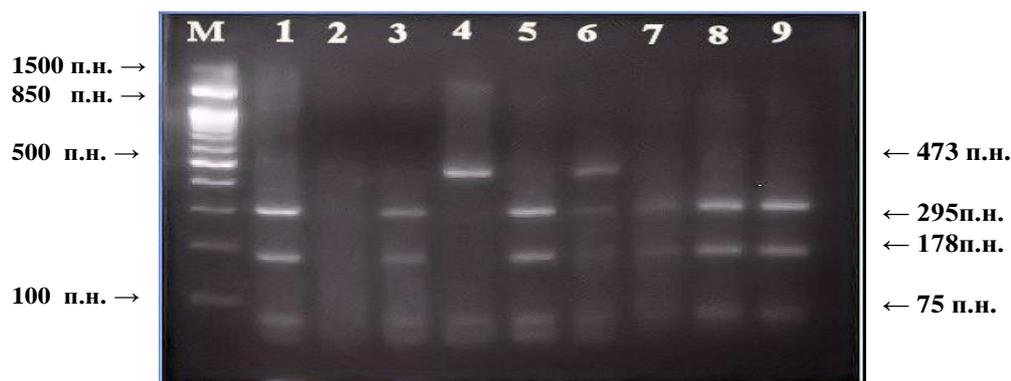


Рисунок 3 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ гена тиреоглобулин крупного рогатого скота с праймерами TG5f+TG5r и эндонуклеазным расщеплением ферментом *BstX2I*

Обозначения: М) ДНК-маркеры 1500 – 100 bp (СибЭнзим); 1, 2, 3, 5, 7, 8, 9) генотип СС (295/178/75 bp); 4) генотип ТТ (473/75 bp); 6) генотип ТС (473/295/178/75 bp).

Для гена TG5 наиболее часто встречается генотип СС – у 96 голов или 51%, генотип ТС выявлен у 68 голов (38%), и наименее распространенный генотип ТТ – 20 голов из 184 – 11% от общего поголовья.

Таблица 2 - Полиморфизм гена TG5

Показатель	n	Частота генотипов						Частота аллелей		χ^2
		СС		ТС		ТТ		С	Т	
		n	%	n	%	n	%			
Наблюдаемое распределение генотипов	184	96	51,3	68	38,2	20	10,6	0,707	0,293	2,02
Ожидаемое распределение генотипов		92	49,9	76	41,5	16	8,6			

При расчете по методу хи-квадрата получили значения 2,02 по гену TG5, которое оказалось меньше табличного значения, указывающим на то, что в представленной популяции сохранено генное равновесие в локусе тиреоглобулина.

2.2.3 Полиморфизм гена бета-лактоглобулина крупного рогатого скота

Аллель В бета-лактоглобулина может быть принят как основной, так как он чаще других встречается у большинства пород крупного рогатого скота. Генетические различия между ним и другим распространенным аллелем А BLG выявляются в позиции 64, где в результате мутации второго основания триплета GGT на GAT происходит аминокислотное замещение Гли на Асп, а также в позиции 118, где GCC меняется на GTC и соответственная замена аминокислот Ала на Вал.

При исследовании мы успешно определили генотип BLG для выборки коров в количестве 184 голов. Для изученного гена характерно небольшое преобладание аллеля В – 0,52, частота аллеля А, в свою очередь, 0,48.

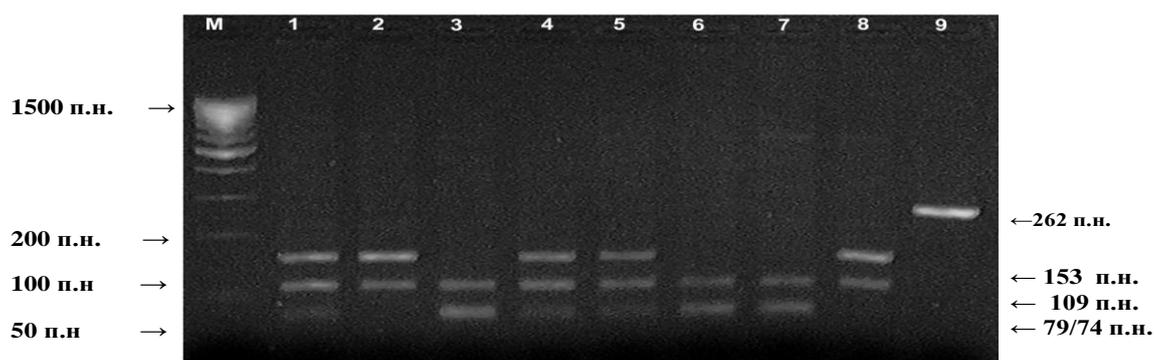


Рисунок 4 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДФ гена

бета-лактоглобулина крупного рогатого скота с праймерами BLGP3+BLGP4 и эндонуклеазным расщеплением ферментом *HaeIII*

Обозначения: М) ДНК-маркеры 1500 – 50 bp (СибЭнзим); 1) 1 цельный ПЦР-фрагмент (262bp); 2) 1, 3, 4 генотип АВ (79/74/109/153 bp); 3) 2, 8 генотип АА (153/109 bp); 4) 3, 6, 7 генотип ВВ (79/74. 109).

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.

Таблица 3 - Полиморфизм гена BLG

Показатель	n	Частота генотипов						Частота аллелей		χ^2
		АА		АВ		ВВ		А	В	
		n	%	n	%	n	%			
Наблюдаемое распределение генотипов	184	34	18,5	107	58,2	43	23,4	0,476	0,524	5,2
Ожидаемое распределение генотипов		42	22,6	92	49,9	51	27,5			

Полученное, по методу хи-квадрата, значение 5,2. И, следовательно, фактическое значение показателя уровня значимости больше табличного, , из чего следует, что в данной популяции генное равновесие смещено в сторону аллеля В в локусе бета-лактоглобулина.

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

При проведении исследований нами был рассчитан родительский индекс быка и изучена продуктивность женских предков подопытных коров.

Таблица 4 - 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*

Выявлена взаимосвязь между молочной продуктивностью матерей и полиморфизмом изучаемого гена у коров-первотелок. Наибольший удой матерей отмечен для дочерей с генотипом АА, в то время как меньшая продуктивность характерна для матерей исследуемых коров-первотелок с генотипами АВ + ВВ. Так, удой матерей, дочери которых имеют генотип АА, был достоверно больше на 312 кг, или на 5,1% ($p < 0,001$), удоя матерей, у дочерей которых выявлен генотип АВ и ВВ.

При рассмотрении родительского индекса быка по молочной продуктивности предков имели незначительное преимущество потомки с генотипами АВ + ВВ по гену пролактина, что составило 148 кг, или 1,2%. По массовой доле жира в молоке высокий родительский индекс быка также отмечен у коров, имеющих генотипы АВ + ВВ и составляет 4,02%, с различием 0,1% от животных с генотипом АА. Однако, различия по родительскому индексу быка недостоверны, и, носят лишь характер тенденции.

Таблица 5 - Молочная продуктивность за полную лактацию коров-первотелок в разрезе полиморфизма гена пролактина

Гено тип	n	Удой, кг	Массовая доля жира, %	Массовая доля белка, %	Молочный жир, кг	Молочный белок, кг
AA	135	6258 ± 109,5*	4,3 ± 0,12	3,1 ± 0,02	201,9 ± 10,42***	145,1 ± 6,11
AB + BB	49	6010 ± 204	4,2 ± 0,22	3,2 ± 0,05***	181,7 ± 16,46	139,5 ± 12,40

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

По массовой доле жира в молоке преимущество имели коровы-первотелки с генотипом AA, что численно равно 4,3%, это на 0,1% больше, чем с генотипами AB+BB. Однако, по массовой доле белка в молоке достоверно имели преимущество коровы-первотелки с генотипами AB + BB, где этот показатель составил 3,2% против 3,1% ($p < 0,001$).

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

Однако полученные данные по массовой доле жира и выходу молочного белка оказались недостоверны, являются тенденцией, и требуют дальнейшего исследования.

Таким образом, наивысший удой по гену пролактина был отмечен у коров, с генотипом AA пролактина, также у приведенных особей высокие показатели по массовой доле жира, соответственно отмечен более высокий выход молочного жира. Для животных, несущих вариант B гена пролактина

установлена более высокая доля белка в молоке, но тем не менее выход молочного белка выше у коров с генотипом АА.

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

На основании имеющихся данных о продуктивности женских предков быков-производителей, мы рассчитали для них ожидаемую племенную ценность или родительский индекс.

Таблица 6 - 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 наблюдается у матерей исследованных коров – первотелок с генотипом СС, наименьший, в свою очередь – у женских предков коров с генотипом ТТ. Таким образом, материнский удой первотелок с генотипом СС гена TG5 высокодостоверно превосходит над удоём потомков с генотипом ТТ на 971 кг или 14,8% ($p < 0,001$).

Рассматривая родительский индекс быка, более продуктивными оказались потомки с генотипом ТТ гена тиреоглобулина, но по массовой доле жира достоверно превосходят потомки, имеющие генотип СС, над особями с генотипом ТТ, на 5%. Надо заметить, что данные по молочной продуктивности быка несут лишь характер тенденции.

Таблица 7 - 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

Достоверно наиболее высокая продуктивность по всем представленным показателям наблюдается у особей, имеющих генотип СС гена TG5. Так, коровы – первотелки, имеющие 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, достоверно, имели коровы-первотелки 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.

Итак, наивысшие показатели по молочной продуктивности коров достоверно наблюдаются у животных, гомозиготных по аллелю С гена тиреоглобулина.

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

Таблица 8 - 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 изученных коров-первотелок находится почти на одном уровне, небольшое отклонение, в большую сторону, наблюдается у матерей коров, имеющих генотип АВ.

Продуктивность, по родительскому индексу быка, наибольшей оказалась у дочерей, имеющих генотип ВВ гена бета-лактоглобулина. Наименьшие показатели имеют потомки с генотипом АВ. Полученные данные не достоверны, и несут характер тенденции.

Таблица 9 - 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**

Достоверно наибольшим удоем по собственной продуктивности отличились коровы-первотелки с генотипом AA гена бета-лактоглобулина, превосходя сверстниц на 694 кг или 10,7%. Наибольшая массовая доля жира и белка в молоке наблюдается у особей, имеющих генотип BB. Наименьшие данные по всем показателям получены для генотипа AB.

Также получены достоверные данные по выходу молочного жира и белка в молоке. Так, первотелки с генотипом BB превосходят особей с генотипом AB на 55,7 кг или 19% по молочному жиру, и на 26,8 кг (13,5%).

Подводя итог по полиморфизму гена бета-лактоглобулина, можно сказать что наибольший удой отмечен у коров с генотипом AA, но по остальным показателям более превосходящие показателя у особей, гомозиготных по аллелю B.

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

Кривая лактации дает ценную информацию о характере продуктивности молока во время лактации. Она также отображает характеристику молочной продуктивности, определяемой биологической продуктивностью коровы. Затраты на производство молока в значительной степени зависят от стойкости лактации, то есть от скорости снижения продуктивности после максимального выхода молока. Высокая стойкость связана с медленным снижением уровня продуктивности молока, тогда как низкая стойкость связана с быстрым снижением молочной продуктивности. В целом снижающийся темп производства молока составляет около 7% в месяц после пикового выхода. Модели лактационной кривой используются для прогнозирования выхода молока в любой точке лактации. Данное свойство моделей кривых может оказаться полезным в случае неполных записей о лактации.

За время исследования, по месяцам лактации, динамики продуктивности коров были выделены четыре типа лактационной активности:

первый тип – особей можно охарактеризовать высокой устойчивой лактацией, физически сильные, имеют высокую производительность молока и могут долго поддерживать интенсивный обмен веществ;

второй тип – животные, имеющие этот тип, отличаются высокой, но малоустойчивой динамичностью лактации, другими словами, продуктивность снижается следом за получением максимального удоя, затем снова повышается во 2ой половине лактации. Графически эта лактационная деятельность выглядит как двухвершинная лактационная кривая. Эта лактационная кривая характерна для животных со слабой конституцией;

третий тип - у коров 3го типа наблюдается высокая, но не стабильная, быстро падающая лактация. У животных, в среднем, низкие удои за

лактационный период, а также возможна сердечно-сосудистая недостаточность;

четвертый тип – коровы отличаются низкой устойчивостью лактации. В основном к этому типу принадлежат маломолочные коровы.

В ходе наших исследований были построены лактационные кривые по изучаемому поголовью для каждого отдельно взятого генотипа гена пролактина. Выявлено, что коровы-первотелки с генотипом AA имеют высокую устойчивую лактацию.

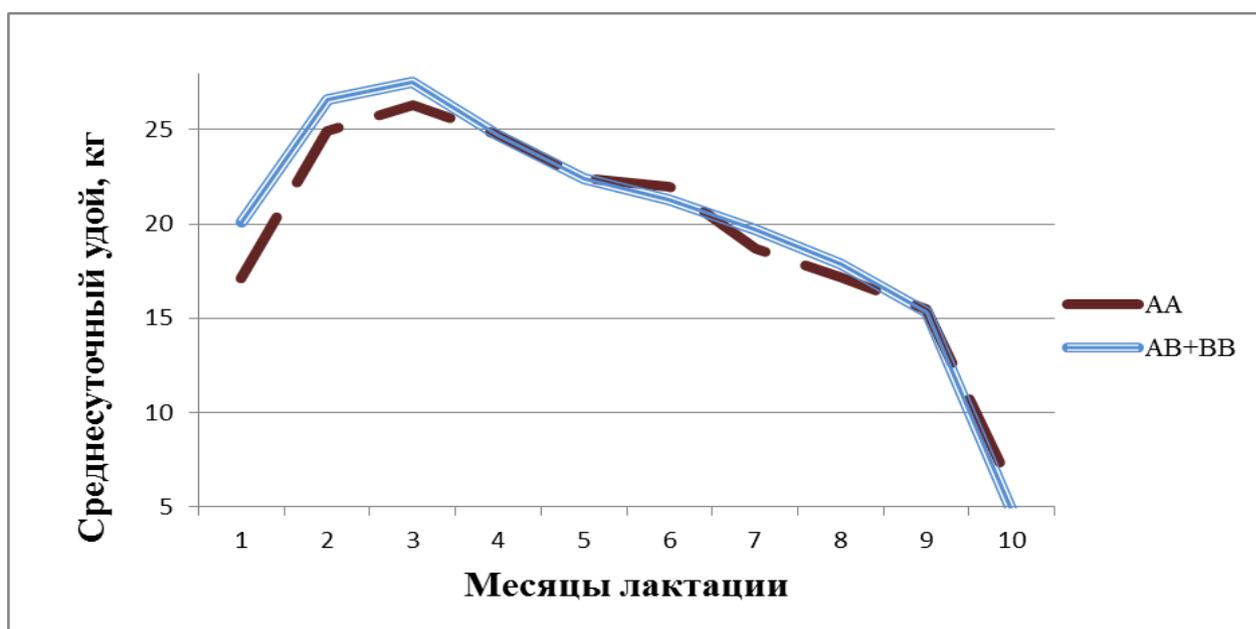


Рисунок 5 - Характер лактации коров по гену пролактина (PRL) по генотипам

По графику лактационных кривых можно наблюдать небольшие различия между ними. Обе лактационные кривые показывают, что у коров – первотелок высокая и быстро снижающаяся лактация. О различиях говорит коэффициент постоянства лактации, который составил 98% у коров-первотелок с генотипом AA. У особей с гетерозиготным и гомозиготным генотипами (AB + BB) коэффициент устойчивости был равен 92%.

Для изучаемого гена тиреоглобулина, нами построены лактационные кривые, по каждому отдельно взятому генотипу.

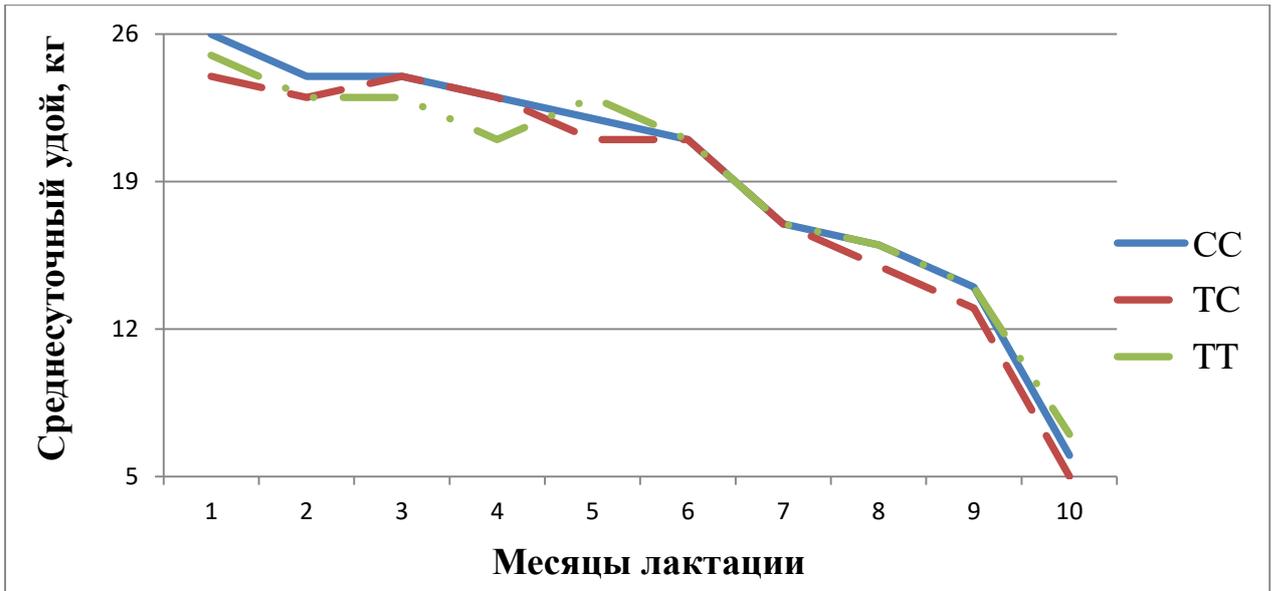


Рисунок 6 - Динамика молочной продуктивности коров в разрезе генотипов гена TG5

Из представленного графика видно, что лактационные кривые по различным генотипам не имеют существенных различий, и указывает на то, что у исследованных коров – первотелок высокая устойчивая лактация. О различиях можем судить по коэффициенту постоянства лактации, так у генотипа CC он составил 89%, для TC и TT – 92%.

Для гена бета-лактоглобулина также была построена лактационная кривая.

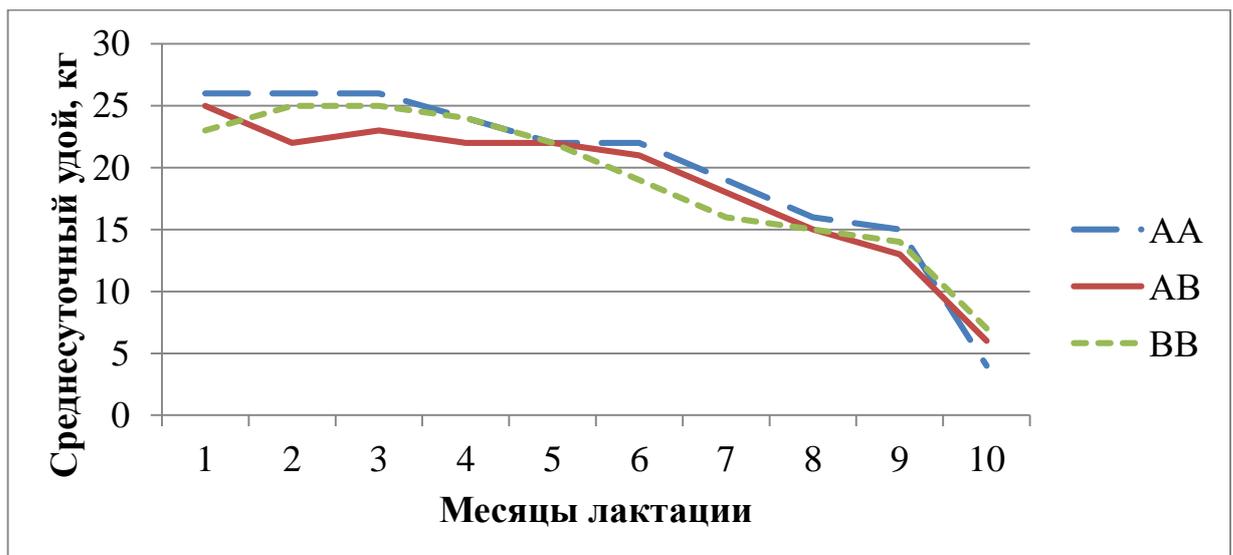


Рисунок 7 - Характер молочной продуктивности коров с различными генотипами гена BLG

На нашем графике заметно, у коров, имеющих генотипы АВ гена бета-лактоглобулина сильная и устойчивая лактация. У животных с генотипом АА высокая, неустойчивая лактация, быстроспадающая. Сильная, неустойчивая лактация наблюдается у особей, имеющих генотип ВВ. При этом коэффициент постоянства лактации генотипа АА – 84%, генотипа АВ – 93%, и, в свою очередь, коровы с генотипом ВВ имеют коэффициент постоянства лактации – 88%.

Из всего выше сказанного следует, что по гену пролактина высокая, но быстроспадающая лактация, при этом достаточно высокий коэффициент постоянства лактации. Для генотипов ТС и ТТ тиреоглобулина высокая устойчивая лактация, что подтверждает и коэффициент постоянства. 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

Молочные коровы составляют 84% мирового производства молочной продукции [165], поэтому, следовательно, большой интерес представляет продуктивный потенциал и здоровье этих животных. До недавнего времени большинство международных программ разведения продуктивного молочного скотоводства были направлены исключительно на увеличение производства молока, однако, цели селекционных программ разнообразили, включили, в частности, состояние здоровья и функциональные признаки, для того, чтобы минимизировать и остановить спад этих признаков [134]. Важнейшим из этих признаков, связанных со здоровьем, является мастит (обычно измеряемый с использованием показателя соматических клеток (SCS) в качестве индикатора), который является одним из самых важных и

дорогостоящих производственных заболеваний в молочной промышленности. Отбор для улучшения характера молочной продуктивности и снижения количества соматических клеток (свидетельствующих о повышении резистентности к маститу) может быть усовершенствован посредством идентификации локусов количественных признаков (QTL), связанных с этими, нас интересующими признаками, позволяя выводить и понимать генетические и молекулярные механизмы, лежащие в основе локусов количественных признаков, связанных с молочной продуктивностью и количеством соматических клеток. Данная проблема была широко рассмотрена, среди прочего, Хаткарром [118] и Смаградовым. [155]. Наибольшее распространение QTL молочных признаков было обнаружено на хромосомах 1, 3, 6, 10, 14 и 20, тогда как QTL количества соматических клеток чаще всего наблюдались на хромосомах 5, 8, 11, 18 и 23. Во многих из рассмотренных исследований использовались исследования, основанные на родственных связях и микросателлитных маркерах для идентификации областей генома, связанных с определенным признаком, однако эти исследования часто ограничивались относительно низким числом генетических маркеров, редко распределенных по геному.

Пролактин, который, как полагают, присутствует у всех позвоночных, участвует во множестве биологических механизмов. Более 300 различных действий были приписаны этому универсальному гормону. Хотя PRL исторически хорошо известен своей ролью в развитии лактации и развитии молочной железы, он также участвует в различных физиологических механизмах, размножении и иммунорегуляции [137]. Широкую функцию пролактина подтверждают огромное количество тканей, снабженных PRL-рецепторами. Гипофизарный пролактин крупного рогатого скота представляет собой полипептид, состоящий из 199 аминокислот весом около 23 kDa. Гормон в первую очередь, хотя и не исключительно, производится лактотрофами в переднем гипофизе. Другие органы, участвующие в выработке пролактина: яичники, матка, различные области головного мозга,

кожа, селезенка, тимус, миндалины и лимфатические узлы. Молочная ткань также способна синтезировать пролактин. PRL крупного рогатого скота также ограничивает перенос иммуноглобулинов из материнской циркулирующей крови в молозиво, уменьшая экспрессию IgG1-рецептора в молочной ткани.

В дополнение к своей роли в лактации PRL также действует как иммуномодулирующий фактор. Предыдущие исследования показывают, что PRL может также играть роль в здоровье вымени молочного скота. Всплеск PRL происходит во время отела, что совпадает с феноменом периферической иммунодепрессии. Ранее предполагалось, что PRL противодействует иммунодепрессии, вызванной глюкокортикоидными гормонами. Хотя концентрация PRL в крови не отличается между здоровыми коровами и коровами, с клиническим или хроническим субклиническим маститом, существует положительная корреляция между количеством соматических клеток в молоке, выдоенном из инфицированного вымени и концентрацией пролактина. Однако, PRL также может вызывать противовоспалительные реакции. Добавление PRL к клеткам молочной железы, инфицированной *S. aureus*, даже способствует интернализации возбудителя мастита (Gutierrez-Barroso et al., 2008), тем самым обеспечивая постоянный иммунитет. Кроме того, *S. aureus* обладает способностью ингибировать PRL-зависимую активацию NF-κB, которая подавляет врожденный иммунный ответ носителя. Понятно, что эпителиальные клетки молочной железы могут распознавать и реагировать на патогены как часть врожденного иммунного ответа. В целом, роль пролактина крупного рогатого, как потенциального цитокина в системе защиты молочной железы еще не определена. Физиологическая роль его окончательно не выяснена, но почти все известные эффекты так или иначе связаны с размножением и молочной продуктивностью.

Таблица 10 - Содержание соматических клеток в молоке в зависимости от генотипа генов TG5, PRL и BLG

Генотип		п	Удой за лактацию, кг	Количество соматических клеток, тыс./мл	Массовая доля жира, %	Массовая доля белка, %
TG5	СС	96	6545***± 122,3	321±17,3	4,20± 0,141	2,96±0,038
	ТС	68	5830± 155,5	329**±19,9	3,82± 0,112	2,92±0,056
	ТТ	20	5993± 346,9	266±28,1	3,79± 0,187	2,83±0,135
PRL	АА	135	6258± 109,5	316±14,4	4,31± 0,024	3,1±0,024
	АВ+ВВ	49	6010± 204,0	324±22,1	4,20± 0,223	3,2**±0,046
BLG	АА	34	6472± 237,2	297±22,0	4,20± 0,327	2,93±0,082
	АВ	107	5778± 127,6	325±17,4	3,99± 0,089	2,92±0,042
	ВВ	43	6432± 215,1	322±23,8	4,37**± 0,224	2,98±0,035

Содержание соматических клеток в исследованном молоке значительно выше у коров, имеющих генотипы СС и ТС тиреоглобулина. Для генотипа ТТ мы наблюдаем наименьшее количество соматических клеток, а, следовательно, и наименьшую предрасположенность к маститу, среди всех участвующих в опыте генов и их генотипов. Но для приведенного генотипа характерно пониженное содержание жира и белка, в сравнении с другими генотипами тиреоглобулина.

Предрасположенность к заболеваемости маститом была почти одинакова при разных генотипах пролактина. Так у коров, гомозиготных по аллелю А, количество соматических клеток в молоке составило 316, а у особей, имеющих аллель В в генотипе по пролактину количество составило 324 соматические клетки. Но влияние гена пролактина на иммунный ответ требует дальнейших и более расширенных исследований.

Наименьшая предрасположенность к маститу, в разрезе полиморфизма гена бета-лактоглобулина была нами выявлена для генотипа АА, также коровы, несущие этот генотип, отличаются высокими удоями. Показатели остальных двух генотипов находятся на одинаковом уровне, но коровы с генотипом ВВ имеют достоверно высокую массовую долю жира в молоке.

Итак, проанализировав предрасположенность к маститам по трем генам – пролактин, тиреоглобулин и бета-лактоглобулин- мы можем сказать, что 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. Стоит заметить, что для всех генотипов изучаемых генов низкое содержание соматических клеток, ниже 500 тыс. соматических клеток на 1 мл молока. И, следовательно, хозяйство в целом благополучно по заболеваемости маститом крупного рогатого скота. Из чего, можно сделать вывод, что данные гены наиболее подходят для маркерной селекции по молочной продуктивности, нежели для генов-маркеров заболеваемости маститом.

2.2.9 Анализ селекционно-племенной работы в исследуемом хозяйстве

2.2.9.1 Определение плодовитости стада по индексу Дохи

Основными особенностями молочного скотоводства, при разведении, имеющими большую экономическую и хозяйственную ценность -

продуктивность, репродуктивные способности, конституцию и продолжительность хозяйственного использования. Немаловажную роль выполняет здоровое и систематическое размножение, потому как лактация может начаться исключительно вследствие рождения теленка. Экономическая рентабельность отрасли имеет прямую зависимость от плодовитости и скорости воспроизводства скота.

В прошлом веке предложена формула по установлению плодовитости стада для молочных коров, по которой индекс плодовитости (ИП) - это разница между цифрой 100 и возрастом коровы при первом отеле в месяцах в сумме с удвоенным периодом межотельного периода (в месяцах):

$$\text{ИП} = 100 - (K + 2i),$$

где ИП является индексом плодовитости, K - это возраст коровы при первом отеле, i - величина периода между отелями. Принято считать, что при ИП равному 48 и выше - плодовитость хорошая, равному 41-47 - средняя, а 40 и менее - низкая.

Известно, что репродуктивная функция коров отличается низкими значениями коэффициента наследуемости. Но отдельные исследователи предполагают, что, вопреки этому, нельзя ей пренебрегать, производя оценку коров. Низкая степень наследуемости не говорит о том, что генотип не влияет на признаки репродуктивной способности. Это показатель аддитивной генетической дисперсии фертильности. Она невелика, но остается возможность, что на данный признак наибольшее влияние может оказывать несколько пар генов.

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.

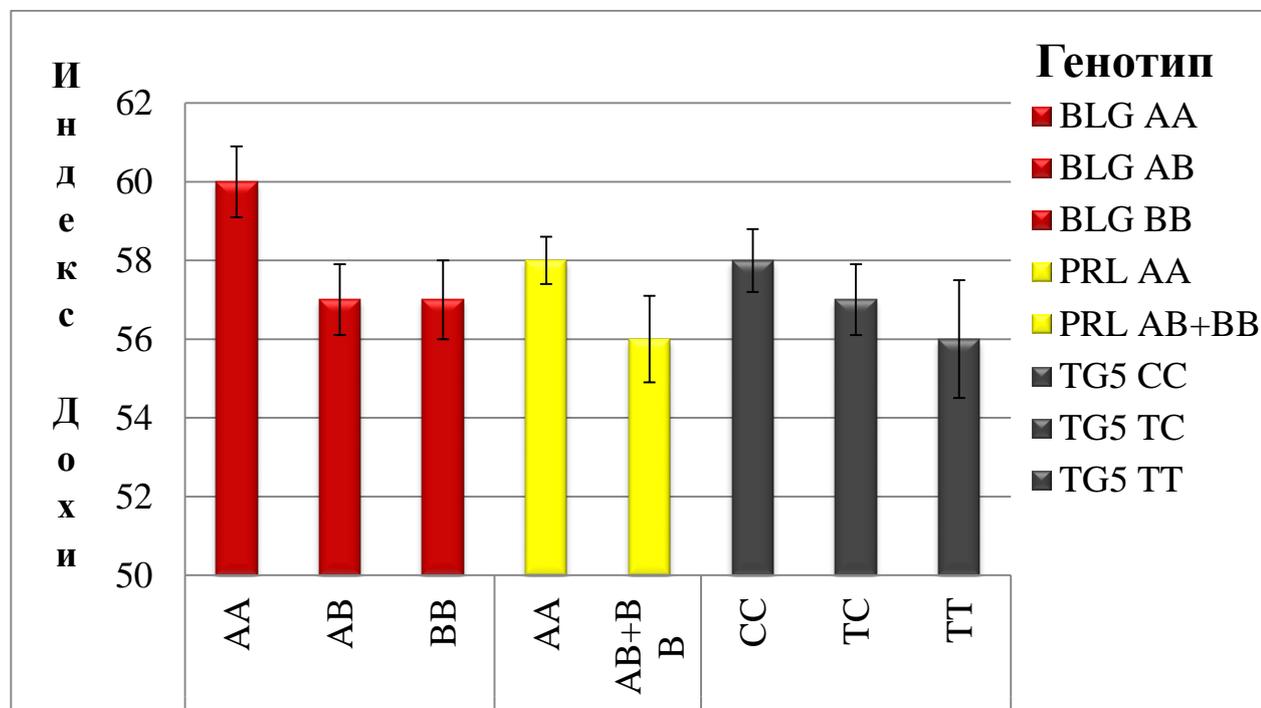


Рисунок 8 - Ассоциации изучаемых генов с индексом плодовитости

В представленной графике все животные, с исследуемыми нами генотипами имеют высокий индекс плодовитости - выше 48, что говорит о том, что уровень плодовитости в выбранном для исследования хозяйстве на хорошем уровне. Тем не менее, наивысший показатель плодовитости наблюдается у особей, имеющих генотип AA по гену бета-лактоглобулина. Хотя и все показатели находятся приблизительно на одном уровне, наименьшие у генотипов AB+BB гена пролактина и генотипа TT тиреоглобулина.

Обсуждая каждый отдельно взятый ген, нужно заметить, что наибольший индекс плодовитости для гена тиреоглобулина, у коров, несущих генотип CC; по гену пролактину наибольшим показателем отличаются животные, гомозиготные по аллелю А.

Таблица 11 – Показатели воспроизводительной способности и продолжительность межотельного периода у коров различных генотипов по изучаемым генам

Генотип		n (%)	Возраст первого осеменения, мес.	Возраст отела, мес.	Живая масса при первом осеменении, кг.	Живая масса при первом отеле, кг.	Сервис-период, дн.	Межотельный период, дн.
TG5	CC	96	16,6±0,31	25,6±0,31	394,3±4,59	484,4±10,77	115,4±10,67	400,9±7,96
	TC	68	16,6±0,44	25,6±0,44	392,1±7,55	491,3±11,12	112,9±10,70	398,3±9,95
	TT	20	15,1±0,82	24,1±0,82	383,3±9,83	525,5±24,79	167,1±25,70	452,9±5,27
PRL	AA	135	16,4±0,29	25,4±0,29	391,7±4,08	486,8±8,49	115,0±7,88	400,8±7,19
	AB+BB	49	16,3±0,51	25,3±0,51	394,0±8,24	506,8±17,82	140,6±20,46	426,7±3,49
BLG	AA	34	15,9±0,53	24,9±0,53	405,9±4,76	464,2±10,24	95,2±11,8	380,5±9,91
	AB	107	16,5±0,37	25,5±0,37	388,3±5,79	499,7±12,03	128,5±11,92	414,9±8,05
	BB	43	16,6±0,43	25,6±0,43	388,3±7,04	500,2±15,39	129,9±15,22	415,3±11,19

Продолжительность межотельного периода наибольшая у коров, имеющих генотип ТТ по гену тиреоглобулин составила 14,2 месяца. Также у этой группы наименьший возраст первого осеменения, и, соответственно, наименьшая живая масса при первом осеменении. Особи с генотипами гена тиреоглобулин СС и ТС, имеют практически одинаковый возраст при первом осеменении и отеле, и живую массу при первом осеменении.

Коровы, обладающие генотипом АА гена пролактин, отличаются меньшей продолжительностью межотельного периода, нежели коровы с генотипом АВ+ВВ. В тоже время коровы с гомозигонным генотипом АА имели более продолжительный сервис-период. Наивысшая живая масса при отеле у животных, имеющих аллель В гена пролактина, превышала живую массу особей имеющих в генотипе пролактина лишь аллель А на 3% или 15,9

кг ($P < 0,01$). По остальным показателям генотипы PRL относительно не отличаются друг от друга.

По гену бета-лактоглобулина наименьшая продолжительность межотельного периода у коров, несущих генотип AA – 12,1 месяцев, причем, это значение наименьшее не только по гену BLG, но и по всем генотипам исследуемых генов. Для животных с генотипами AB и BB бета-лактоглобулина продолжительность межотельного периода оказалась одинакова и составила 13,3 месяца.

Наибольшая продолжительность сервис-периода отмечена была у животных, гомозиготных по аллелю T тиреоглобулина, наименьшим же количеством дней сервисного периода отличились коровы, несущие генотип AA бета-лактоглобулина.

В итоге, мы видим, что наивысший показатель уровня плодовитости у генотипа AA гена бета-лактоглобулина, также у животных из этой группы достоверно выше живая масса при первом осеменении. Но высокий индекс Дохи наблюдается для всех генотипов, выбранных для исследования генов, то есть выше 48. При анализе воспроизводительных качеств выяснилось, что наибольшая продолжительность межотельного периода и сервис-периода у животных, гомозиготных по аллелю T гена тиреоглобулина. Наивысшая живая масса при отеле у животных, имеющих в генотипе пролактина аллель B.

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

Процесс воспроизводства рассматривается как цельный биологический процесс, продуктивная способность особи и продолжительность лактационного периода выступают его важными составляющими. Пока ученые не пришли к единому мнению о том насколько удои влияют на репродуктивные качества, тем не менее, часто ученые в своих опытах

замечают, что показатели воспроизводства имеют тенденцию к снижению на фоне высокого удоя. Что выступает свидетельством того, что, если принять некоторые меры, действие которых направленно на повышение продуктивности, репродуктивная способность особей останется на прежней точке или становится ниже.

Главным способом преувеличения производства продукции животноводства является разумное пользование генетическими ресурсами животных.

Период между отелами выступает в качестве одного из главных показателей репродуктивной способности крупного рогатого скота. Также межотельный период является количественным признаком, который способен изменяться непрерывно, включая эпизоды сбоев и играет большую экономическую роль во время планирования сезона отела.

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.

Длительность лактационного периода в молочном скотоводстве, зависит от двух факторов: 1) продолжительности сервис - периода (времени с того дня как коровы отелилась и до ее продуктивного осеменения); 2) сухостойного периода (запуска). Укороченный сервис-период приводит к снижению продолжительности лактации, из чего следует, что снижаются, и удои за текущую лактацию, так как стельность, в частности во второй половине беременности, сводится к снижению удоев.

Из приведенной таблицы следует, что 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.

**Таблица 12 - 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

Таким образом, молочная продуктивность коров в разрезе полиморфизма гена пролактина снижается в корреляции с продолжительностью сервис-периода. По генотипу АВ+ВВ гена пролактина потери по молочному жиру и белку наименьшие, нужно заметить, что с увеличением продолжительности сервис-периода качественная продуктивность данных особей имеет тенденцию к увеличению.

Наименьшей потерей молока, отличаются коровы, которые имеют генотип ТТ по гену тиреоглобулина. Так, при увеличении сервис-периода до 90-120 дней у животных с приведенным генотипом имеет место увеличение среднесуточных удоев, и как следствие, при увеличении сервисного периода от животных с генотипом ТТ тиреоглобулина можно получить на 24 кг больше молока, в сравнении со стандартной продолжительностью в 60-90 дней.

Наибольшие потери молока при увеличении сервис-периода от 60 дней до 91-120 дней наблюдаются у коров, имеющих генотип АВ по гену бета-лактоглобулина от которых недополучено на один день периода между отелами 4,2 кг молока, а за весь период 252 кг. При увеличении продолжительности сервисного периода до 120 дней на 4,5 кг и 540 кг, соответственно. В свою очередь в период от 60 до 121 и более дней наибольшими потерями недополученного молока в сутки характеризуется животные, имеющие генотип ВВ по гену ВLG. Таким образом, за сутки, потери составляют 6,6 кг, и за весь период 792 кг. Наивысшими потерями молочного жира и белка характеризуется генотип АА бета-лактоглобулина при повышении продолжительности сервис-периода.

Исходя из приведенных данных, можно сделать следующее заключение, что увеличение продолжительности сервис-периода не увеличивает молочную продуктивность и выход молочного жира и белка. Следовательно, увеличение его продолжительности более 90 дней экономически нецелесообразно.

Таблица 13 - Воздействие продолжительности межотельного периода на среднесуточные потери молока

Продолжительность МОП, дней	Показатели	Генотипы							
		TG5			PRL		BLG		
		СС	ТС	ТТ	АА	АВ+ ВВ	АА	АВ	ВВ
	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
Среднесуточ ный 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
Недополу чено молока в сутки по сравнени ю с МОП в 365 дней, кг	1,2	2,0	0,3	1,4	1,6	1,1	0,9	1,9
Недополу чено молока за весь МОП, кг	463	772	116	540	618	425	347	733

Коровы, имеющие генотип ТС гена тиреоглобулина, при продолжительности межотельного периода в 365 дней отличаются, от животных с другими генотипами этого гена, наивысшим среднесуточным удоем - 20,5 кг, но у коров с высокой продолжительностью межотельного периода значительно ниже среднесуточный надой молока, из чего следует, что удлинение МОП приводит к наибольшим потерям молока. Тем не менее, у животных, гомозиготных по аллелю Т наблюдаются наименьшие суточные потери молока, что в сравнении с животными, имеющими гетерозиготный генотип меньше на 1,7 кг, или 85 %.

Особь, гомозиготные по аллелю Т тиреоглобулина имеют наивысшие показатели по содержанию жира и белка в молоке при продолжительности межотельного периода 365-385 дней, но при удлинении МОП содержание жира в молоке возрастает у коров, имеющих генотип СС, и резко снижается у коров, с генотипом ТС.

Анализ гена пролактина показал, что от особей с генотипом АА недополучено на 0,2 кг или на 12,5 % меньше, чем от животных с генотипом АВ+ВВ. При этом особи с гомозиготным генотипом АА имеют наименьшие показатели по массовым долям жира и белка в молоке, по выходу молочного жира и белка. После увеличения продолжительности межотельного периода свыше 386 дней наоборот возросла массовая доля жира, но выход молочного жира, тем не менее выше оказался у генотипа АВ+ВВ.

У особей с различными генотипами гена бета-лактоглобулина молочная продуктивность оказалась практически на одном уровне, наблюдаются лишь небольшие различия. Однако у животных, несущих аллель В в гомозиготном состоянии, по отношению к гетерозиготным особям наблюдается высокое снижение среднесуточного удоя, что ведет, соответственно, к тому что было недополучено значительное количество молока, меньше на 1,9 кг или 52 %.

Наибольшей жирностью получаемого молока среди остальных особей, с продолжительностью МОП 365-385 дней, отличились особи, несущие генотип ВВ бета-лактоглобулина. Также у этих животных наибольший выход жира и белка. Но при удлинении межотельного периода наиболее высокие показатели имеют коровы с генотипом АА бета-лактоглобулина, а животные с генотипом АВ имеют наибольший выход молочного белка.

Практически для всех изученных генотипов выход молочного жира и молочного белка значительно повышается при удлинении периода между отелами. Так, наибольшая жирность у коров, имеющих генотип СС тиреоглобулина. Наивысшая белковость, при удлинении МОП, достигается у

животных, гомозиготных по аллелю Т тиреоглобулина. Лишь у коров с генотипом ВВ выход белка снижается при удлинении межжотельного периода.

Молочная продуктивность в расчете на средний удой за один день, ниже у коров в группе с более продолжительным межжотельным периодом, следовательно, увеличение продолжительности лактации приводит к недополучению надоев молока, сумма которых за весь межжотельный период может достигать 772 кг. Однако в разрезе полиморфного состояния генов продуктивности потери молока могут различаться до 52 %.

2.2.10 Степень наследуемости признаков

Наследуемость является количественным показателем эффективности отбора по фенотипическим характеристикам признака. Значение коэффициента наследуемости (h^2) выступает в качестве меры выражения генетической вариации изменчивости признака.

Степень генотипической изменчивости нашла выражение в коэффициенте наследуемости (h^2), который имеет вариации от 0 до 1 в долях единицы или от 0 до 100 в %. Чем больше величина h^2 , тем выше наследственная обусловленность изменчивости [172].

Так как на величину коэффициента наследуемости влияет очень много разнообразных факторов, становится более важной не абсолютная, а относительная оценка. В разведении высокие ($h^2=0.40$) и средние ($h^2=0.2..0.4$) коэффициенты наследуемости обозначают, что в исследуемом стаде существует возможность провести отбор, для будущей селекции, по собственной продуктивности коров, а низкие ($h^2=0.2$) – показывают, что необходимо уделить особое внимание на отбор, проводимый по качеству потомства [49].

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 их потомками, что указывают на возможность применения в стаде в качестве основного метода селекции отбора по собственной продуктивности.

Таким образом, отрицательный коэффициент наследуемости продуктивности выявлен лишь для гена пролактина. В свою очередь для генов тиреоглобулина и бета-лактоглобулина мы получили высокие показатели наследуемости.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С развитием молекулярной генетики и молекулярной биологии стало возможным идентифицировать гены, в определенной степени, связанные с продуктивными качествами животных. Выявление подобных генов-маркеров с помощью ДНК-технологий позволяет на достаточно высоком уровне проводить селекционно-племенную работу [9].

На современном этапе развития молочного скотоводства, как развивающейся отрасли сельского хозяйства, наиболее значительный вклад в селекционно-племенной процесс вносят гены – кандидаты на прямую или косвенно, связанные с хозяйственно – полезными признаками. На сегодняшний день разработаны приемы, обеспечивающие анализ полиморфизма генов, участвующих в формировании продуктивности животных [142].

Выявленные преимущества использования животных -носителей желательных аллелей генов хозяйственно – полезных признаков является первоочередной задачей селекции для получения потомства с наилучшими показателями молочной продуктивности.

В настоящее время с появлением методов ДНК - диагностики стало возможным идентифицировать генотипы на основании установления маркерных генов – кандидатов хозяйственно – полезных признаков не только у лактирующих коров, но и у производителей и молодняка, что значительно ускоряет решение селекционно - племенных задач [75].

Современные методы молекулярной генетики позволяют идентифицировать аллельные варианты генов, кодирующих синтез молочных белков и их сочетания в генотипе сельскохозяйственных животных [76]. Однако следует отметить, что исследования корреляционных связей отдельных генов с показателями молочной продуктивности крупного рогатого скота проведены еще недостаточно. Например, такие гены, как каппа-казеина, стеарол-коА-десатураза, диацилглицерол О-ацилтрансферазы, также ассоциируются с показателями и характером молочной продуктивности [72, 88, 89, 90].

Результаты генетического тестирования гена пролактин среди изучаемых нами популяций крупного рогатого скота показывают преобладание желательного аллеля «А». Частота данного аллеля по гену пролактин – 0,87. Аналогичные результаты по гену пролактин были выявлены в работах ряда авторов, таких как Алипанах М., с соавт. (2007) (черно – пестрая порода – 0,71, красно – пестрая 0,79), Chrenec et.al. (1998) (словяцкая пестрая – 0,87, герефорд – 0,95), Туркова С.О. (2001) (красная горбатовская – 0,91, айширская – 0,86), Хабибрахманова Я.Ф. (2009) (холмогорская – 0,57, симментальская – 0,84) и другие.

Исследуя полиморфизм гена тиреоглобулин нами было выявлено, что изучение этого гена началось относительно недавно. В связи с этим, данных о полиморфизме гена TG5 крайне мало и полученные результаты были

направлены в основном на корреляцию его генотипов с мясными качествами крупного рогатого скота. Нами в результате ПЦР – ПДРФ анализа было выявлено преобладание желательного аллеля «С» среди изучаемых популяций крупного рогатого скота, что соответствует данным полученным Valeria F. (2009), Ларионовой П.В. (2006), Харзиновой В.Р. (2011). Однако исследования Barendse (2004) показывают, что среди таких пород, как вагу, симментальская, ангусская преобладают животные - носители аллеля «Т», частота которого составляет 0,29. Следовательно, в изученной нами популяции животных отмечено соблюдение генетического равновесия с преобладанием аллеля «С».

Среди коров и первотелок регистрировалась наибольшая частота встречаемости гетерозиготного генотипа бета-лактоглобулина. Этот показатель составил 58,2%. Аналогичные данные были получены и другими исследователями, такими как Валлиуллиной Э.Ф. (2011) – среди холмогорской породы (56,1%), Ахметовым Т.М. и соавтор. (2008) – среди помесей черно – пестрой х голштинской породы (46,2%), Федотовой Н.В. с соавторами (2011) – среди черно – пестрой породы (45%), Хабибрахмановой Я.Ф. (2009) – среди холмогорской породы (66%), ярославской породы (100%), и симментальской породы (88%) крупного рогатого скота.

Генетическое равновесие, среди изученных нами популяций крупного рогатого скота находится в состоянии, которое благоприятно для дальнейшего селекционно – племенного процесса по данному виду гена. Для этого необходимо включать в селекционно – племенной процесс быков – производителей, носителей желательного генотипа ВВ бета-лактоглобулина, либо использовать их семяпродукцию.

Известно, что ген бета-лактоглобулина отвечает за белковомолочность, а также за такое свойство как биологическая ценность молока. Поэтому необходимо изучать влияние его генетических вариантов на показатели молочной продуктивности и выявлять наилучшие варианты.

В этом аспекте наши исследования молочной продуктивности коров и первотелок в СХПК имени Ленина выявили превосходство по молочным показателям у животных, несущих генотип AA гена BLG. Наилучшие показатели РИБ среди голштинской породы быков имели также животные, несущие генотип АВ. При этом они уступали по белковомолочности животным, ВВ. Подобные данные ряда авторов (Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., и др. (2003); Arave C.W., Lamb R.C., Hines H.C. (1971); Bovenhuis H.J., Van Arendonk A.V., Korver S. (1992); Stralkowska N., Krzyzewski J. (2002), показывают также превосходство животных с генотипом AA бета-лактоглобулина над животными с генотипами АВ и ВВ по отдельным показателям молочной продуктивности.

Данные Purkova G.V. (1980), Tsiaras A.M. (2005), показывали превосходство коров, несущих генотип АВ, по уровню удоя животных с генотипами AA и ВВ BLG.

Известно, что пролактин - один из семейства белковых гормонов, которые принимают участие в инициации и поддержании лактации. Активное участие продуктов гена пролактина в формировании признака молочной продуктивности служит основанием для поиска значимых ассоциаций полиморфных вариантов с конкретными параметрами молочной продуктивности.

Исследование полиморфизма гена пролактин, влияния его генотипов на показатели молочной продуктивности не выявило единого мнения. Так, у Горячевой Т.С. с соавт., (2010) более высокое содержание жира в молоке было у коров с генотипом ВВ и разница составила 0,29% и 0,32% по сравнению с носителями генотипов AA и АВ соответственно. Данные Aliranah M. et. al., (2007) показывают, что уровень удоя был наивысшим у коров с генотипом ВВ, что на 529,8 кг и 1056,6 кг выше, чем у животных с генотипами AA и АВ PRL. Ghasemi N. et. al., (2009) не выявили статистически значимых различий влияния генотипов гена пролактин на показатели молочной продуктивности.

Другие результаты были получены у Alfonso E. et al., (2012), Ghasemi N. et. al., (2009), Khatami S.R. et. al., (2005), Brym P. et. al., (2005), Dybus A., (2001) и Chung E. et. al., (1997) где животные с генотипами AA и AB имели наивысший уровень удоя и выход молочного жира.

По результатам наших исследований, коровы СХПК им. Ленина с гомозиготным генотипом AA пролактина имели наивысшие показатели молочной продуктивности, уступая при этом по уровню удоя, на 248 кг, сверстницам с генотипами AB и BB. Так же особи, несущие генотип AA обладали отличались более высокой жирномолочностью (4,3%). Однако молоко первотелок, несущих генотип AB+BB отличалось высокой белковомолочностью (3,2 %).

Как уже выше было изложено, что полиморфизм гена тиреоглобулин, начали изучать относительно недавно, и ранее рассматривали его в качестве функционального и позиционного гена – кандидата мраморности мяса. (Thaller et.al., 2003). На основании QTL исследований, проведенных на молочных породах крупного рогатого скота, а также из-за влияния этого гена на жировой метаболизм ген гормона тиреоглобулин стали рассматривать в связи с молочной продуктивностью и качественным составом молока. Однако данных о взаимосвязи полиморфизма данного гена с показателями молочной продуктивности крупного рогатого скота на сегодняшний день крайне мало.

По результатам анализа коров было выявлено, что животные, несущие генотип CC тиреоглобулина обладают наилучшими показателями молочной продуктивности, при этом выявлена статистически достоверная разница в показателях молочной продуктивности между животными с различными генотипами гена тиреоглобулин. Следует отметить, что в изученных статьях найдено некоторое превосходство по удою чистопородных животных и коров михайловского типа ярославской породы, несущих генотип CC гена TG5, по сравнению с гетерозиготными животными. Отмечена также тенденция повышенного содержания жира и белка в молоке у коров бурой швицкой

породы немецкой селекции (СС>ТС, на 33 кг и 8% соответственно) и белка в молоке у коров михайловского типа ярославской породы (СС > ТС на 7%), несущих генотип СС гена TG5, по сравнению с животными с генотипом ТС.

При изучении показателей удоя матерей мы выявили что, наивысшим удоем достоверно отличились животные, дочери которых имели генотип СС гена тиреоглобулина, на 971 кг превосходя сверстниц с генотипом ТТ. Анализ татарстанского типа холмогорской породы быков не выявил достоверной разницы среди показателей родительского индекса по удою у животных с различными генотипами гена TG5. Но достоверная разница родительского индекса по массовой доле жира обнаружилась также для гомозиготного генотипа СС.

Результаты наших исследований согласуются с данными Харзиновой В.Р. (2011), которая установила, что коровы с генотипом СС по гену тиреоглобулин достоверно превосходили сверстниц с генотипом ТС по уровню удоя на 495,4 кг, и по выходу молочного жира на 12 кг ($p \leq 0,05$).

Данные, которые мы получили в ходе изучения воспроизводительной способности коров голштинской породы, в частности при исследовании влияния сервис-периода и межотельного периода на молочную продуктивность и качественные показатели молока, согласуются с результатами, которые были получены Абдуллиной Д.Р. (2014), Ионовой Л.В. (2015), Юльметьевой Ю.Р. (2011), Сударевым Н. (2008). Такие же выводы о содержании в молоке жира и белка, и, следовательно, выходе молочного жира и белка были получены Часовщиковой М.А. (2010).

Но полученные результаты наших исследований воспроизводительной способности коров в разрезе гена бета-лактоглобулина расходятся с данными полученными Покусай О.Е. (2011). Так как в этой работе не было установлено связи бета-лактоглобулина и воспроизводительной способности. По нашим данным наблюдаются наибольшие потери молока при удлинении лактации более 90 дней.

Исходя из полученных результатов исследований были сделаны 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 BLG – 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 для генотипа ТТ гена тиреоглобулина и генотипа АА бета-лактоглобулина. Для остальных генотипов 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 генотипов, выбранных для исследования генов, но наибольший у особей с генотипом AA 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

Мы рекомендуем проводить скрининг генов в совокупности со сбалансированным кормлением, соблюдением зоогигиенических норм и правил содержания. В этом случае скрининг окажется полезным.

Потомство, полученное от животных, имеющих желательный генотип, рекомендуется оставлять для дальнейшего использования на племя. Первотелок с генотипами, несущими низкие показатели по удою и качеству молока желательно выбраковать.

Не рекомендуется искусственно 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.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИП – индекс плодовитости

п.н. - пары нуклеотид

ПЦР – полимеразная цепная реакция (PCR – Polymerase Chain Reaction)

ПДРФ – полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (RFLP – Restriction Fragment Length Polymorphism)

ПЦ – племенная ценность

РИБ – родительский индекс быков

СХПК – сельскохозяйственный производственный кооператив

A – adenosine (А – аденозин)

AFLP (Amplified Sequence Polymorphism) - полиморфизм длин амплифицированных фрагментов

BLG- бета – лактоглобулин

bp – base pair (п.о. – пары оснований)

C – cytosine (Ц – цитозин)

CNVs – варианты замены

dNTPs – deoxynucleosidtriphosphates (дНТФ – дезоксинуклеозидтрифосфаты)

G – guanosine (Г – гуанозин)

MgCl₂ – магний хлорид

PRL - пролактин

QTL (Quantitative Trait Loci) – Локусы количественных признаков

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) – произвольная амплификация полиморфных локусов ДНК

SCS (Somatic Cell Score) – количество соматических клеток

SNP (Single Nucleotide Polymorphism) - полиморфизм единичных нуклеотидов

SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) - конформационный полиморфизм однонитевых фрагментов ДНК

T – thymidine (Т – тимидин)

TG5 – тиреоглобулин

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдуллина, Д.Р. Влияние продолжительности сервис-периода на молочную продуктивность коров бурой швицкой породы/ Д.Р. Абдуллина, Р.С. Гизатуллин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. - №4 (48). – 2014. – С. 130-131.
2. Агасиев, А.Ш. Совершенствование молочного скота с использованием современных методов селекции: автореф. дис.канд. с.-х. наук: 06.02.01 / Агасиев Аличубан Шамсутдинович. Смоленск, 2005. — 25 с.
3. Алешкина, С.В. Влияние возраста и живой массы коров при первом отеле на продуктивное долголетие / С.В. Алешкина. - Пенза: РИО ПГСХА, 2008.-414 с.
4. Алиев, А.А. Обмен веществ у жвачных животных/ А.А. Алиев. – М.: НИЦ «Инженер», 1997. - 420 с.
5. Алтухов, Ю. П. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Ю. П. Алтухов, Е. А. Салменкова // Генетика. – 2002. – Т. 38. – С. 1173–1195.
6. Андреев, Д.П. Влияние генетических факторов на состав и технологические свойства молока коров типа «Смоленский» бурого швицкого скота : дис. ... канд. с.-х. наук / Д.П. Андреев. – Смоленск , 2007. – 124 с.
7. Арзуманян, Е.А. Скотоводство. / Е. А. Арзуманян, А.П. Бегучев, А.А. Соловьев и др. - М.: Колос, 1978. - 399 с.
8. Артемьев, А. М Молочная продуктивность и технологические свойства молока коров черно-пестрой породы с различными генотипами каппа-казеина и сезонами отела : дисс.канд. сх наук : 06.02.04 / Артемьев Александр Михайлович. – Москва. - 2007. – 98 с.
9. Ахметов, Т.М. Полиморфизм гена бета-лактоглобулина в стадах крупного рогатого скота/ Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов// Ученые записки. – 2015. – Т.51.Вып.2.ч.2. – С. 36-41.

10. База знаний по биологии человека. ПДРФ-анализ (RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphism) метод [Электронный ресурс]//Humbio. – 2016. – Режим доступа:<http://humbio.ru/humbio/moldiagn/000072bd.htm>
11. Байдильдинова, Г. К. Исследование полиморфизма генов молочной продуктивности чёрно-пёстрой породы крупного рогатого скота Казахстана/ Г. К. Байдильдинова, С. С. Рахманов // Вестник КазНУ. Серия экологическая. – 2014. - №1(40). – С. 310-313.
12. Банникова А.А. Молекулярные маркеры и современная филогенетика млекопитающих / А.А. Банников // Журнал общей биологии. – 2004. – Т. 65. – С. 278–305.
13. Барабанщиков, Н.В. Молоко коров выращенных на комплексе как сырье для сыроделия / Н.В. Барабанщиков, Е.Г. Космынин // Материалы конференции «Современная технология сыроделия и безотходная переработка молока». – 1989. - С. 93 – 94.
14. Барабанщиков, Н.В. Молочное дело/ Н.В. Барабанщиков. - М.: Агропромиздат, 1990. – 351 с.
15. Беган, М. А. Полиморфизм генов лептина (LEP), тиреоглобулина (TG) и бета-казеина (CSN2) у голштинских коров/ М. А. Беган, Я. А. Хабибрахманова, Л. А. Калашникова // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. – 2014. - №7. Т.3 – С. 487-491.
16. Биофайл. Факторы, влияющие на молочную продуктивность [Электронный ресурс] // BioFile. – 2016. – Режим доступа: <http://biofile.ru/bio/18043.html>
17. Болгов, А.Е. Признаки здоровья в селекции молочного скота/ А.Е. Болгов// Достижения в генетике, селекции и воспроизводстве сельскохозяйственных животных. Материалы межд-й научной конф. Часть I Санкт-Петербург. - 2009. - С.163-168.

18. Болгова, А.Е. Повышение воспроизводительной способности молочных коров / А.Е. Болгова, Е.П. Карманова// СПб.: Лань. - 2010. - С. 47 – 54.
19. Борисова, В.В., Белоусов А.М. Наследуемость молочной продуктивности симментальского скота разной линейной принадлежности/ В.В. Борисова, А.М. Белоусова // Известия Оренбургского Государственного Аграрного Университета. – 2014. - № 1. – С. 92–94.
20. Валиуллина, Э.Ф. Характеристика быков – производителей с различными комбинациями генотипом каппа – казеина, бета – лактоглобулина по молочной продуктивности их матерей/ Э.Ф. Валиуллина, О.Г. Зарипов, С.В. Тюлькин и др.// Ветеринарная Практика. – 2007. - №4(39). – С. 59-63.
21. Гладырь, Е.А. ДНК-диагностика вариантов генов каппа-казеина и бета-лактоглобулина у крупного рогатого скота : автореф. дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.23 / Гладырь Елена Андреевна. – Дубровицы, 2001. – 20 с.
22. Гладырь, Е.А. Методические рекомендации по определению вариантов каппа-казеина и бета-лактоглобулина крупного рогатого скота методом ПЦР-ПДРФ анализа / Е.А. Гладырь [и др.] // Современные достижения и проблемы биотехнологии сельскохозяйственных животных. – Дубровицы. – 2001. – 14 с.
23. Глазко, В. И. ДНК-технологии и биоинформатика в решении проблем биотехнологий млекопитающих / В. И. Глазко, Е. В. Шульга, Т. Н. Дымань // Белая Церковь, 2001. – 488 с.
24. Глотова, Г.Н. Молочная продуктивность и качество молока коров холмогорской породы разных генотипов по каппа-казеину и бета-лактоглобулину : дис. ... канд. с.-х. наук / Г.Н. Глотова. – Рязань, 2007. – 114 с.

25. Гончаренко, Г.М. Генетическая структура популяций сельскохозяйственных животных Западной Сибири и использование маркеров в селекции : автореф. дис. ...докт. биол. наук : 06.02.01 / Гончаренко Галина Моисеевна. – Новосибирск, 2009. – 41 с.
26. Горячева, Т. С. Генетические варианты к-казеина и пролактина в связи с молочной продуктивностью коров черно-пестрой породы / Т. С. Горячева, Г. М. Гончаренко // Сельскохозяйственная биология. – 2010. - №4. – С. 51-54.
27. Дубинина, И. П. Использование метода ПЦР в клинико-диагностических лабораториях / И. П. Дубинина //Лаборатория. – 1996. - №4. - С. 4-6.
28. Дунин, И.М. Красно – пестрая порода молочного скота/ И.М. Дунин, А.И. Бальцанов, Н.Г. Бальцанов. – Лесные Поляны. – 2010. – 199 с.
29. Егиазарян, А. В. Индекс плодовитости, как компонент полифакторного индекса в оценке коров по комплексу признаков/ А. В. Егиазарян, Е. А. Смотрова// Достижения науки и техники АПК. – 2011. - №4. – С. 57-59.
30. Есмагамбетов, К. К. Лактационные кривые черно – пестрых коров разного возраста/ К.К. Есмагамбетов // Аграрный вестник Урала. – 2011. - №2 (81). – С. 23-25
31. Ефимов, А.М. Применение молекулярных методов в зооиндустрии: ПЦР-технология / А.М. Ефимов. – Зооиндустрия. – 2004. - №11. – Режим доступа: <http://www.vettorg.net/magazines/3/2004/96/600/>.
32. Завертяев, Б. П. Перспективы развития маркерной и геномной селекции в молочном скотоводстве / Б.П. Завертяев. - Сб. межд. науч. конф., посвященной 70-летию образования ГНУ ВНИИГРЖ: Генетика и селекция в животноводстве: вчера, сегодня и завтра. СПб: ВНИИГРЖ – 2010. – 240 с.
33. Закирова, Г.М. Полиморфизм гена пролактина у коров Татарстанского типа холмогорского скота / Г.М. Закирова, Р.Р. Султанов, Ф.Ф.Зиннатова // КГАВМ Ученые записки. - 2011. - Т 205. - С. 61 – 64.

34. Закопайло, В. А. Характеристика генетических факторов, влияющих на содержание соматических клеток в молоке коров : дисс.канд.биол.наук : 06.02.07 / Закопайло Виктория Александровна. – Москва. – 2011. – 104 с.
35. Зиннатова, Ф.Ф. Взаимосвязь полиморфизма гена бета – лактоглобулин с молочной продуктивностью у коров и коров первотелок / Ф.Ф Зиннатова, А.М.Алимов, Ф.Ф. Зиннатов // КГАВМ Ученые записки. - 2012. - Т.211. - С. 206 – 209.
36. Зиннатова, Ф.Ф. Тестирование племенного крупного рогатого скота по ДНК-маркерам молочной продуктивности: дис. ... канд. биол. наук / Ф.Ф. Зиннатова. – Казань, 2013. – 170 с.
37. Зиновьева, Н. Методы маркер-зависимой селекции / Н. Зиновьева, Е.Гладырь, Г.Державина, Е.Кунаева // Животноводство России. – 2006. - № 3. – С. 29-31.
38. Зиновьева, Н.А. Генетическая оценка в племенном животноводстве / Н.А. Зиновьева // Материалы международной научной конференции «Современные методы генетики и селекции в животноводстве». – СПб. – ВНИИГРЖ, 2007. - С. 34-36.
39. Зиновьева, Н.А. ДНК-диагностика полиморфизма генов белков молока крупного рогатого скота / Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь, О.В. Костюнина // Методы исследования в биотехнологии сельскохозяйственных животных. – ВИЖ. – 2004. – С. 7-22.
40. Иоганссон, И. Генетика и разведение домашних животных/ И. Иоганссон, Я. Рендель, О. Граверт – М.: Колос, 1970. – 351с.
41. Ионова, Л.В. Влияния интенсивности роста телок на воспроизводительную способность и молочную продуктивность коров : дисс.канд.биол.наук : 06.02.07 / Ионова Любовь Васильевна. – Сахарово. – 2015. – 126 с.
42. Калашникова, Л. А. Влияние полиморфизма генов молочных белков и гормонов на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы/

- Л. А. Калашникова, Я. А. Хабибрахманова, А. Ш. Тинаев // Доклады РАСХН. – 2009. - №3. – С. 49-52.
43. Калашникова, Л.А. Селекция XXI века: Использование ДНК-технологий / Л.А. Калашникова, И.М. Дунин, В.И. Глазко. – М.: ВНИИплем. – 2001. – 34 с.
44. Катмаков, П. С. Воспроизводительная способность коров симментальской породы и ее голштинизированных помесей / П.С. Каимаков, А. В. Хаминич // Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. – 2012. – Т.1. – С. 110-115.
45. Ковалева, Т. П. Молочная продуктивность первотелок с различными генотипами каппа – казеина// Молочное и мясное скотоводство. – 2008. - №2. – С. 18 – 19.
46. Козлов, Ю.Н. Генетика и селекция сельскохозяйственных животных/ Ю.Н. Козлов, Н.М. Костомахин – М.: КолосС, 2009. – 264 с.
47. Кокорина, Э.П. Условные рефлексы и продуктивность животных: учебник/ Э.П. Кокорина // М.: Агропромиздат, 1996. – 334 с.
48. Костюнина О.В. Молекулярная диагностика генетического полиморфизма основных молочных белков и их связь с технологическими свойствами молока: автореф. дис. ... канд. биол. наук / О.В. Костюнина. — Дубровицы. – 2005. – 19 с.
49. Лазаренко, В.Н. Влияние сервис-периода на молочную продуктивность и воспроизводительные функции коров / В.Н. Лазаренко, Л. Ю. Овчинникова// Актуальные проблемы ветеринарной медицины и производства продукции животноводства и растениеводства: материалы междунар. науч.-практ. конф. – Троицк: Изд-во УГАВМ, 2006. – С. 268–271.
50. Лазебная, И.В. Полиморфизм генов гормона роста bGH и пролактина bPRL и изучение его связи с процентным содержанием жира в молоке у

- коров костромской породы/ И. В. Лазебная, О. Е. Лазебный, М.Н. Рузина // Сельскохозяйственная биология. – 2011. - №4. – С. 45-51.
51. Лазебная, И.В. Полиморфизм генов гормонов роста и пролактина в связи с признаками качества молока у крупного рогатого скота ярославской породы/ И.В. Лазебная, О.Е. Лазебный, В.Ф. Максименко // Сельскохозяйственная биология. – 2012. – № 2. – С. 39–44.
52. Ларионова, П.В. Исследование полиморфизма некоторых генетических маркеров мраморности мяса и липидного обмена крупного рогатого скота методом пиросеквенирования / П.В. Ларионова, М. Гутчер, Н.А. Зиновьева и др. // Новые методы генодиагностики и генотерапии: современное состояние и перспективы использования в сохранении генофонда сельскохозяйственных животных. – Дубровицы. - 2005.- С. 100-108.
53. Ларионова, П.В. Разработка систем анализа и изучение полиморфизма некоторых ДНК-маркеров липидного обмена крупного рогатого скота / П.В. Ларионова, М. Гутчер, Н.А. Зиновьева и др. // Биотехнология в мире животных и растений. – Бишкек. - 2005.- С. 174-177.
54. Лоретц, О.Г. Влияние гена каппа – казеина на технологические свойства молока /О. Г. Лоретц, Е. В. Матушкина// Аграрный вестник Урала. – 2014. - № 3 (121). – С. 23-26.
55. Лэсли, Дж. Ф. Генетические основы селекции сельскохозяйственных животных/ Дж. Ф. Лэсли – М.: Колос, 1982. – 391с.
56. Матвеева Т.В., Павлова О.А., Богомаз Д.И. и др. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений / Т. В. Матвеева, О. А. Павлова, Д. И. Богомаз // Экол. генетика. – 2011. – Т. 9. – С. 32–43.
57. Меркурьева, Е.К. Генетика с основами биометрии/ Е.К. Меркурьева, Г.Н. Шангин-Березовский – М.: Колос, 1983. – 400 с.

58. Москаленко, Л. Генетические маркеры продуктивного долголетия коров / Л. Москаленко, А. Коновалов, Е. Зверева // Молочное и мясное скотоводство. - 2009. - №3. - С. 9-10.
59. Москаленко, Л.П. Продуктивное долголетие ярославских голштинизированных коров в зависимости от методов выведения /Л.П.Москаленко, Е.А.Зверева// Вестник АПК Верхневолжья. – 2009. - № 3. - С. 17-19.
60. Мугниев, Э.П. Молочная продуктивность коров черно-пестрой породы и 5/8 – кровных помесей по голштинской породе / Э.П. Мугниев, Ф.Р. Бакай, А.С. Семенов // Материалы междунар. учеб.-метод. и науч.-практич. конф., посвящ. 85-летию академии. – М.: МГАВМиБ., 2004. – С. 20–22.
61. Мухаметгалиев, Н.Н. Использование генетической и паратипической изменчивости белкового состава молока коров для улучшения технологических свойств сырья и повышения качеств молочных продуктов : дис. ... доктор биолог. наук / Н.Н. Мухаметгалиев. – Казань, 2006. – 344 с.
62. Мымрин, В.С. Результаты геномной оценки быков-производителей, выведенных в России / В.С.Мымрин, С.В. Мымрин, О.А. Ткачук // Зоотехния. - 2014. -№5. -С. 2-5.
63. Овчинникова, Л. Влияние сервис-периода на продуктивность и воспроизводительные функции коров / Л. Овчинникова // Молочное и мясное скотоводство. - 2007. - №4. - С. 19-20.
64. Племяшов, К. Геномная селекция – будущее животноводства / К. Племяшов // Животноводство России. – 2014 - №5. – С. 2-4.
65. Плохинский, Н.А. Биометрия/ Н.А. Плохинский – Новосибирск, 1961. – 364 с.
66. Пономарёв, А. Б. Совершенствование лабораторно-диагностической работы в России/ А.Б. Пономарёв // Ветеринария. -1998. - №-3. -С. 3-5.

67. Прохоров, И.П. Влияния возраста первого отела на продуктивное долголетие коров / И.П. Прохоров // Селекция, кормление, содержание сельхоз. жив. и технология произв. продукт, жив-ва. – 2007. - С. 61-67.
68. Рачкова, Е.Н. Влияние сервис-периода на молочную продуктивность коров голштинской породы в связи с генетическими аспектами/ Е.Н. Рачкова // Ученые записки. – 2017. – Том 230 (II). – С. 115-118.
69. 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 «ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ АПК В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ», посвященной 95-летию со дня основания ТатНИИСХ. Казань, 2015. - С. 522 -526.
70. Рачкова, Е.Н. Ассоциация полиморфизма генов TG5 и LEP с динамикой лактации коров-первотелок/ Е.Н. Рачкова, Ф.Ф. Зиннатова, Ю.Р. Юльметьева и др.// Ветеринарный врач – 2016. - №6. – С. 61-66.
71. Рачкова, Е.Н. Наследуемость молочной продуктивности в зависимости от полиморфизма гена бета-лактоглобулина/ Е.Н. Рачкова// Ученые записки – 2015, том №226. – С. 209-213.
72. 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.
73. РГАУ-МСХА Зооинженерный факультет [Электронный ресурс]. – М. – Сайт РГАУ-МСХА. – 2015. Режим доступа: <http://www.activestudy.info/nasleduemost/>.
74. Рукин, И.В. Геномная селекция - будущее в разведении животных / И.В.Рукин, Е.С.Пантюх, Д.С. Груздев // Зоотехния. – 2013. - № 7. – С. 8-9.

75. Савельева, Е.Ю. Влияние голштинизации черно-пестрой и холмогорской пород на хозяйственно полезные качества коров / Е.Ю. Савельева // Зоотехния. – 2002. – № 12. – С. 4-6.
76. Самусенко, Л., Химичева С. Генотип коров — основа качества молока/ Л. Самусенко, С. Химичева // Молоко и молочные продукты. Производство и реализация. – 2012. - № 2. – С. 17–19.
77. Селионова, М.И. Геномные технологии в селекции сельскохозяйственных животных / М.И. Селионова, А.-М.М. Айбазов // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. – 2014. - №7(1). – 6 с.
78. Серебровский, А.С. Генетический анализ / А.С. Серебровский – М.: Наука, 1970. – 342 с.
79. Смарагдов, М.Г. Геномная селекция молочного скота в мире. Пять лет практического использования / М.Г. Смарагдов // Генетика. – 2013. – Т.49. - № 11 – С. 1251–1260.
80. Смарагдов, М.Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции / М.Г. Смарагдов // Генетика. – 2009. - Т. 45. - С. 725–728.
81. Соломенко, Л.К. Биометрия: пособие к практикуму/ Л.К. Соломенко – М.: ВСХИЗО, 1971. – 64 с.
82. Сулимова, Г. Е. Полиморфизм длин рестрикционных фрагментов ДНК у сельскохозяйственных видов: методы изучения и перспективы тестирования / Г.Е. Сулимова // Успехи современной генетики. - 1993. Вып. 18. - С. 18-24.
83. Сулимова, Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения / Г.Е. Сулимова // Успехи современной биологии. - 2004. - Т. 124. - С. 260–271.

84. Суллер И.Л. Организация воспроизводства крупного рогатого скота молочных пород/ И.Л. Суллер, П.Г. Захаров. - СПб.: ФГОУ АМА НЗ РФ, 2007. - 76 с.
85. Тинаев, А.Ш. Продуктивность черно –пестрых первотелок с разными генотипами по бетта – лактоглобулину / А.Ш. Тинаев, Л.А. Калашникова, К.К. Аджибеков, И. А. Павлова // Молочное и мясное скотоводство.- 2006. - №3.- С. 11 – 13.
86. Труфанов, В.Г. Использование методов ДНК-диагностики в селекции коров холмогорской породы / В.Г. Труфанов, Г.Н. Глотова // Зоотехния.- 2006.- №9.- С.10-11.
87. Туркова, С.О. Особенности распределения частот аллелей генов каппа – казеина, пролактина, гормона роста и BoLA – DRB3 у красной горбатовской породы в связи с устойчивостью к заболеваниям и продуктивностью / С.О. Туркова, И.Г. Удина, Ю.А. Столповский, Г.Е. Сулимова // Памяти Грегора Менделя, М.: МСХА, 2001. -141с.
88. Тюлькин, С.В. Разработка способа проведения ПЦР-ПДРФ на примере DGAT1-гена крупного рогатого скота/ С.В. Тюлькин, Р.Р. Вафин, Е.Н. Рачкова и др. // Фундаментальные исследования. - 2015. - № 2-17. - С. 3773-3775.*
89. Тюлькин, С.В. Полиморфизм гена каппа-казеина в стадах крупного рогатого скота Республики Татарстан/ С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Е.Н. Рачкова и др.// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2016. - Т. 225. - № 1. - С. 148-151.
90. Тюлькин, С.В. 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.

91. Удина, И.Г. Полиморфизм гена пролактина (микросателлиты, ПЦР-ПДРФ) у крупного рогатого скота/ И.Г. Удина, С.О. Туркова // Генетика. – 2001. - Т. 37. - С. 511-516.
92. Федотова, Н.В. Полиморфизм бета-лактоглобулина и оценка молочной продуктивности черно-пестрых коров разных генотипов/ Н.В. Федотова, Г.С. Лозовая// Вестник Алтайского государственного аграрного университета. - 2011. -№ 6 (80). – С. 57-60.
93. Федотова, Н.В. Влияние генотипов бета-лактоглобулина на показатели молочной продуктивности чёрно-пёстрых коров в родственных группах / Н. В. Федотова, Г. С. Лозовая // Зоотехния. – 2011. - №3.- С.167 – 169.
94. Хабибрахманова, Я. М. Полиморфизм молочных белков и гормонов крупного рогатого скота : автореф.дисс.канд.биол.наук : 06.02.01 / Хабибрахманова Язиля Аминовна. – Лесные Поляны. – 2009. – 32 с.
95. Хазиахметов, Ф.С. Основы современного производства молока: практическое руководство/ Ф.С. Хазиахметов. - Уфа: Издательство Башкирского ГАУ, 2014. - 70 с.
96. Харзинова, В.Р. Полиморфизм ДНК-маркеров DGAT1, TG5 и GH в связи с линейной принадлежностью и уровнем молочной продуктивности коров черно-пестрой породы /В.Р. Харзинова, Н.А. Зиновьева, Е.А. Гладырь // Проблемы биологии продуктивных животных.- 2011 - № 1. -С. 73-77.
97. Хатами, С.Р. ДНК-полиморфизм генов гормона роста и пролактина у ярославского и чёрно-пёстрого скота в связи с молочной продуктивностью / С. Р. Хатами, О. Е. Лазебный // Генетика. – 2005 - №2. Т.41. – С. 229-236.
98. Хлесткина, Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции/ Е.К. Хлесткина// Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. - Том 17, № 4/2. – С. 1044-1054.

99. Хлопков, В.Е. Воспроизводительная способность симментал × голштинских коров разных генотипов : дис. ... канд. с.-х. наук / В.Е. Хлопков. – Лесные Поляны: ВНИИ плем, 1994. – 118 с.
100. Часовщикова, М. А. Влияние сервис-периода на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы / М. А. Часовщикова // Вестник КрасГАУ. – 2012. - №10. – С. 136-138.
101. Шляхтунов, В.И. Скотоводство: учебник/ В.И. Шляхтунов. - Мн: Техноперспектива, 2005. – 392 с.
102. Эрнст, Л. К. Биологические проблемы животноводства в XXI веке / Л. К. Эрнст, Н. А. Зиновьева. – М.: РАСХН, 2008. – С. 260-273.
103. Юльметьева, Ю.Р. 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.
104. Юльметьева, Ю.Р. Генотипирование ремонтного молодняка крупного рогатого скота для определения племенной ценности/ Ю.Р. Юльметьева, Ф.Ф. Зиннатова, Е.Н. Рачкова и др.// Ученые записки – 2015. - №223. – С. 243-248.
105. Юльметьева, Ю.Р. Система оценки быков – производителей и ремонтных бычков по комплексному генотипу Республики Татарстан/ Ю.Р. Юльметьева, Ф.Ф.Зиннатова, Ш.К.Шакиров // КГАВМ Ученые записки. – 2012. - Т.212. – С. 441 – 446.
106. Юльметьева, Ю.Р. Воспроизводительные качества холмогор х голштинского скота разных линий и факторы их обуславливающие: автореф. дис.канд. биол. наук: 06.02.07 / Юльметьева Юлиана Рустэмовна. Казань, 2011. - 19 с.
107. Ailhaud, G. Cellular and molecular aspects of adipose tissue development/ G. Ailhaud, P. Grimaldi, R. Negrel // An. Rev. Nutr. – 1992. – V. 12. – P. 207-233.

108. Alemayehu, K. Review on the role of molecular genetics in animal performance improvement / K. Alemayehu, A. Getu // *Global Journal of Animal Breeding and Genetics*. – 2015. – V. 3(7). – P. 188-196.
109. Alfonso, E. Polymorphism of the prolactin gene (PRL) and its relationship with milk production in American Swiss cattle / E. Alfonso, R. Rojas, J. G. Herrera, et al // *African Journal of Biotechnology*. – 2012. – V. 11(29). – P.7338-7343
110. Alipanah M. Polimorphism Prolactin Loci in Russian Cattle/ M. Alipanah, L.A. Kalashnikova, G.V. Rodionov // *J. of Anim and Vet. Advances*. – 2007. – 6(6). – P. 813-815.
111. Alipanah, M. Association of prolactin gene variants with milk production traits in Russian Red Pied cattle/ M. Alipanah, L. Kalashnikova, G. Rodionov // *Iranian J. Biotechnol.* – 2007. – V. 5(3). – P. 158-161.
112. Alipanah, M. Kappa-casein and PRL-RsaI Genotypic Frequencies in two Russian Cattle Breeds / M. Alipanah, K. Alexandrovna, R. G. Veladimirovich // *Department of Animal Science. University of Zabol. Arch. Zootec.* – 2008. - 57(218). – P. 131-138.
113. Alvarest, E.O. Behavioral actions of prolactin locally applied into the hyppo campus of adult female rats / E.O. Alvarest, A.M. Banzan // *J. Neural Transm.* – 1994. – V. 59. – P. 409-416.
114. Anton, I. Effect of DGAT1, leptin and TG gene polymorphisms on some milk production traits in different dairy cattle breeds in Hungary/ I. Anton, K. Kovács, G. Holló // *Archiv Tierzucht* 55. – 2012. - V. 4. - P. 307-314.
115. Arave C.W. Procedure for simultaneons phenoting of beta-lactoglobulin variants in cows milk/ C. W. Arave // *J. Dairy Sci.* - 1967. V. 50. №8. P. 395-401.
116. Aschaffenburg, R. Occurrence of different beta-lactoglobulins in cow's milk/ R. Aschaffenburg, J. Drewry // *Nature*. - 1955. – V. 176. - P. 218-219.

117. Barendse, W. TG5 DNA marker test for marbling capacity in Australian feedlot cattle / W. Barendse, R. Bunch, M. Thomas, S. Armitage, S. Baud, N. Donaldson. // Proc. Beef Quality CRC Marbling Symp. - 2001. - P. 52-57.
118. Barendse, W. The TG5 thyroglobulin gene test for a marbling quantitative trait loci evaluated in feedlot cattle / W. Barendse, R. Bunch, M. Thomas et al // Australian Journal of Experimental Agriculture. - 2004. - Vol. 44 (7). - P. 669-674.
119. Berry, P. Genetics of animal health and disease in cattle / D. P. Berry, M. L. Bermingham, M. Good et al // Irish Veterinary Journal. – 2011. - №64. – P. 1-10.
120. Billings, A.R. Factors Influencing the Reproductive Efficiency of Dairy Herds in the Dominican Republic / A.R. Billings// Virginia Polytechnic Institute and State University. – 2002. – 125p.
121. Bovenhuis H., Estimation of milk protein gene frequencies in crossbred cattle by maximum likelihood/ H. Bovenhuis, J. A. M. Van Harendonk // J. Dairy Sci.1991. V. 74. P. 2728-2736.
122. Burton, J. L. A review of bovine growth hormone/ J. L. Burton, B. W. McBride, E. Block // Can. J. Anim. Sci. – 1994. – V. 74. – P. 167-201.
123. Carvalho, T. D. Association of polymorphisms in the leptin and thyroglobulin genes with meat quality and carcass traits in beef cattle/ T. D. Carvalho, F. Siqueira, R. A. Torres Júnior// Revista Brasileira de Zootecnia. – 2012. – V. 10. – P. 2162-2168.
124. Charmet, G. Implementation of genome-wide selection in wheat / G. Charmet, E. Storlie // Вавилов. журн. генет. и селекции. - 2012. - Т. 16. - С. 61–68.
125. Chrenek, P. Genotypes of bGH and bPRL genes in relationship to milk production / P. Chrenek, J. Huba, M. Oraveova. - Proc. EAAP 50th Annual Meeting, Book of Abstract. – 1999. – 40 p.

126. Chrenek, P. Simultaneous analysis of bovine growth hormone and prolactin alleles by multiplex PCR and RFLP/ J. Chrenek, D. Vasicek, M. Bauerovf // *Czech J. Anim. Sci.* - 1998. - V.43. - P. 53-55.
127. Chung, E. R. Associations between PCR-RFLP markers of growth hormone and prolactin genes and production traits in dairy cattle / E.R. Chung, T.J. Rhim, S.K. Han // *Korean J. Anim. Sci.* -1996. – V. 38. – P. 321-336.
128. Cilek, S. Comparison of six different mathematical models to the lactation curve of simmental cows reared in Kazova state farm/ S. Cilek, I. Keskin// *Journal of Animal and Veterinary Advances.* - V. 7, no. 10. – 2008. - P. 1316–1319.
129. Daetwyler, H. D. Genomic prediction in animal and plants: simulation of data, validation, reporting, and benchmarking/ H.D. Daetwyler, M. P. Calus, R. Pong-Wong // *Genetics.* – 2013. – V. 193. – P. 347-365.
130. Dardenne, M. Prolactin receptor expression in human hematopoietic tissues analyzed by flow cytofluorometry / M. Dardenne, M.C. Moraes, R.A. Kelly, M.C. Gagnerault // *Endocrinology* – 1994. – Vol.134. – P. 2108-2114.
131. Denicourt, D. Detection of bovine kappa-casein genomic variants by the polymerase chain reaction method/ D. Denicourt, M. P. Sabour, A. McAllister // *Animal Genetics.* – 1990. – V. 21. – P. 215–216.
132. Dybus, A. Association between the growth hormone combined genotypes and dairy traits in Polish Black-and-White cows / A. Dybus, W. Grzesiak, I. Szatkowska // *Anim. Sci. Pap. Rep.* – 2004. – V. 22(2). - P. 185-194.
133. Dyer, T.G. Reproductive Management of Commercial Beef Cows/ T. G. Dyer// *Reproductive Management of Commercial Beef Cows UGA Cooperative Extension Bulletin 864.* – 2017. – P. 1-7.

134. Edel, C. A note on using 'forward prediction' to assess precision and bias of genomic predictions/C. Edel, S. Neuner, R. Emmerling // *Interbull Bull.* – 2012. – V. 46. - P. 16-19.
135. Eigel, W. N. Nomenclature of proteins of cow's milk: fifth revision / W. N. Eigel, J. E. Butler, C. A. Ernstrom // *Journal of Dairy Science.* – 1984. – P. 1599-1631.
136. Erlich, H.A. PCR-based technologies: PCR basics / H.A. Erlich // *IPGRI and Cornell University.* – 2003. – 35 p.
137. Freeman, M.E. Prolactin, structure, function and regulation of secretion / M.E. Freeman, B. Kanyicska, A. Lerant, G. Nagy. // *Physiol. Rev.* – 2000. - № 80. - P. 1523–1631.
138. Gahlot, G. C. Pattern of lactation curve in Rathi cattle/ G. C.Gahlot, R. S. Gahlot, and L. K. Jairath// *Indian Journal of Animal Science.* - V. 58, no. 9. – 1998. - P. 1112–1114.
139. Ghasemi, N. Associations between prolactin gene polymorphism and milk production in montebeliard cows / M. Zadehrahmani, G. Rahimi// Genetic Department, Safayeh, Bouali Street, Research and Clinical Centre for Infertility, Yazd ShahidSadoughi Medical Sciences University, Yazd, Iran. *Int. J. Genet. Mol. Biol.* – 2009. - 1(3). - P. 48-51.
140. Goddard, M.E. Genomic selection / M.E. Goddard and B.J.Hayes // *Journal of Animal Breeding and Genetics.* – 2007. – V. 124. – P. 323–330.
141. Godfray, H.C.J. Food security: the challenge of feeding 9 billion people/ H. C. J. Godfray // *Science.* – 2010. - V. 327. - P. 812-818.
142. Habier, D. The impact of genetic relationship information on genomic breeding values in german holstein cattle/ D. Habier, J. Tetens,F.-R. Seefried // *Genet. Sel. Evol.* – 2010. – V. 42. – P. 5.
143. Haile-Mariam, M. Genotype by environment interaction for fertility, survival, and milk production traits in Australian dairy cattle/ M. Haile-Mariam // *J. Dairy Sci.* – 2008. - V. 91. - P. 4840-4853.

144. Haley, C.S. Strategies to utilize marker – quantitative trait loci associations. /C.S.Haley, P.M. Visscher //J. Dairy Sci. -1998. – V. 81, № 2. – C. 85-97.
145. Harrison, R. O. Effects of genetic selection for milk production on energy status and reproductive efficiency of high- and average-producing dairy cows/ R. O. Harrison// Iowa State University. – 1989. – 132 p.
146. Hayes, B.J. Genotype x environment interaction for milk production of daughters of Australian dairy sires from test-day records/ B.J. Hayes// J. Dairy Sci. – 2003. - V. 86. - P. 3736-3744.
147. Henderson, D.A. Kappa-casein and beta-lactoglobulin genotype effects on milk production and maternal calf growth traits in crossbred beef cattle / D.A. Henderson, D.M. Marshal // Cooperative State Research Service. – 1997. – No. 94-37208-1038. – P. 27-30.
148. I, J. Real-Time PCR for Systems Biology: A Review on Real Time PCR-Related Technologies & Their Applications in the Post-Genomic Era / J. Hung // SABioscience: Pathways issue. – 2008. – V.8. – P. 14-16.
149. Jingar, S. Lactation curve pattern and prediction of milk production performance in crossbred cows/ S. Jingar, R. K. Mehla, M. Singh, A. K. Roy// Hindawi Publishing Corporation Journal of Veterinary Medicine. – V.2014. – 2014. – P. 1-6.
150. Kaygisiz, A. Estimates of phenotypic and genetic parameters of lactation persistency in Holstein cows/ A. Kaygisiz, G. Bakir, S.M. Yener// Journal of Veterinary and Animal Sciences. - V. 19, no. 4. – 1995. - P. 259–263.
151. Kesler, D. J. Improving Reproductive Efficiency/ Darrel J. Kesler // Illinois Livestock Trail. – 2004.
152. Khatkar, M. S. Quantitative trait loci mapping in dairy cattle: review and meta-analysis/ M.S. Khatkar, P. Thomson, I. Tammen// Genet. Sel. Evol. – 2004. – V.36(2). – P.163-190.

153. Khatkar, M. S. Strategies and utility of imputed SNP genotypes for genomic analysis in dairy cattle / M. S. Khatkar, G. Moser, B. J. Hayes // *BMC Genomics*. – 2012. – V. 13. – P. 538.
154. Lauerman, L.H. Advances in PCR technology / L. H. Lauerman // *The Reference in qPCR & dPCR - Academic & Industrial Information Platform*. – 2004. – P. 1-3.
155. Lazebnaya, I. V. Study of genetic variation in Yakutian cattle (*Bos taurus* L.) using the prolactin bPRL, growth hormone bGH, and transcription factor bPit-1 genes/ I. V. Lazebnaya, O.E. Lazebny, G.E. Sulimova // *Russ. J. Genet.* – 2010. – V. 46(3). – P. 377-380.
156. Lazebnaya, I.V. Use of the bovine prolactin gene (bPRL) for estimating genetic variation and milk production in aboriginal russian breeds of *Bos taurus* L / I.V. Lazebnaya, O.E. Lazebny, S.R. Khatami // *InTech*. – 2013. - Chapter 3. – P. 35-51.
157. Lee, B. K. Association of somatotropin (bST) gene polymorphism at the 5th exon with selection for milk yield in Holstein cows/ B. K. Lee, G. F. Lin, B. A. Crooker // *Domest. Anim. Endocrinol.* – 1996. – V. 13. - P. 373-381.
158. Lucy, M. C. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production. / M. C. Lucy, S. D. Hauser, P. J. Eppard // *Domest. Anim. Endocrinol.* – 1993. - V. 10. – P. 325-333.
159. Macciotta, N. Detection of different shapes of lactation curve for milk yield in dairy cattle by empirical mathematical models/ N. Macciotta, D. Vicario, A. Cappio-Borlino// *Journal of Dairy Science*. - V. 88, no. 3. – 2005. - P. 1178–1191.
160. Macdonald, K.A. A comparison of three strains of Holstein-Friesian grazed on pasture and managed under different feed allowances/ K. A. Macdonald // *J. Dairy Sci.* – 2008. - V. 91. - P. 1693-1707.

161. Manga, I. Comparison of influence markers CSN3 and CSN2 on milk performance traits in Czech spotted and Holstein cattle tested at first, fifth and higher lactation / I. Manga, J. Řiha, J. Dvořák // *Acta fytotechnica et zootechnica*. – 2006. - №9. – P. 13-15.
162. Martin, P. Improvement of milk protein quality by technology/ P. Martin, F. Grosclaude // *Live. Prod. Scie.*- 1993. - V. 35. - P. 95 – 115.
163. Mattos, K.K. Association of bGH and Pit-1 gene variants with milk production traits in dairy Gyr bulls/ K.K. Mattos, S.N.D. Lama, M.L.M. Martinez // *Pesq. Agropec. Bras.* – 2004. – V. 39(2). – P. 147-150.
164. Matukumalli, L.K. Development and characterization of a high density SNP genotyping assay for cattle/ L.K. Matukumalli, C.T. Lawley, R. D. Schnabel // *PLoS ONE*. - 2009. - V. 4. – P. 1-13.
165. Medrano, J. F. Polymerase chain reaction of bovine β -lactoglobuline genomic sequences and identification of genetic variants by RFLP analysis / J. F. Medrano, E. Aguilar-Cordova // *Animal Biotechnology*. - 1990. - №1. - P. 73-77.
166. Mehmannaavaz, Y. Effects of bovine prolactin gene polymorphism within exon 4 on milk related traits and genetic trends in Iranian Holstein bulls / Y. Mehmannaavaz, C. Amirinia, M. Bonyadi // *African Journal of Biotechnology*. – 2009. – V. 8(19). – P. 4797-4801.
167. Meredith, B.K. Genome-wide associations for milk production and somatic cell score in Holstein-Friesian cattle in Ireland/ B.K. Meredith, F. J. Kearney, E. K. Finlay// *BMC Genetics*. – 2012. – V.13:21. – P. 1-11.
168. Meuwissen, T. Accurate prediction of genetic values for complex traits by whole-genome resequencing / T. Meuwissen, M. Goddard // *Genetics*. – 2010. – V. 185. – P. 623-631.
169. Meuwissen, T.H.E. Genomic selection: The future of animal breeding. / T.H.E. Meuwissen // *Norwegian University of Life Sciences, Box 5003, 1432 As Norway*. -2007 – P. 88-91.

170. Miglior, F. Selection Indices in Holstein cattle of various countries/ F. Miglior, B.L. Muir, B.J. Van Doormaal// J. Dairy. Sci. – 2005. – V. 88(3). – P.1255-1263.
171. Misztal, I. Methods to approximate reliabilities in single-step genomic evaluation / I. Misztal, S. Tsuruta, I. Aguilar //J. Dairy Sci. - 2013. - V. 96. - P. 647-654.
172. Mitra, A. Polymorphisms at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo / A. Mitra, P. Schlee, C.R. Balakrishnan // J. Anim. Breed. Genet. – 1995. – V.112. – P. 71-74.
173. Morris, C. Genotypic effects of calpain 1 and calpastatin on the tenderness of cooked M. longissimus dorsi steaks from Jersey × Limousin, Angus and Hereford-cross cattle/C. Morris, N. Cullen, S. Hickey et al // Animal Genetics. – 2006. – V. 37(4). – P. 411-414.
174. Naqvi, A.N. Application of Molecular Genetic Technologies in Livestock Production: Potentials for Developing Countries / A.N. Naqvi // Advances in Biological Research. – 2007. - V. 1 (3-4). - P. 72-84.
175. Nevalainen, M.T. Expression and hormone regulation of prolactin receptors in the rat dorsal and lateral prostate / M.T. Nevalainen, E. M. Valve, P.M. Ingleton, et al // Endocrinology. – 1996. – V. 137 – P. 3078-3088.
176. Ng-Kwai-Hang, K. F. Genetic polymorphism of milk proteins: Relationships with production traits, milk composition and technological properties / K. F. Ng-Kwai-Hang // Animal Science. – 1998. – V. 78. – P. 131-145.
177. Ogorevc, J. Database of cattle candidate genes and genetic markers for milk production and mastitis / J. Ogorevc, T. Kunej, A. Razpet et al // Stichting International Foundation for Animal Genetics, Animal Genetics. – 2009. – P. 1-20.

178. Oltenacu, P.A. The impact of genetic selection for increased milk yield on the welfare of dairy cows/ P.A. Oltenacu, D.M. Broom // *Animal Welfare*. – 2010. – V. 19. – P. 39-49.
179. Orhan, H. Comparison of different lactation curve models for Holstein cattle/ H. Orhan, A. Kaygisiz// *Hayvansal Uretim*. - V. 43, no. 1. - 2002. – P. 94–99.
180. P'erochon, L. Modelling lactation curves of dairy cows with emphasis on individual variability/ L. P'erochon, J. B. Coulon, F. Lescourret// *Animal Science*. - V. 63, no. 2. – 1996. - P. 189–200.
181. Palmer, A. The preparation of crystalline globulin from the albumin fraction of cow's milk / A. Palmer // *J. Biol. Chem.* – 1934. – V. 104. – P. 359.
182. Pintus, M.A. Use of different statistical models to predict direct genomic values for productive and functional traits in Italian Holsteins / M. A. Pintus, E. L. Nicolazzi, J. B. C. Van Kaam // *J. Anim. Breed. Genet.* - 2013. - V. 130. - P. 32-40.
183. Pupkova, G.V. Milk protein polymorphism and milk production of Estonian Black Pied cows / G. V. Pupkova. // *Dairy Sci.* – 1980. – № 45. – P. 6620.
184. Rasmussen, H. B. Restriction fragment length polymorphism analysis of PCR-amplified fragments (PCR-RFLP) and gel electrophoresis valuable tool for genotyping and genetic fingerprinting / H. B. Rasmussen // *InTech*. – 2012. – №18. – P. 315-334.
185. Richardson, B.P. Evidence for a physiological role of prolactin in osmoregulation in the rat after it's inhibition by 2 – bromoergokryptine / B.P. Richardson // *Br. J. Pharm.* – 1973. – V. 47. – P. 623-624.
186. Ron, M. Determination of effects of milk protein genotype on production traits of Israeli Holsteins / M. Ron // *Journal of Dairy Science*. – 1994. – V.77 – P. 1050-1056.

187. Rorie, R.W. Evaluation of a Polymorphism in the Prolactin Gene as a Potential Genetic Marker for Mastitis Susceptibility and Milk Production/ R.W. Rorie, E.M. Howland, T.D. Lester // Arkansas Animal Science Department Report. – 2009. – P. 32–34.
188. Sabour, M. Association between milk protein genetic variants and genetic values of Canadian Holstein bulls for milk yield traits / M. P. Sabour, C. Y. Lin, A. J. Lee, A. J. McAllister // J Dairy Science.- 1996.- V.79. – № 6. – P. 1050-1056.
189. Sabour, M. P. Association of genetic variants of bovine growth hormone with milk production traits in Holstein cattle/ M. P. Sabour, C.Y. Lin, C. J. Smith // Anim. Breed. Genet. – 1997. – V. 114. – P. 435-442.
190. Scott, T. A. Use of Lactation curves for analysis of milk production data/ T. A. Scott, B. Yandell, L. Zepeda// Journal of Dairy Science. - V. 79, no. 10. – 1996. – P. 1885–1894.
191. Serre, J-L. Diagnostic techniques in genetics / J-L. Serre // Paris: JohnWiley & Sons Inc. – 2006. – 256 p.
192. Sitkowska, B. Effect of the polymorphic composite forms of beta-lactoglobulin on the milk yield and chemical composition in maximum lactation/ W. Neja, E. Wiśniewska, S. Mroczkowski, et al // Journal of Central European Agriculture. – 2009. – V. 10(3). – P. 251-254.
193. Smaragdov, M. Genetic mapping of loci responsible for milk production traits in dairy cattle/ M. Smaragdov// Russ. J. Genet. – 2006. - V. 42(1). – P.1-15.
194. Thaller, G. Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds/ G. Thaller, W. Kramer, A.Winter et al // Journal of Animal Science. – 2003. - №81. – P. 1911–1918.
195. Thatcher, W.W. Factors Influencing Reproductive Efficiency/ W.W. Thatcher, F. Moreira, J. Santos // Proceedings Of The 5th Western Dairy Management Conference. – 2001. – P. 107-115.

196. Tracovicka, A. SNPs analyses of the bovine LEP and PIT-1 genes by multiplex PCR-RFLP method and their effect on milk performance traits in Slovak Simmental cattle/ A. Tracovicka, N. Moravcikova, T. Minarovic, A. Navratilova // *Journal of Central European Agriculture*. – 2015. - V. 16(1). - P. 65-75.
197. Tsiaras, A. M. Effect of kappa-casein and betalactoglobulin loci on milk performance traits and reproductive performance of Holstein cows / A.M. Tsiaras, G. G. Bargouli, G. J. Banos // *Dairy Sci.* – 2005. – V. 88(1). – P. 327-334.
198. Val-Arreola, D. Study of the lactation curve in dairy cattle on farms in central Mexico/ D. Val-Arreola, E. Kebreab, J. Dijkstra// *Journal of Dairy Science*. - V. 87, no. 11. – 2004. - P. 3789–3799.
199. Valeria, F. Effect of milk production traits in Hungarian Simmental cows/ F. Valeria, K. Kovacs, A. Zsolna, et al // *Book and Abstracts of the 60th Annual Meeting of the European Association for Animal Production - 2009*. - №15. – P. 25-31.
200. VanRaden, P.M. Genomic imputation and evaluation using high density Holstein genotypes / P.M.VanRaden, D.J.Null, M.Sargolzael et al // *J. Dairy Sci.* – 2013. – V. 96. – P. 668–678.
201. VanRaden, P.M. International genomic evaluation methods for dairy cattle / P.M.VanRaden, P.G. Sullivan // *Genet. Selec. Evol.* – 2010. – V. 42 – P. 7.
202. Walawski, K. Beta-lactoglobulin and kappa-casein polymorphism in relation to production traits and technological properties of milk in the herd of Polish Black and White cows / K. Walawski // *Genet. Pol.* – 1994. – V.35. – P. 93-108.
203. Weigel, K. Genetics of Longevity and Productive Life/ K. Weigel // *WCDS Advances in Dairy Technology*. – 2006. – V. 18. – P. 29-40.
204. Weigel, K.A. Accuracy of direct genomic values derived from imputed single nucleotide polymorphism genotypes in Jersey cattle/ K. A.

- Weigel, G. Campos, A.I. Vazquez // *J. Dairy Sci.* - 2010. - V. 93. - P. 5423-5435.
205. Whitley, L. The world dairy situation/ L. Whitley// *Int. J. Dairy Technol.* – 2010. – V.63(3). – P.471-472.
206. Yamakawa, M. Expression of new members of the prolactin growth hormone gene family in bovine placenta: Isolation and characterization of two prolactin-like cDNA clones/ M. Yamakawa, M. Tanakava, M. Ko Yama // *J. Biol. Chem.* - 1990. - V. 265. - P. 8915-8920.
207. Yardibi, H. BTN1A1 , FABP3 and TG genes polymorphism in East Anatolian red cattle breed and South Anatolian red cattle breed/ H. Yardibi, A. Ates, I. Akı̇s// *African Journal of Biotechnology.* – 2013. – V. 12(20). – P. 2802-2807.
208. Zhou, G. L. Association of genetic polymorphism in GH gene with milk production traits in Beijing Holstein cows/ G. L. Zhou, H. G. Jin, C. Liu// *J. Biosci.* – 2005. – V. 30. – P. 595-598.
209. Zlatarev, S. Impact of genetic polymorphism of kappa-casein and beta-lactoglobulin loci on milk production traits in cows of the bulgarian rhodopean cattle/ S. Zlatarev, P. Hristov, D. Teofanova // *Comptes rendus de l'Acad_emie bulgare des Sciences.* – 2008. – T.61(12). – P. 1577-1582.
210. Zwierzchowski, L. Effect of polymorphism of growth hormon (GH), Pit-1, and leptin (LEP) genes, cow's age, lactation stage and somatic cell count on milk yield and composition of Polish Black-and-White cows/ L. Zwierzchowski, J. Krzyzewski, N. Strzalkowska // *Anim. Sci. Pap. Rep.* - 2002. – V.20(4). – P. 213-227.

УТВЕРЖДАЮ

Председатель СХПК племенной
завод им. Ленина Атинского
района Республики Татарстан

И.В. Хайруллин

20 16 г.

АКТ

результатов научно-хозяйственного опыта аспиранта ФГБОУ ВО
«Казанская ГАВМ» Рачковой Екатерины Николаевны

От «14» ноября 20 16 г.

Мы, нижеподписавшиеся: аспирант кафедры руководитель НТЦ животноводства ГНУ «ТатНИИСХ», д. с.-х. наук, профессор Шакиров Ш.К., главный ветеринарный врач СХПК «им. Ленина» Гилязов И.М., технологии животноводства ФГБОУ ВО «Казанская ГАВМ» Рачкова Е.Н. составили настоящий акт о том, что в 2014-2016 годах в условиях СХПК «им. Ленина» проводился научно-хозяйственный опыт по изучению взаимосвязи полиморфизма генов – кандидатов хозяйственно – полезных признаков с показателями молочной продуктивности, резистентностью к маститу и воспроизводительными качествами.

В ходе исследований установили, что на формирование признаков молочной продуктивности и репродуктивные качества оказывают влияние исследованные гены. В связи с этим рекомендуется проводить молекулярно-генетическое тестирование молочных пород скота по генам BLG, PRL и TG5. 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. На основании проведенных исследований были написаны научные статьи, опубликованные в рецензируемых журнал России.

Руководитель НТЦ животноводства
ФГБНУ «ТатНИИСХ», доктор с.-х. наук,
профессор

Ш.К. Шакиров

Аспирант кафедры технологии животноводства
ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ

Е.Н. Рачкова

Главный зоотехник
СХПК племенной завод им. Ленина
Атинского района РТ

Р.Н. Файзрахманов