

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
КАЗАНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ АКАДЕМИЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ
МЕДИЦИНЫ ИМЕНИ Н.Э. БАУМАНА

На правах рукописи

ШАМСИЕВА ЛЕЙСАН ВАРИСОВНА

**ВЕТЕРИНАРНО-ГИГИЕНИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРОДУКТИВНЫХ
КАЧЕСТВ КОРОВ НА ФОНЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ**

06.02.05 – Ветеринарная санитария, экология, зоогигиена и ветеринарно-
санитарная экспертиза

06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
доцент **Юсупова Г.Р.**

Научный консультант:
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор **Шакиров Ш.К.**

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	9
1.1 Молоко - важнейший продукт питания человека.....	9
1.2 Этиология мастита.....	14
1.3 Факторы, обуславливающие заболевание маститом коров.....	22
1.3.1 Паратипические факторы.....	22
1.3.2 Генетические факторы.....	28
1.4 Ветеринарно-санитарная экспертиза и физико-химические показатели молока при маститах.....	33
1.5 Ген лактоферрина и влияние его полиморфизма на устойчивость коров к маститу.....	39
1.6 Ген манноза-связывающего лектина и влияние его полиморфизма на устойчивость коров к маститу.....	45
2. ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.....	50
2.1 Материалы и методы исследований.....	50
2.2 Результаты собственных исследований.....	59
2.2.1 Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели молока коров при субклиническом мастите.....	59
2.2.2 Заболеваемость маститом коров с разными генотипами гена лактоферрина и гена манноза-связывающего лектина.....	61
2.2.3 Генотипирование крупного рогатого скота по лактоферрину.....	62
2.2.4 Полиморфизм гена лактоферрина у коров-первотёлок.....	64
2.2.5 Генотипирование крупного рогатого скота по лектину.....	66
2.2.6 Ассоциация полиморфизма гена лактоферрина с продуктивностью и качеством молока у первотёлок голштинской породы.....	70
2.2.7 Ассоциация полиморфизма гена манноза-связывающего лектина с продуктивностью и качеством молока у первотёлок голштинской породы.....	74

2.2.8 Сопряжённость признаков молочной продуктивности у коров с разными генотипами генов лактоферрина и манноза-связывающего лектина.....	79
2.2.9 Сопряжённость признаков молочной продуктивности у животных с разными генотипами гена манноза-связывающего лектина.....	83
2.2.10 Встречаемость комплексных генотипов генов манноза-связывающего лектина и лактоферрина у первотёлок голштинской породы	87
2.2.11 Встречаемость комплексных генотипов генов манноза-связывающего лектина и лактоферрина у первотёлок голштинской породы в зависимости от линейной принадлежности.....	88
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	95
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ.....	100
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	101
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	102
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	135

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. При современных технологиях производства молока заболевание вымени у коров – одно из самых распространенных. Мастит относят к категории сложных и убыточных заболеваний, особенно его скрытую форму, которая по данным Всемирной организации ветеринарного здравоохранения наносит весомый удар по экономике молочного скотоводства. Это происходит из-за преждевременной выбраковки лучших, высокопродуктивных коров, так как вырученные средства от сдачи их на бойню не возмещают затрат на выращивание. Поэтому сельхозпроизводитель недополучает от них молока и высокопродуктивного потомства – телят, а также вынужден нести затраты на его диагностику, лечение и др. Кроме экономического, мастит несёт и социальный вред, так как маститогенные микробы, присутствующие в молоке вызывают заболевания у людей [15].

Количество соматических клеток в молоке тесно связано с величиной воспалительного процесса, а также является хорошим диагностическим инструментом, который позволяет раннее выявление как субклинического, так и клинического мастита [256, 288].

Исследования последних лет подтвердили гипотезы, о том, что гены лактоферрина (*LTF*) и манноза-связывающего лектина (*MBL1*) могут служить потенциальными генетическими маркерами у крупного рогатого скота, связанными с изменениями количественного содержания соматических клеток в молоке, и соответственно, с устойчивостью к маститу у коров. Этот критерий, наряду с ассоциативной связью полиморфизма генов *LTF* и *MBL1* с другими хозяйственно-полезными признаками, также возможно использовать при отборе и подборе родительских пар в процессе селекционно-племенной работы [220, 237, 292, 226, 289, 268, 113, 19].

Степень разработанности темы. Изучение гена лактоферрина крупного рогатого скота, а также влияния его полиморфизма на устойчивость коров к

мастити описано в трудах зарубежных и отечественных ученых [260, 203, 288, 180, 275, 235, 237, 210, 190, 113, 19].

Исследования ряда зарубежных авторов показали взаимосвязь между полиморфными вариантами гена манноза-связывающего лектина (*MBLI*) с устойчивостью к возбудителям различных инфекций, в том числе и маститу [293, 269, 219, 250].

То, что ген *MBLI* может быть использован в качестве потенциального маркера устойчивости коров к маститу, нашло свое подтверждение в последующих научных работах [220, 292, 289, 268].

Однако в научных трудах этих учёных не имеется данных по генотипированию крупного рогатого скота по генам *LTF* и *MBLI* методами ДНК-технологий в условиях Республики Татарстан, и соответственно, не изучен аллельный полиморфизм данных генов и их ассоциативная связь с хозяйственно-полезными признаками, в т.ч. резистентности к маститу.

Нами проводились исследования по изучению влияния генетических факторов на молочную продуктивность и устойчивость коров к маститам. Работа является частью плановых комплексных исследований федерального государственного бюджетного научного учреждения «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по теме АААА – А17 – 117033110119 «Безопасность растениеводческой и животноводческой продукции» и плановых научно – исследовательских работ кафедры ветеринарно – санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы – исследование полиморфизма генов лактоферрина и манноза-связывающего лектина крупного рогатого скота и их ассоциативной связи с хозяйственно-полезными признаками.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

– генотипировать крупный рогатый скот по генам-кандидатам устойчивости к маститу коров – лактоферрина и манноза-связывающего лектина методом ПЦР-ПДРФ-анализа;

– провести анализ полиморфизма генов лактоферрина и манноза-связывающего лектина у первотёлок голштинской породы с учетом частоты встречаемости аллелей и генотипов (в т.ч. комплексных) исследуемых генов в разрезе линейной принадлежности коров;

– изучить ассоциацию полиморфизма генов лактоферрина и манноза-связывающего лектина с хозяйственно-полезными признаками первотелок с учетом ассоциации комплексных генотипов с молочной продуктивностью и качеством молока в разрезе линейной принадлежности коров.

– оценить селекционно-генетические параметры молочной продуктивности на основе сопряженности признаков молочной продуктивности у коров с разными генотипами генов лактоферрина и манноза-связывающего лектина.

Научная новизна работы. Оптимизированы протоколы постановки ПЦР-ПДРФ-анализа для генотипирования крупного рогатого скота по генам лактоферрина и манноза-связывающего лектина. Впервые в условиях Республики Татарстан изучен полиморфизм генов *LTF* и *MBL1* у первотёлок голштинской породы с учетом частоты встречаемости генотипов и аллелей исследуемых генов в разрезе линейной принадлежности коров. Изучена ассоциация полиморфизма исследуемых генов-кандидатов устойчивости к маститу коров с молочной продуктивностью и качеством молока первотёлок.

Теоретическая и практическая значимость работы. Основные положения и выводы диссертационной работы позволяют пополнить теоретические данные, касающиеся селекции крупного рогатого скота методами ДНК-технологий.

Оптимизированные протоколы постановки ПЦР-ПДРФ-анализа для генотипирования крупного рогатого скота по генам лактоферрина и манноза-связывающего лектина позволяют эффективно использовать их в молекулярно-генетических исследованиях, в частности при скрининге перечисленных генов-кандидатов резистентности к маститу коров. Полученные результаты исследований, касающиеся генотипов *LTF*, *MBL1* и их комбинаций, возможно

использовать в скотоводстве для улучшения хозяйственно-полезных признаков в контексте молочной продуктивности и качества молока, устойчивости к маститу.

Методология и методы исследования. Основой диссертационного исследования выступает комплекс общенаучных и специальных методов. При получении результатов исследования применялись общенаучные методы: аналогия, синтез, индукция, дедукция (для обеспечения теоретической составляющей); наблюдение, сравнение, моделирование (для обеспечения практической составляющей). Наряду с этим использовались специальные методы, в систему которых входили зоотехнические, методы ветеринарно-санитарной экспертизы и генно-молекулярной диагностики. При расчёте количественных показателей применяли математический и статистический методы. Использование вышеперечисленных методов обеспечило получение объективных и достоверных результатов исследования.

Основные положения, выносимые на защиту:

– Апробированные ПЦР-ПДРФ-протоколы для генотипирования крупного рогатого скота по генам лактоферрина и манноза-связывающего лектина обеспечили определение генотипической принадлежности исследуемой выборки первотёлок голштинской породы.

– Анализом полиморфизма генов лактоферрина и манноза-связывающего лектина у первотёлок голштинской породы определены частоты встречаемости генотипов и аллелей исследуемых генов, в том числе в разрезе линейной принадлежности коров.

– Изучением ассоциации полиморфизма генов *LTF* и *MBL1* с хозяйственно-полезными признаками первотёлок выявлены желательные генотипы, сопряжённые с молочной продуктивностью и качеством молока, резистентностью к маститу.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность исследования подтверждается применением комплекса методов и программ, что в итоге выражается согласованностью полученных результатов и выводов.

Основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных отчётах кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени имени Н.Э. Баумана» (Казань, 2015-2017 гг.); научных конференциях профессорско-преподавательского состава и аспирантов Казанской ГАВМ (Казань, 2015-2017 гг.); Всероссийской научно-практической конференции «Повышение эффективности АПК в современных условиях», посвященный 95-летию со дня основания ТатНИИСХ (Казань, 2015 г.); Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны» (Санкт-Петербург, 2015-2016 гг.).

Личный вклад автора в опубликованных в соавторстве работах состоит в выборе и обосновании методик эксперимента, непосредственном его проведении, обобщении полученных экспериментальных результатов, установлении закономерностей, формулировке выводов и оформлении научно-квалификационной работы.

Публикация результатов исследования. Основные положения диссертации изложены в 8 печатных работах, из которых 4 – в изданиях, одобренных Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 145 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка сокращений, списка использованной литературы и приложения. Работа содержит 24 таблицы и 9 рисунков. Список литературы включает 293 источников, в том числе 148 – зарубежных авторов.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Молоко – важнейший продукт питания человека

Известно, что молоко занимает одно из важнейших мест среди продуктов питания человека и является одним из полноценных продуктов питания, широко используемого как в детском, так и в диетическом питании. Пищевая ценность молока может составить конкурентоспособность любому другому продукту питания, однако, при этом, само молоко ни один продукт не заменит [11].

Молоко является сбалансированным соотношением белков, жиров, молочных сахаров, различных органических и неорганических солей, липидов и других веществ, и некоторые из них, например, лактоза и казеин, являются веществами, присущими только молоку. Компоненты молока усваиваются организмом на 95-98 %. Баланс этих компонентов обуславливает биологическую ценность молока. В целом молоко включает в себя около 250 химических веществ. В среднем соотношение основных компонентов молока составляет: воды 87,5 %, сухого вещества – 12,5 %, жира – 3,6 %, белка – 3,2 %, минеральных веществ – 0,7 %. Энергетическая ценность 1 кг молока среднего химического состава равна 2742 кДж (663 ккал) [6, 7, 117].

Молоко нужно рассматривать еще и как лечебно–профилактическое средство, применяемое при лечении многих заболеваний у людей. Так, выдающиеся ученые И.П. Павлов, С.П. Боткин, использовали молоко для лечения больных, и считали молоко самой легкой пищей. Во все его времена ценили за эти удивительные питательные свойства [17].

Физиологический процесс получения молока очень сложен. Для производства одного литра молока через вымя должно пройти более 500 литров крови, и только молочная железа способна выделять из крови питательные вещества для образования этого ценного продукта. В процессе лактации участвуют почти все органы коровы, но прежде всего, выработка молока обеспечивается за счет нервной и эндокринной систем. Лактация предусматривает процессы образования, накопления и выведения молока.

Очень важно получать молоко высокого качества, которое во многом зависит от состояния здоровья коров. Воспаление молочной железы является одним из наиболее часто встречающихся заболеваний и поэтому молоко, полученное от больных коров, представляет большую опасность для людей, особенно детей [9,202].

Молоко является не только продуктом питания для человека, но и сырьем для производства огромного ассортимента, как молочной, так и других отраслей пищевой промышленности [125].

Являясь скоропортящимся продуктом, молоко служит замечательной средой обитания и размножения всевозможных микроорганизмов. В хозяйствах стадо коров периодически подвергается исследованию на различные опасные заболевания. И согласно ветеринарно-санитарной оценке, молоко, полученное от коров, больных особо опасными заболеваниями, таких как бешенство, сибирская язва, бруцеллез и антропоозоозными заболеваниями, запрещается вывозить, а также использовать внутри хозяйства. Однако, при некоторых заболеваниях коров, такое молоко допускается к использованию в качестве сырья, но при условии прохождения соответствующей обработки (пастеризация, кипячение и т.д.).

Одним из наиболее распространенных заболеваний, наносящим сельхозпроизводителям наибольший экономический ущерб является мастит. Успешная реализация программы продовольственной безопасности и снабжения населения качественными продуктами питания зачастую осложняется из-за заболевания коров маститом. По литературным данным известно, что в различных хозяйствах, будь оно племенным, либо товарным, от 5 до 35% от общего числа выбракованных коров, являются животные с различной формой мастита, при этом 24-25% коров от общего дойного стада заболевают маститом. Последующий уровень удоя успешно вылеченных животных становится меньше на 7-32%. Мастит коров наносит большой экономический ущерб хозяйствам молочного скотоводства всех стран мира. При этом они в целом несут большие экономические потери в виде ветеринарных расходов на лечение,

недополученного молока и в некоторых случаях, вынужденного убоя животного [21, 13, 35, 110].

По данным Международной Молочной Федерации у больных субклиническим маститом коров удои за лактацию снижаются минимум на 10 %, при этом недополучают 500-600 кг молока от коровы с годовым удоем 5000-6000 кг [108, 206, 207, 170, 276].

По данным исследований М.А. Багманова с соавт. (2015), на животноводческих комплексах и фермах среди основных причин патологии молочной железы коров выделяют имеющие нарушения в технологии машинного доения, условий содержания, технологии кормления и проведения ветеринарно-санитарных мероприятий.

Качество молока зависит от четко налаженной системы мероприятий по предупреждению причин возможного отклонения от его нормы и их своевременного устранения. Под контролем должны находиться: плотность молока, которая через два часа после дойки должна быть в пределах 1027-1033 кг/м³; титруемая кислотность, которая должна составлять 16-18°Т, данный показатель значительно понижается у коров, больных маститом, при высокой бактериальной загрязненности; термоустойчивость молока, которая определяется по алкогольной пробе и в значительной степени зависит от стадии лактации, породы животных, рационов кормления, болезней; бактериальная обсемененность, которая в молоке должна быть не более 100 тыс. микроорганизмов в 1 см³, большое влияние на данный показатель оказывает уровень заболеваемости коров маститом; ингибирующие вещества – прежде всего наличие в молоке антибиотиков и других антимикробных препаратов, химических веществ.

Важнейшим косвенным показателем здорового вымени является уровень соматических клеток в молоке. Соматические клетки всегда присутствуют в молоке, но вот уровень клеток зависит от многих факторов. Вследствие постоянного обновления клеток эпителиальных тканей, старые клетки отмирают и попадают в молоко, их содержание составляет 60-70% от общего количества. К

ним же добавляются клетки крови – лейкоциты, которые выполняют защитные функции в организме. Соматические клетки не способны размножаться в выдоенном молоке в отличие от бактериальных клеток. Уровень соматических клеток у здоровых коров колеблется от 10000 до 100000 в 1 см³ и как правило, зависит от индивидуальных особенностей коровы [23, 69, 107, 84, 34, 124, 154, 214, 257].

Отмечена определенная взаимосвязь между содержанием белка, жира и количеством соматических клеток в молоке [174].

При выдаивании условно здоровых четвертей вымени у коров, у которых регистрируются разные формы мастита, повышается количество соматических клеток в сборном молоке [13].

Заболевания молочной железы коров представляют серьезную социально–экономическую проблему. Случаются массовые пищевые отравления людей, особенно тяжелые формы заболеваний происходят у детей, после потребления молока и молочных продуктов, содержащих патогенные микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности. Изготовление кефира, творога, сыров, йогурта затрудняется при попадании в сборное молоко незначительного количества (3-5%) маститного молока. А уж если в сборном молоке содержится 10-15% маститного молока, то оно становится не пригодным для переработки [106, 75, 109].

Возникновению у человека различного рода пищевых интоксикаций молоку и молочным продуктам относят одно из первых мест.

При поражении молочной железы коров маститом в первую очередь резко возрастает количество бактерий, т.е. молоко становится насыщенным болезнетворной микрофлорой. Патогенные микроорганизмы, содержащиеся в молоке (стрептококки, стафилококки, кластридии и др.) и продукты их жизнедеятельности (токсины) являются причиной многих заболеваний человека, таких как пищевые отравления (гастроэнтериты), ангина, отит и др [134].

Некоторые случаи отравления стафилококковым энтеротоксином приводят к летальному исходу человека. Содержащиеся в молоке токсины патогенного

стрептококка могут обуславливать возникновение менингитов у новорожденных, ангины. Токсин *E. coli*, вызывает тяжелые формы энтеритов тонкого отдела кишечника. Гноеродные бактерии приводят к гнойно-некротическим заболеваниям в тканях и органах человека [44].

В процессе технологической обработки молока невозможно уничтожить присутствующие в нем бактериальный токсин и споровую микрофлору. Это происходит в силу того, что токсины большинства патогенных микроорганизмов являются термоустойчивыми и не разрушаются при пастеризации и даже кипячении [75, 50].

Индикатором бактериальной обсемененности молока при приеме на молокоперерабатывающие предприятия является содержание в нем соматических клеток. Увеличение количества соматических клеток на 1 мл секрета молока выше нормы (5×10^3 /мл) свидетельствует о заболевании молочной железы коров одной из форм мастита, и соответственно о наличии в нем патогенной микрофлоры.

Согласно техническому регламенту Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» ТР ТС 033/2013 количество соматических клеток нормируется в сыром молоке не более 750 тыс. клеток в 1 см^3 , ГОСТу 31449-2013 – не более 400 тыс. клеток в 1 см^3 . Повышение уровня соматических клеток может указывать на нарушение секреции или появление заболевания [69, 74, 84, 123].

В связи с выше изложенным, плановое исследование молока коров на содержание в нем соматических клеток является неотъемлемой процедурой, как на молочных фермах, так и при приемке на молокоперерабатывающие предприятия, с целью сохранения безопасности для жизни и здоровья человека.

В настоящее время сельхозпроизводители уделяют большое внимание качеству и количеству получаемого молока, которое во многом зависит от генетического потенциала коров, технологии содержания, кормления и доения животных. Экономическая прибыль имеет прямую зависимость от уровня

производства и поэтому отбор лактирующих коров в ряде стран проводится строго по качеству и количеству получаемого молока.

1.2 Этиология мастита

Мастит – воспаление молочной железы, возбудителем которого, как правило, являются микроорганизмы семейства: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus disgalactia*, *Staphylococcus aureus*, иногда – *E. coli*. Данное заболевание характеризуется патологическими изменениями в тканях и в секрете молочной железы. Характеризовать мастит можно не только какими-либо местно-происходящими процессами, но и ярко-выраженными реакциями всего организма, что проявляется в виде его угнетения, понижения аппетита, нарушения функции ЖКТ, и сердечно-сосудистой системы, повышения температуры тела и т.д. [28, 252, 213, 241, 171, 281, 290, 287].

Выделяют два типа мастита – это мастит инфекционного патогенеза и патогенеза, связанного с окружающей средой. Патогенез инфекционного мастита обуславливают условно-патогенные микроорганизмы: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus disgalactia*, *Corynebacterium bovis*. Эти возбудители являются постоянными обитателями зараженного вымени коров. Данный вид мастита проявляется в виде увеличения числа соматических клеток (лейкоцитов и эпителиальных клеток) и носит субклинический характер. Патогенез мастита, связанный с окружающей средой, обуславливают бактерии *E. coli*, *Streptococcus uberis* [166, 81, 63, 240, 68, 88, 2, 3].

Именно мастит является основной причиной снижения уровня молочной продуктивности коров. Известно, что в 92% случаях возникновения мастита вовлечены 1-2 доли вымени, и только в 8% случаев – 3-4 доли. По данным Любимова А.И. с соавт. (2010) при возникновении мастита у коров в хозяйствах идет снижение надоев на 71%. Результаты Шайхаматова М.Х. с соавт. (1996) показали, что потери в период болезни составляют 47-62 % [91, 140].

Попов Л.К. с соавт. (2000) в своих исследованиях установили, что от коров, переболевших скрытым маститом получено молока за лактацию от 2,66% до 32% ниже. Как выяснилось, мастит коров является наиболее дорогостоящим заболеванием. Наибольший ущерб приносит субклинический мастит, так как протекает без видимых клинических признаков [111, 123, 66, 127, 139].

Наиболее чаще подвержены маститу высокопродуктивные коровы. Так с учетом периода заболевания и после клинического выздоровления потери молока составляют в среднем 10-15% годового удоя на 1 голову. При этом до 30% переболевших маститом коров выбывают из стада в связи с атрофией четвертой вымени. Таким образом, средняя продолжительность лактации коровы составляет – 3,5-4,5 лет, что в свою очередь приводит к экономическим потерям в виде недополучения телят минимум 2-3 головы, а также снижению уровня удоя за 3-4 лактации [138].

Согласно данным Недеревой О.Н. (2014), в связи с проблемой маститов в хозяйствах потери могут составить до 18 % и более по молоку, и до 30-40%, а в иных случаях и до 50% по выбыванию коров из дойного стада. А вот в сухостойный период у 70% коров мастит протекает в скрытой форме [99].

Заболевание маститом носит различные характеры протекания. Мастит с какими-либо клиническими признаками – клинический мастит, или в скрытой форме – субклинический мастит. Относительно вида воспалительного процесса мастит дифференцируется на серозный, катаральный, фиброзный, гнойный, геморрагический. Это клинические формы проявления мастита. Продолжительность заболевания маститом имеют длительность от нескольких дней (острый – до 10 дней) до нескольких недель (до 3 недель – подострый), месяцев (свыше 3 недель до нескольких месяцев – хронический) [196].

Серозная форма мастита может развиваться, как после механического повреждения сосков вымени, так и при нарушении процесса доения, после отела. При этом клинически данная форма может проявляться в виде:

- увеличения одной или 2-х четвертей вымени;
- местного повышения температуры и болезненности при пальпации;

- общей гиперимии вымени;
- снижения общей секреции молока на 10-30%;
- изменения цвета молока на поздних стадиях и консистенции в виде казеиновых хлопьев и сгустков [133, 155, 2, 118].

Катаральная форма мастита характерна для молодых коров. При этом происходит воспаление молочных ходов, каналов, а также альвеол молочной железы. Чаще всегда развивается, как следствие механических травм сосков, с дальнейшим обсеменением патогенной микрофлорой. Катаральный мастит имеет следующие признаки:

- происходит утолщение соска и его закупорка творожистым экссудатом;
- болезненность при пальпации соска, а также флюктуация его основания;
- редко происходит местное повышение температуры;
- молоко приобретает жидкую консистенцию, иногда содержит хлопья, распадающиеся на фракции;
- цвет молока приобретает синеватый либо желтоватый оттенок [51, 52, 132, 158].

Особое внимание ветеринары рекомендуют обратить на фиброзную форму мастита, так как эта форма развивается быстро и протекает с осложнениями. Может быть следствием катарального мастита, эндометрита и гнойной формы перикардита. Характеризуется, главным образом, отложением фибрина в просвете альвеол и молочных протоков, реже в молоке обнаруживается кровь. Данная форма мастита имеет следующие клинические симптомы:

- ухудшение общего состояния животного в виде угнетения, понижения аппетита;
- пораженные доли вымени болезненны при пальпации, а также наблюдается крепитация;
- увеличенная местная и общая температура до 40-41⁰С;
- уровень молокоотдачи снижается на 30-80 %, либо полностью прекращается;

- из сосков можно наблюдать выделение секрета желтовато-серого цвета с примесью фибрина [132, 133, 163].

Гнойный мастит характеризуется тремя формами протекания – гнойно-катаральная, флегмона вымени и абсцесс вымени. Для всех этих форм гнойного мастита характерно:

- общее состояние резко ухудшается (отказ от корма и питья);
- общая температура тела увеличена до 41°C ;
- молочные протоки и альвеолы заполнены гнойным экссудатом;
- при флегмоне вымени увеличены надвыменные лимфатические узлы и выступают над кожей;
- болезненность и отечность кожи;
- удой снижается на 30-70 %;
- молоко имеет горький вкус и неприятный запах, при абсцессе при сцеживании наблюдается гнойная масса;
- при абсцессе вымени, также наблюдается хромота животного на заднюю конечность со стороны пораженной доли вымени [132, 53, 48, 162, 164].

Существует еще одна, специфическая форма мастита, вызванная опасными инфекционными заболеваниями – геморрагический мастит. Эта форма характеризуется множественными кровоизлияниями в толще молочной железы, просвете альвеол и молочных протоков, а также наличием в ее тканях геморрагического экссудата. Клиническая симптоматика следующая:

- общее угнетение животного (отказ от корма и питья, отсутствие жвачки и отрыжки);
- наблюдается отечность вымени, при этом она покрыта красными багровыми пятнами;
- температура выше 41°C , учащается пульс и дыхание;
- может, наблюдается желтуха видимых участков слизистых оболочек, как следствие разрушение огромного числа эритроцитов;
- снижается уровень молочной продуктивности;

– молоко имеет водянистую консистенцию с мелкими хлопьями, а цвет красноватого цвета («мясная вода») [132, 133, 53, 52, 144, 178, 194, 231].

В зависимости от продолжительности заболевания определяется форма мастита. Также по мере ухудшения состояния животного один вид мастита может переходить в другой. Например, от легкой формы к более тяжелой, которая вызывает воспалительные процессы вплоть до летального исхода коровы.

Клинические признаки мастита коров – это болезненность вымени, при пальпации припухлость (отечность), ее уплотнение, жар и др.

Известно, что бактерии проникают в молочную железу тремя путями – гематогенно, галактогенно, лимфогенно [50].

Исследования Воскобойникова В.М. (1981) и Авдеенко с соавт. (2009) выявили, что, проникнув в молочную железу, патогенные микроорганизмы размножаются, при этом выделяют продукты жизнедеятельности, вызывая вазодилатацию. Это в свою очередь приводит к увеличению притока крови в вымени и повышению сосудистой проницаемости. В свою очередь воспалительные медиаторы (лейкотриены, токсические метоболиты кислорода) увеличивают капиллярную прозрачность железистой ткани вымени (Авдиенко). Инфильтрированная в ткань молочной железы жидкость вызывает отек вымени. При этом поступившие в железистую ткань макрофаги начинают процесс фагоцитоза, уничтожая при этом бактерии [33, 4, 10, 12, 211].

В зависимости от численного содержания соматических клеток в 1 мл молока, можно определить условно уровень инфекции молочной железы, например: до 250 тыс. – практически здоровая корова; 250-400 тыс. – возможно инфицированность вымени ограничено; 400-750 тыс. – вероятность инфекции высока; свыше 700 тыс. – вероятность инфекции очень высока [61].

Число соматических клеток в 1 мл молока от одной четверти вымени коров равной 300-800 тыс/см³ свидетельствует о субклиническом мастите [73, 74].

Бычкова В.А. с соавт. (2011) сообщают, что при заболевании коров скрытой формой мастита молочная продуктивность снижается на 191,5 кг (3,1%), а при поражении молочной железы клинической формой уровень удоя снижается на

396,6 кг, и за 305 дней лактации недополучено молочного жира 6,08 кг и 12,78 кг, соответственно [24].

Данные ряда авторов показали, что среди клинической формы маститов катаральный встречается в 9,53%, распространенность серозной формы - 2,96 %, гнойно-катаральной формы – 2,34%, а вот на субклиническую форму мастита приходится 28,05 % из всех исследованных коров [26, 27, 85].

Исследования Сиротиной В.Ю. (2005) установили, что мастит обуславливает ухудшение воспроизводительных способностей коров айширской породы. У больных коров отмечали повышение индекса осеменения в 1,09-1,16 раза, периода осеменения на 3,1-28,7 суток, межотельный период на 10,4-22,4 суток, сервис период на 10,2-23,8 дней [128].

Осколкова М.В. с соавт. (2014), изучая зависимость заболевания маститом от сезона года, установили, что пик заболеваемости приходится на январь (25), февраль (31), март (28), в дальнейшем наблюдается спад. Так, наименьшее количество маститных коров приходится на период с июня по сентябрь, и в среднем составило 4,5 головы [103].

Отрицательную корреляцию между уровнем удоя и устойчивостью к маститу отмечают в своих исследованиях [168, 196, 181].

В структуре выбытия коров айширской породы из стада в опытах Сиротиной В.Ю. (2005) одно из первых мест занимает мастит – 38,9%. При этом доля животных, больных клиническим маститом составила – 46,8%, а скрытой формой субклинического мастита – 8,8% [128].

Маститы скрытого характера имеют ту же этиологию, как и клинические его формы, так как он является их предшественником. Так, несвоевременное доение, неполное выдаивание, чрезмерная задержка доильных станков даже по завершению рефлекса молокоотдачи может привести к возникновению у коров субклинического мастита [204, 284, 31, 145].

Субклинической форме мастита в хозяйствах уделяют особое внимание, так как эта форма не имеет клинических признаков, либо они слабо выражены.

Однако, если вовремя не обнаружить у животных скрытую форму мастита, он может перейти в одну из форм клинического мастита.

Субклинический мастит характеризуется расстройством функции молочной железы и рядом изменений биохимического состава молока. При этом реакция молока приобретает слабощелочной характер, наблюдается увеличение глобулинов, хлоридов, альбуминов, в разы увеличиваются клетки лейкоцитов и эпителия альвеол молочной железы, в тоже время идет снижение содержания лактозы, казеина, кальция и фосфора, увеличивается количество соматических клеток, что служит возможным индикатором при диагностике коров на мастит и оценке качества молока [64, 65, 87, 248, 189].

Начиная с 1960-х годов количество соматических клеток в молоке было признано наилучшим индикатором прогнозирования наличия инфекции в молочной железе и в зависимости от пропорции его фракционного состава (лейкоцитов, нейтрофилов, лимфоцитов и др.) можно судить о степени воспалительного процесса в вымени [251, 213, 246, 194, 208, 270].

Соматические клетки представляют полиморфноядерные нейтрофилы. Происходящий при мастите хемотаксис клеток железистой ткани и разрушение клеток эпителиальной ткани приводит к образованию соматических клеток [97, 93, 109].

На сегодняшний день существует несколько методов тестирования на выявление у коров субклинического и других видов мастита, основанные на выявлении изменения состава молока.

В связи с отсутствием явных клинических признаков заболевания коровы маститом, скрытую ее форму можно охарактеризовать следующими симптомами:

- незначительные очаговые уплотнения;
- отечность вымени;
- поражение одной из четвертей вымени с ее уменьшением в объеме;
- снижается тургор паренхимы молочной железы;
- снижение молочной продуктивности и качества молока.

В соответствии с ветеринарными правилами, ветспециалисты ежемесячно обязаны проводить диагностику дойного стада, на выявление скрытого мастита.

Известно, что при машинном доении на молочных фермах до 15 % коров поражаются субклиническим маститом. Несвоевременное выявление субклинического мастита может в дальнейшем привести к гипогалактии и агалактии в связи с гибелью клеток секреторного эпителия молочной железы, где их место разрастается соединительной тканью [119].

Диагностику субклинической формы мастита в лактационный период проводят экспресс методом на определение количества соматических клеток в 1 мл молока, также существуют методы, основанные на оценке изменения цвета секрета молока под действием растворов: 2% мистидина, 5% димастина, мастоприма, 2% мастотеста. Универсальная система подсчета количества соматических клеток в молоке существует в США – Калифорнийский тест [232].

В период сухостоя и запуска коров исследования животных на выявление у них скрытого мастита основано на обследовании молочной железы, органолептической оценке молока и определении в нем количества соматических клеток на 1 мл пробы. При обязательной сертификации молока и молочных продуктов количественное содержание соматических клеток в молоке является одним из показателей их качества. В 1 мл молока, полученного от клинически здоровой коровы, содержание соматических клеток составляет в среднем 250 тыс/см³, а вот у животных с клинической формой мастита их количество увеличивается до 950 тыс/см³ и более. Кислотность молока коров больных скрытой формой мастита имеет тенденцию снижения до 8-12 °Т. [50, 223, 131, 76, 77].

Абдессемед Даля (2014) в своих исследованиях выявил, что в период с 2011 по 2013 гг. на долю субклинического мастита коров приходилось от 22,5 до 24,5 % от общего числа особей, заболевших маститом [1].

Исследованиями ряда авторов установлено, что наличие большего числа соматических клеток может служить косвенным показателем вероятности наличия в молоке золотистого стафилококка [255, 197, 196, 121].

Данные Гаврина А.Н. (2012) показали, что ежегодно в хозяйствах Тамбовской области субклиническим маститом поражается 25,7% дойных коров, а наименьшее их количество зарегистрировано в индивидуальных крестьянских хозяйствах – 2,13%, в крупных хозяйствах с количеством 60-800 голов – 10,34-33,8 % дойных животных [35].

Волынкина М.Г. (2014) сообщает, что в исследовании популяции крупного рогатого скота заболеваемость маститом коров составляет 29,0%, при этом основная ее часть болела скрытой формой, и лишь у 7 коров выявлена клиническая форма мастита [32].

Исследования Осколковой М.В. (2014) на черно-пестрой породе коров, выявили, что из 415 голов 252 болели скрытой формой мастита [103].

В своих опытах Павленко О.Б. (2013) у коров в период лактации от 37,6 до 42% случаях обнаруживала субклиническую форму мастита, преимущественно с месяца сентября по февраль, а в сухостойный период численность составила 25,4% [105].

Исследованиями ряда авторов установлено, что субклинический мастит имеет высокую частоту встречаемости, как при лактации, так и в сухостойный период, в среднем 38,9% и 53,5%, соответственно [71, 106, 112, 86, 122].

1.3 Факторы, обуславливающие заболевание маститом коров

Известно, что все количественные признаки молока, в том числе и содержание соматических клеток, контролируются одновременно паратипическими и генетическими факторами, то есть мастит носит полиэтиологический характер.

1.3.1 Паратипические факторы

Известно, что все количественные признаки молока, в том числе и содержание соматических клеток, контролируются одновременно

паратипическими и генетическими факторами, т.е. мастит носит полиэтиологический характер.

К основным паратипическим факторам можно отнести:

- нарушение технологии доения;
- нарушение санитарно-гигиенических норм содержания;
- нарушение условий кормления, состав и качество кормов и др.

Как следствие влияния всех выше перечисленных факторов на животное, которое приводит к воспалению вымени – это соответственно бактериальная инфекция. Одна из форм воспалительного процесса вымени коров – это мастит, который распространяется на молочных фермах с огромной скоростью от коровы к корове вместе с обсемененным молоком через доильные установки, средства для мытья сосков вымени и элементарно рук доярок. В связи с неустойчивостью данных бактерий в условиях окружающей среды, они с целью выживания, размножения ищут пути проникновения внутрь сосков и затем молочной железы [5, 78].

Нарушение технологии доения и др.

Одной из причин возникновения мастита коров является нарушение технологий машинного доения. Первой линией обороны организма коров против патогенной микрофлоры является сосок вымени. В процессе машинного доения изменяется диаметр канала соска, т.е. создаваемый при этом вакуум обуславливает приток лимфы и крови к соску, при этом сосок набухает, и молочный канал соответственно расширяется. По завершению процесса доения канал соска остается расширенным в течение 1-2 часов, таким образом, допуская свободный проход для проникновения патогенных микроорганизмов [162, 69].

Так проникшие бактерии в первую очередь поражают ткани, выстилающие крупные молочные протоки. Здесь они сталкиваются с лейкоцитами, которые могут обволакивать и уничтожать бактерии. Таким образом, эти клетки формируют вторую линию защиты организма. Так как часть бактерий выживают, они продолжают свою жизнедеятельность, проникая при этом дальше в более мелкие протоки и альвеолы. Клетки, вырабатывающие молоко в ответ на токсины

патогенной микрофлоры, секретируют специфические вещества, увеличивающие проницательную способность кровеносных сосудов. В зараженном участке скапливаются лейкоциты, минералы и свертывающие вещества. Образовавшиеся сгустки могут закупоривать молочные протоки, тем самым изолировав пораженные участки. Таким образом, секреторные клетки приходят в непродуктивное состояние. При этом одновременно происходит сжатие и разрушение альвеол, их структура перерождается в соединительную ткань. Все эти процессы образуют третью линию защиты организма коров на пути устранения и нераспространения инфекции.

Завышенный вакуум (свыше 400 мм. рт. ст – при трехкратном доении, и 360 мм. рт. ст. при двухкратном), колебания вакуума под соском более 50 мм.рт.ст., изменение частоты пульсации отсутствие четкого понимания процесса доения (правильное подключение доильной установки, подмывание коровы холодной водой, использование одних и тех же средств гигиены на группу животных, неудовлетворительная санитарная обработка доильного оборудования), превышение сроков использования доильных установок и их комплектующих и наконец, различные промежутки времени между дойками группы коров в течение суток [16, 29, 53].

Также необходимо периодически проводить контроль сосков на наличие механических повреждений и возникновение различного рода поражений (папилломы). Доение больных животных должно производиться отдельно от остальных и желательно в последнюю, очередь. Немаловажную роль имеет размер, форма и расположение вымени и сосков, неравномерное развитие которых приводит к холостому доению, что в свою очередь может привести к воспалению вымени и маститу [57].

Нарушение санитарно-гигиенических норм содержания.

При нарушении санитарно-гигиенических норм содержания животных в коровнике развивается патогенная микрофлора, которая с завидной скоростью распространяется через доильные аппараты, навоз и воздушно-капельным путем. Для обеспечения и поддержания должного санитарного состояния

животноводческих помещений и территорий молочных ферм необходимо постоянно следить за их чистотой и благоустройством. К наиболее, серьезным нарушениям санитарно-гигиенических условий содержания животных можно отнести:

- отсутствие отдельных коровников для изоляции больных животных;
- отклонение от норм выдерживания определенного микроклимата, (температура, газовый состав атмосферы, освещенность, уровень звукового давления и др.), так как есть понятие в ветеринарии – тепловой стресс коров;
- отсутствие на фермах достаточного количества чистой питьевой воды;
- своевременная уборка навоза (в сутки одно взрослое животное выделяет до 40 кг навоза), а как известно навоз является хорошей питательной средой для роста и размножения различной микрофлоры;
- отсутствие гигиеничной подстилки, особенно в зимний период, приводит к быстрому охлаждению вымени, так как бетонные и кафельные полы на фермах обладают высокой теплопроводностью [141].

Таким образом, общая ухоженность животных и соблюдение санитарно-гигиенических норм содержания является эффективным средством контроля распространения мастита.

Нарушение условий кормления, состав и качество кормов.

При разработке в хозяйствах мероприятий по профилактике маститов, необходимо учитывать сбалансированность и доброкачественность кормов, входящих в рацион кормления коров. Так, по данным Батракова А.Я. (2009), Солдатова А.П. (1991), в ранний лактационный период коровы подвержены стрессам, связанных с обменом веществ, что в свою очередь снижает иммунную реакцию организма на инфекционные агенты. Снижение иммунного статуса организма коровы приводит к вспышкам субклинических заболеваний, в том числе и мастита. Особенно большую опасность представляют корма, содержащие остаточные пестициды, повышенные количества нитратов и нитритов, пораженные плесенью и грибами [14, 130].

Недостаток протеина в рационе коров может спровоцировать у животного воспаление вымени (мастит), как следствие нарушение функции печени при кетозах и стенозах [248].

В сухостойный период основой кормов коров должны служить структурированные корма, чем и служит качественное сено и солома. А вот избыток калия и натрия в тот же период может привести к нарушению баланса электролитов, что влечет за собой соответственно отек вымени [152].

Неправильное соотношение кальция и фосфора в рационах молочных коров в сухостойный период приводит к гипокальциемии животных сразу же после отела, что напрямую связано с развитием мастита [279].

Немаловажную роль играет качества кормов. Корма не должны содержать механических примесей, веществ, имеющих токсичность и вредность для здоровья и жизни животных. В соответствии с ветеринарно-санитарными правилами, каждая партия силоса, сенажа, комбикорма и др. как перед закладкой, так и перед тем как скармливать животным обязательно должны подвергаться различным лабораторным исследованиям (токсикологическому, микробиологическому, биохимическому и др.).

Необходимо отметить, что на развитие мастита у коров большое значение имеет стадия и период лактации. Зачастую на 10-11 месяцах наблюдается наибольшее количество соматических клеток в молоке, а их минимальное количество на 2-ом месяце лактации. Также по данным Закопайло В.А. (2006) в утреннем молоке содержание соматических клеток меньше, чем в вечернем, а также додоенное молоко отличается большим их количеством в отличии от первых струек молока.

Климова Е.Н. (2000), Лях В.Я. с соавт (2008) в своих исследованиях выявили, что в молозиве количество соматических клеток увеличивается, а к первой лактации снижается, однако имеет тенденцию к увеличению с каждой следующей лактацией [67, 92].

По данным Короткова А.С. с соавт. (2006) число соматических клеток имеет динамику увеличения в летний период и превышает среднегодовой показатель на

83,0 тыс/см³. также им установлено, что с повышением уровня удоя число соматических клеток увеличивается, так, например, у животных с уровнем удоя от 8000-8500 кг на 33,9 тыс./мл соматических клеток больше, чем у особей с уровнем удоя в среднем 6000 кг [77].

Корельская Л.А. с соавт. (2016) в своих исследованиях выявили, что наибольшее значение показателя числа соматических клеток отмечено в весенние периоды (март-май) – 509 тыс./мл-511 тыс./мл при беспривязной технологии содержания и при системе доения «Европаралелли». А вот при доении роботом этот показатель соответствовал нормам евростандарта – 288 тыс./мл [72].

Исследованиями Васильевой О.К. (2006) установлено, что содержание соматических клеток в среднем на 30-70 % обусловлено паратипическими факторами [30].

Сравнительный анализ Ермашинной Е.В. (2009) не выявил статистической достоверности различий, как по содержанию соматических клеток, так и сезонами отела у коров черно-пестрой и айширской породы [47].

Калмыкова О.А. с соавт. (2011) отмечают, что беспривязная система содержания коров благоприятно влияет на число соматических клеток в молоке по сравнению с привязной, где разница составила 205 тыс./мл [60].

Исследования Любимова А.И. с соавт. (2010) установили, что молоко коров, переболевших, а течение лактации маститом, за 10 дней до запуска не отвечает нормам, как по содержанию соматических клеток (от 972,7 тыс./мл до свыше 1500 тыс./мл), так и по бактериальной обсемененности. В то время как технический регламент на сырое молоко, запрещает принимать на молокоперерабатывающие предприятия только за пять дней до запуска [91].

Полученные результаты исследований Павленко О.Б (2013) показывают, что в послеродовой период в среднем 24,4% коров заболевали субклинической формой мастита, а вот период лактации не оказал существенного на это влияния. [105].

При определении числа соматических клеток в молоке коров в зависимости от периода лактации и заболеванием маститом Конопельцев И.Г. с соавт. (2010)

выявили, что на период лактации 2-6 месяца среднее содержание соматических клеток на 1 мл секрета составило 341,7 тыс. в молозивный, стародойный и период запуска их количество составило 639,8 тыс., 1509,3 тыс. и 1602,7 тыс. соответственно [70].

Сезонность распространения мастита подтвердил в своих исследованиях Решетка М.Б. (2013). Так в период с марта по май, и с сентября по ноябрь приходится пики заболеванием маститом. В период лактации 10,7-49,3 %, в период запуска – 37,0 %, в период сухостоя – 34,0-74,0 % молочной железы коров поражались маститом, из них 46 % клинической формой, и 54 % скрытой формой. [115].

Таким образом, риск возникновения мастита существенно возрастает в связи с недостаточностью и неполноценностью кормления, при котором наблюдается ослабление иммунного статуса организма коров и местных защитных реакций.

1.3.2 Генетические факторы, обуславливающие мастит коров

Очень много стран, которые отмечают, что присутствие и количество соматических клеток в молоке коров обусловлено наследственной предрасположенностью (порода, линия быка-отца, семейство, генотип отца и матери) и в ряде стран этот признак включен как один из показателей оценки индекса племенной ценности.

Многолетние исследования этиологии маститов, механизмов их передачи и лечения установили, что данное заболевание молочной железы коров обусловлено многими внешними факторами и генетическими.

На сегодняшний день одним из важнейших направлений в селекции молочного скота, является селекция на устойчивость коров к маститу, основанная на их генетической предрасположенности. Поэтому необходимо своевременно выявлять животных резистентных к маститу в связи со многими факторами, в том числе и с породной и линейной принадлежностью. Различные данные говорят о

том, что наследственные факторы восприимчивости к маститу в пределах одной породы составляют от 12% до 20%.

Калмыкова О.А. (1998) в своих исследованиях на помесном черно-пестром скоте по голштинской породе выявила, что среди коров, имеющих менее 45 % доли кровности по голштинской породе болело маститом 46,8% особей, тогда как с кровностью более 76%, болели менее 18,9% ($p < 0,01$). Влияние доли крови по голштинской породе достоверно составило 0,32 ($p < 0,01$) [59].

По данным Лукьянченко А.В. с соавт. (2015) более восприимчивы к маститу коровы симментальской породы. Из наблюдаемых выборки животных не болело маститом лишь 22,2%, а 24,1% коров имели хроническое поражение вымени. Среди коров холмогорской породы не болели маститом 42,6% голов. У коров красной степной породы заболеваемость выше в сравнении с другими породами на 5-9% в период раздоя и снижается к концу лактации. В среднем заболеваемость маститом коров холмогорской породы варьировала от 15,0 до 38,1%, красной степной – 17,1-32,6%, черно-пестрой породы – 11,1-38,3%, симментальской – 23,6-38,6% [90].

Результаты исследований Короткова А.С. (2004) выявили, что наименьшее количество соматических клеток было в молоке коров айширской породы – на 29,6 тыс./мл меньше, чем у сверстниц голштинской породы ($p < 0,01$) и на 24,5 тыс./мл меньше, чем у коров черно-пестрой породы ($p < 0,05$) [76].

Обусловленность породными особенностями заболевания коров субклиническим маститом отмечает Карпенко Ю.А. (2013). Его исследования установили, что в связи с плохой адаптационной способностью коров голштинской породы к местным условиям, их заболеваемость клиническим маститом выше на 12%, относительно коров красной-степной. Также он отметил, что в более тяжелой форме клинический мастит протекает у коров черно-пестрой и голштинской породы, чем у особей симментальской популяции [62].

Влияние породы, как генетического фактора на устойчивость коров к маститам отмечает в своих исследованиях Kelm et al. (2001) [209].

Карташова В.М. с соавт. (2004), Болгов А.Е. (2009) в своих опытах подтвердили высокую резистентность черно-пестрой породы коров к маститам [66, 20].

В своих исследованиях Nobrega D.V. et al. (2011) установил, что высокой устойчивостью к маститу обладают коровы голштинской породы в сравнении с особями джерсейской породы [242].

Наибольшая резистентность к маститу, по данным Abebe R. et.al. (2016), отмечается у чистокровной местной породы крупного рогатого скота – Зебу. В сравнении с помесью голштино-фризского скота с Зебу их устойчивость в 16,4 раза выше [146].

Brade W. et al. (2001) в своих исследованиях выделил черно-пеструю и бурую породу коров, как наиболее устойчивых к маститу. При этом они также отмечают, что у симментальской породы коров коэффициент наследуемости равен нулю [161].

Гаврин А.Н. (2012) сообщает, что реже маститом поражаются коровы красной-тамбовской и симментальской породы (18,6% и 18,3%, соответственно), а наиболее подверженными являются особи черно-пестрой породы (23,2%). Подобные результаты нашли свое подтверждение и в исследованиях Попова Л.К. (1998) [35, 110].

Коровы голштино-фризской и джерсейской породы более подвержены заболеванию маститом по сравнению с местными породами [234].

Данные Кремянского В.И. (1965) и Кузмича Р.Г. (2009) свидетельствуют о существующих различиях между животными с высокой устойчивостью к маститам и животными с наследственной принадлежностью к ним, что обусловлено встречаемостью генотипов различных систем белков и антигенов групп крови [79, 82].

Калмыкова О.А. (1998), изучая зависимость заболеванием маститом коров различной линейной принадлежности, не выявила ни одно стадо, свободных от данной болезни. Уровень пораженных особей варьировал от 10,0 % в линии быка-производителя Барона 307369 до 83,3 % в линии Рикуса 25415. Относительно

устойчивыми явились коровы, принадлежавшие линии Монтвик Чифтейна 95679 с встречаемостью 18,9%, что является ниже среднего по стаду [59].

Сравнительные исследования Мануиловой Ю.Г. (2016) показали, что среди дочерей быков-производителей линии Рефлекшен Соверинг 198998 было наименьшее количество заболевших маститом – 6,06%. При этом они имели наиболее высокий уровень молочной продуктивности – 6 746,6 кг за 305 дней лактации. Высокую встречаемость мастита автор также отметил среди коров линии Монтвик Чифтейна 95679 – 16,9% [94].

Скребневой Е.Н. (2003) в условиях хозяйства Орловской области, было установлено, что коровы, принадлежащие линии Силинг Трайджун Рокит 25803 и Орла 1428, имели высокую резистентность по отношению к маститам (коэффициент устойчивости составил $<0,3$). А менее устойчивыми оказались дочери быков-производителей Рефлекшен Соверинг 198998 и Вис Айдиал 10113415 [129].

Результаты, полученные Лукашенко Т.В. с соавт. (2016) показывают высокую устойчивость к маститам за период лактации 280 дней у коров черно-пестрой породы линий Рефлекшен Соверинг 198998 – 18,0% (быки-отцы – Гладиолус 57, Фрейланд 221 и Джинс 7794) и линии Вис Айдиала – 18,7% (быки-отцы – Дуглас 96288, Джурор 7783) [89].

Наиболее резистентными к заболеванию маститом оказались коровы быков-отцов Орешек-1 и Боя, что составило 9,1% и 6,6%, соответственно. А относительно коров голштинской породы количество заболевших было значительно больше по линии Монтвик Чифтейна 95679 – 22,8 %, по линии Рефлекшен Соверинг 198998 и Хильтес Адема 37910 составило соответственно – 31,4 % и 36,2 % [102].

Исследования Беляева В.Н (2012) показали, что происхождение маститов в 43,6-49,1% случаев имеет микробное происхождение, а в 46,1-50,9% – безмикробное. Им также установлено, что в ОПХ ВСХИ из 59,6% переболевших коров, наибольшее количество принадлежало к группе быков-производителей

Донора (77%), Султана (66,7%) и Флориана (57,7%). Относительно семейств в данном хозяйстве среди 14 семейств маститом переболело 53,7% коров [18].

Попов Л.К. (1998) установил у коров черно-пестрой породы взаимосвязь между их линейной принадлежностью и резистентностью к маститу. Согласно его данным, повышенной маститоустойчивостью обладают коровы линии Бис Берк Идеала, Силинг Трайджун Рокит 25803, Пилота. А вот особи, принадлежащие линиям Хильтес-Адема и Аннос-Адема были наиболее предрасположены к данному заболеванию [110].

Коэффициент резистентности к маститу варьировал относительно принадлежности к различным линиям. Так данный коэффициент у группы коров, принадлежащих быкам-производителям: Мастер 106902, Мередиан 90827, Хилла 7915 равен 0-0,02, а у коров линии Амура, Салата и Минуса – 0,5-1,0 [120].

Различия по устойчивости к заболеванию маститом в линейном разрезе было выявлено также в красной породе крупного рогатого скота [56, 108].

Изучение коэффициента наследуемости зависимости маститоустойчивости от линейной принадлежности коров симментальской породы показало, что высокой устойчивостью к маститу обладали особи, принадлежащие линии Сигнала ($r = -0,155$), Фасадника ($r = -0,092$), Радониса ($r = -0,067$), Треодора ($r = -0,33$), а с более низкой резистентностью были коровы линии Мергеля ($r = -0,165$), Этона ($r = -0,22$) и Флориана ($r = -0,124$). Относительно черно-пестрой породы, высокой устойчивостью обладают животные линии Силинг Трайджун Рокит 25803, Тонима, Бис-Берг Идеала, Пилота, а с низкой резистентностью были коровы линии Гектара, Хильтес Адема и Аннос-Адема [35].

Коротков А.С. (2006) в своих результатах исследований сообщил, что наилучшее число соматических клеток в молоке у дочерей быка-отца Амадей 231687 голштинской породы. А их наивысшее содержание отмечалось у коров Сесон 296 (132,2 тыс./мл) и Александр 4 (131,0 тыс./мл). Также он отметил низкое содержание соматических клеток у дочерей быков родственной группы Пабет Говернер 882933 (93,7 тыс./мл), а высокое их содержание у сверстниц линии Монтвик Чифтейна 95679 (136,8 тыс./мл) [77].

1.4 Ветеринарно-санитарная экспертиза и физико-химические показатели молока при маститах

Ветеринарно-санитарная экспертиза (ВСЭ) сырого молока предполагает опасность данного продукта, обусловленного патогенными микроорганизмами, вызывающие разные формы мастита. С целью выявления маститного молока проводят его органолептический, физико-химический и микробиологический анализ.

Вследствие протекающих в молочной железе воспалительных процессов под влиянием жизнедеятельности микроорганизмов, молоко коров изменяет свои физико-химические показатели, тем самым оно не соответствует техническому регламенту.

Любое заболевание коров не проходит бесследно, как для молочной продуктивности, так и для качественного состава и свойства молока. Особенно яркие изменения происходят в составе молока при инфекционных заболеваниях вымени коров, в частности, при маститах [244].

Известно, что при приемке на молокоперерабатывающие предприятия качество сырого молока оценивают по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим и другим показателям [25, 80].

Согласно ГОСТу 31449-2013 молоко свежее должно иметь однородную жидкую консистенцию без осадка и хлопьев, от белого до слабо-кремового цвета и, соответственно, без посторонних запахов и привкусов [143].

Молоко по физико-химическим и микробиологическим показателям должно соответствовать нормам (таблица 2).

Таблица 1 – Показатели молока по ГОСТ Р 52054-2003

Показатель	высший сорт	первый сорт	второй сорт	несортное
консистенция	однородная жидкость без осадка и хлопьев	наличие хлопьев и механической примеси		
вкус и запах	специфический, без	допускают слабовыраженный	выраженный кормовой	

	посторонних запахов и привкусов	кормовой в весеннее-зимний период	привкус и запах	
цвет	от белого до светло-кремового	кремовый или серый		
кислотность °Т	от 16 до 18	от 16 до 18	от 16 до 20,99	менее 15,99 или более 20,99
группа чистоты не ниже	1	1	2	3
плотность, кг/м ³	1028	1027	1027	менее 1026,9
температура замерзания °С	не выше – 0,52	выше – 0,52		

Органолептические характеристики молока регламентируются также нормативными документами во многих странах. Некоторые из них приведены в таблице 2 [114, 8].

Таблица 2 – Требования к органолептическим показателям в ряде стран

Страна	Требование
Австралия, Австрия, Болгария, Великобритания, Венгрия, Ирландия, Германия, Нидерланды, Словакия, Чехия, Новая Зеландия, Финляндия, Швейцария	Молоко всех классов (или сортов): цвет, консистенция, вкус, запах, свойственные натуральному свежему молоку
Дания	Молоко классов «Экстра» и 1: консистенция, цвет, вкус и запах, свойственные натуральному свежему молоку; 2 класса – слегка измененный запах и вкус; 3 класса – измененный запах и цвет; 4 класса – отчетливые изменения вкуса и запаха.
Польша	Молоко 1 и 2 сорта: цвет, консистенция, вкус и запах, свойственные натуральному свежему молоку; 3 сорт – допускается слабовыраженный хлевный запах.
Португалия	Молоко А и В классов: внешний вид – гомогенное, без отстоя сливок и посторонних частиц, цвет – белый или слабо-желтый, вкус и

	запах, свойственные натуральному свежему молоку.
--	--

Наряду с органолептическими показателями, сырое молоко регламентируется и физико-химическими показателями (таблица 3) [43].

Таблица 3 – Физико-химические показатели сырого молока

Наименование показателя	Значение
массовая доля жира, %	от 2,8 до 5,5
массовая доля белка, %	от 2,6 до 3,6
массовая доля лактозы, %	от 4,0 до 5,5
массовая доля сухих веществ, %	от 9,0 до 14,0
кислотность, °Т	от 16,0 до 21,0
плотность, кг/м ³	не менее 1027,0
температура замерзания, °С	не выше 0,520

Исходя, из вышеизложенного видно, что качество и биологическая ценность молока, напрямую связана с ее показателями, как органолептическими, так и физико-химическими и др.

Одним из важнейших показателей является количество соматических клеток. Молоко, полученное от здоровых коров, в норме содержит от 100 до 500 тыс./мл соматических клеток. Если же их количество увеличивается свыше этой нормы, молоко уже считается аномальным. Высокую концентрацию соматических клеток, можно наблюдать в первые дни после отела, перед запуском, в сухостойный период, в стародойном молоке, в молоке с примесью молозива и др., или же в период заболевания коровы одной из форм мастита, что напрямую связано с бактериальной обсемененностью молока. Т.е. наряду с повышением числа соматических клеток в молоке увеличивается и его бактериальная обсемененность патогенной микрофлорой, тем самым увеличивая опасность сырого молока для жизни и здоровья человека [42, 193].

Однако, необходимо отметить, что низкое содержание соматических клеток в молоке (до 90 тыс./мл) не является нормой, и может свидетельствовать, что молоко фальсифицировано (например, разбавлено).

Большая концентрация соматических клеток в молоке ведет к снижению общего количества сухих веществ, приводит в дисбаланс составные его части,

отмечается снижение массовой доли жира, лактозы и казеина, тем самым теряется его биологическая ценность и ухудшаются технологические свойства. Также происходят процессы изменения состава триглицеридов молочного жира с одновременным увеличением количества высокомолекулярных жирных кислот и снижением числа низкомолекулярных жирных кислот. При этом отмечается увеличение содержания сывороточных белков на фоне уменьшения размера казеинового мицеллия [39, 101, 135, 38].

Значительные изменения претерпевают и физико-химические и органолептические свойства молока, полученные от маститных коров. Как правило, цвет приобретает оттенок от голубого до синего, иногда желтоватый, что свидетельствует о стрептококковом мастите; запах – неприятный; вкус становится солоновато-горьким либо прогорклым; консистенция может иметь структуру пены, что говорит о катаральной форме мастита; часто бывает водянистой либо слизистой [104, 74].

Диапазон физико-химических изменений маститного молока зависит от степени заболевания животного, т.е. увеличение концентрации соматических клеток в молоке свидетельствует о росте интенсивности инфекции молочной железы и, соответственно, нарушении секреции молока. При этом происходит снижение кислотности молока (до 12°T), увеличение рН (до 6,83-7,19), уменьшение плотности (до 1,024-1,025 г/см³), понижается вязкость молока, увеличивается его электропроводность, увеличивается массовая доля белка (до 6,0%) [143, 38].

Одновременно заметно увеличивается содержание натрия и хлора на 25-30%, а вот содержание фосфора и кальция снижается на 20-25%. Временно наблюдается рост фосфолипидов, уменьшается число витаминов, повышается ферментная активность липазы, фосфотазы, каталазы и др.

Доденко О.В. с соавт. (2013) в своих исследованиях выявили, что молоко, полученное от маститных коров, содержит на 404,33 тыс./мл соматических клеток больше, чем у здоровых. Плотность и точка замерзания у молока с примесью маститного ниже, кислотность выше и, соответственно, составляет $16,52^{\circ}\text{T}$. Однако

авторы отмечают, что физико-химические показатели находились в пределах нормы [45].

Интересные результаты были получены Мугиновой А.Х. с соавт. (2016), где четко отслеживаются изменения физико-химических показателей молока в зависимости от формы мастита. Содержание жира в молоке больных коров катаральным и субклиническим маститом по сравнению с контрольной (здоровой) группой коров составило 18,9% и 14,0%, а белка 8,5% и 4,3%, соответственно; кислотность ниже на 1 и 3⁰Т, сухих веществ меньше на 0,86% и 1,1% [98].

В исследованиях Межевикиной А.С. с соавт. (2006) установлено, что у коров, больных субклиническим маститом, массовая доля жира была ниже, чем у контрольной на 11,0%; плотность молока снизилась с 1028,8 до 1023,0 кг/м³ ($p < 0,05$); резко снизилась кислотность с 17,0 до 11,6⁰Т ($p < 0,05$). Также ею проведен микробиологический анализ молока на бактериальную обсемененность. Результаты показали, что в молоке больных маститом коров обнаружено свыше 4 млн. КОЕ на 1 см³, в то время, когда в молоке от здоровых коров их количество соответствовало 300-500 тыс. КОЕ/см³ [95].

Заболотнов Л.А. с соавт. (2012) сообщают, что молоко коров больных маститом имело более высокое содержание: жира (с 2,2 до 3,8 %), сухих веществ до 10,8%, кислотность (с 16-18⁰Т до 14,0-15,9⁰Т). При этом авторы наблюдали увеличение содержания хлоридов на 38 %, белка до 6,1%, снизилось содержание кальция с 0,70% до 0,16% [49].

Результаты исследований Голынец В.Г. (2006) показали, что у коров больных субклиническим маститом снижается содержание кальция, марганца, магния, цинка с одновременным повышением содержания натрия и железа [37].

Сравнительные исследования Guarglia V.A.D. et al. (2015) установили, что у коров с содержанием соматических клеток в молоке от 400 тыс./мл до 600 тыс./мл массовая доля жира, белка, лактозы и других составных частей не изменилась [188].

Однако, встречаются среди многих данных и противоречивые результаты. Так, например, Auldrist M.J. et al. (1995) отмечают в своих исследованиях

снижение массовой доли жира, а результаты, полученные Pyorala S. (2003), Bruckmaier R.M. (2004), Holdway R.J. (1990), Shuster D.E. et.al. (1991) говорят об обратном [270, 150, 251, 165, 199].

Известно, что при заболевании коров маститом массовая доля общего количества белка молока увеличивается. Это объясняется притоком белков крови, таких как иммуноглобулины, сывороточные альбумины на фоне снижения казеина [150].

Уменьшение размеров мицелл казеинового сгустка, снижение содержания витаминов С и В, с одновременным повышением уровня содержания хлоридов и золы отмечали в своих исследованиях Шахов А.Г. с соавт. (2005) и Мао Y.-J. et al. (2011) [142, 228].

В связи с аномальностью молока, обусловленного маститом, изменяются и его технологические свойства. Термоустойчивость молока снижается, свертываемость под действием сычужного фермента ухудшается, молочнокислые бактерии, используемые при производстве молочных продуктов, имеют тенденцию к снижению своей активности в размножении. Особенно чувствительными являются молочные бактерии – ацидофильная палочка, болгарская палочка. В связи с повышением вязкости молока снижается качество молочных продуктов (творога, масла, кефира).

Согласно ветеринарно-санитарным правилам оценки молока, полученное от больных клиническим маститом, подлежит кипячению с последующим уничтожением (утилизацией). Если при этом заболевание ограничено 1-2 долями вымени, тогда утилизации подлежит молоко, полученное из пораженных частей молочной железы коровы. Молоко, полученное из здоровых долей вымени, кипятят и используют на корм животным [36, 46].

При скрытой форме мастита молоко в сыром виде не используют в пищевых целях, в связи с высокой концентрацией в нем соматических клеток и патогенной микрофлоры. Подобное молоко подвергается определенным режимам пастеризации и кипячению в соответствии с правилами ВСЭ молока и молочных продуктов под контролем ветспециалистов [126, 22, 83].

Изменения ветеринарно-санитарных и технологических свойств молока могут быть обусловлены присутствием в нем дезинфицирующих и моющих средств, которые попадают в молоко при отсутствии на молочных фермах строгого соблюдения правил и норм доения, обработки вымени, доильных установок и др. Подобные изменения могут возникнуть при применении антибиотиков для лечения заболеваний животных.

Таким образом, в связи с вышеизложенным, происходящие ветеринарно-санитарные изменения показателей молока ведут к ухудшению, как биологической ценности и безопасности молока, так и ухудшению качества и безопасности продуктов его переработки.

1.5 Ген лактоферрина и влияние его полиморфизма на устойчивость коров к маститу

Факторами защиты молочной железы от инфекции являются полиморфно-ядерные лейкоциты, система лактопероксидазы, лизоцим, лактоферрин, система комплемента. Существуют данные, указывающие на 15 генов-кандидатов (*BolA-13*, *IL8RA*, *TLR4*, *C5AR1*, *CD14*, *IFNG*, *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *LBP*, *SAA3*, *TLR2*, *TLR4*, *TNF*, *LTF*, *B-4 defensin*), полезный для мониторинга механизмов развития инфекционных заболеваний, а также естественной устойчивости коров к маститу [245]. В настоящее время существует множество доказательств значимости лактоферрина в развитии механизма естественной резистентности коров к маститу.

Лактоферрин (LTF) является железосвязывающим гликопротеином и относится к семейству трансферрина. Он обладает широким спектром противомикробного действия как *in vitro*, так и *in vivo*, который содержится в молоке и других экзокринных выделениях, таких как слюна, слеза, желчь, моча, сперма, вагинальные жидкости, секреты носа и бронхов, а также в плазме крови [243, 272, 255, 230, 173].

Лактоферрин – многофункциональный протеин, который стимулирует рост лимфоцитов, играет большую роль в регуляции абсорбции железа, обладает антивирусными, антибактериальными, противогрибковыми, противопаразитарными, противовоспалительными, антиоксидантными, иммуномодуляционными и регенеративными свойствами. Кроме того, он является иммуномодулятором и важным фактором в регуляции функций желудочно-кишечного тракта у новорожденных. Более того, лактоферрин обладает каталитическим эффектом в некоторых ферментативных реакциях. Также предполагается, что лактоферрин оказывает иммуномодулирующее действие и может даже замедлять рост опухолей [195, 157, 230, 179, 156, 224, 278, 286, 222, 172, 147, 247].

Лактоферрин участвует в механизме пищевого иммунитета. Этот иммунитет, является следствием того, что факторы инфекции имеют ограниченную доступность железа (а также других агентов роста, таких как фосфор и цинк), поскольку его концентрация в жидкостных средах организма уменьшается. Другая функция лактоферрина заключается в ингибировании энтеральной абсорбции железа у новорожденных. Он может также принимать участие во внутриклеточном разрушении бактерий, осуществляемого путем индуцирования образования гидроксильных радикалов, который катализируется железом. Известно, что лактоферрин появляется в инфицированных областях в связи с его способностью к локальному синтезу. Например, инфекция молочной железы приводит к 30-кратному его увеличению в данной области. Концентрация лактоферрина в норме находится между 20 и 200 мкг/мл. К тому же, он стимулирует иммунную систему и служит природным антиоксидантом. Лактоферрин принимает активное участие в модуляции и регуляции макрофагов, лимфоцитов и нейтрофилов. Данное свойство лактоферрина, является одним из наиболее важных факторов, в предотвращении заболеваемости маститом коров [253, 254, 259, 265, 207, 254, 169, 249, 182, 263, 249, 205, 238, 175, 271, 272].

Лактоферрин известен как «красный протеин», и он был впервые идентифицирован и зарегистрирован в 1939 году в молочной сыворотке.

Антибактериальная активность лактоферрина предполагает возможность его стать геном-кандидатом устойчивости коров против инфекции молочной железы. Ген лактоферрин коров расположен в регионе 22 хромосомы, в локусе 22q24. Структура гена состоит из 17 экзонов (от 82 до 225 пар оснований), 1122 пар оснований промотор и охватывает приблизительно 34,5 т.п.н. геномной ДНК, представляет собой гликозилированный белок с молекулярной массой 80 кДа состоящего из 708 аминокислот с 19 сигнальными пептидами аминокислот и с высокой степенью гомологии среди видов. Metz-Boutigue et al. (1984) определили полную аминокислотную последовательность, существует порядка 10 вариантов аминокислотных последовательностей лактоферрина у коров. Ген лактоферрина развился во время эволюционных мутаций в трансферрине. Существует 60-65 % идентичности нуклеотидных последовательностей между этими двумя генами. Аналогичная гомология в последовательности генов существует среди различных видов млекопитающих – гены человека, быка, мыши и свиньи идентичны в 65 % и почти до 100 % [215, 187, 233, 260, 266, 229, 151, 280].

Lohuis J.A.C.M. et al. (1995) предположил, что лактоферрин может иметь потенциал в лечении крупного рогатого скота. Исследования некоторых авторов показали, что у инфицированных маститом коров концентрация сыворотки лактоферрина в молоке увеличивается. А исследования Chaneton L. et al. (2008) показали, что этот гликопротеин играет важную роль в естественном защитном механизме молочной железы, особенно в фазе инволюции. Эта функция достигается активацией фагоцитоза и комплемента системы в дополнение к бактериостатическим эффектам. Лактоферрин обладает способностью защищать паренхиму молочной железы от вредного воздействия активных форм кислорода. Лактоферрин как стимулятор процесса фагоцитоза бактерий, способствует процессу удаления бактерий из вымени [221, 153, 198, 170, 216, 147, 247].

Лактоферрин может служить потенциальным геном-кандидатом резистентности к маститу у молочных коров [288, 261].

Устойчивость к маститу является очень низконаследуемым признаком, и поэтому очень трудно улучшить его методом традиционной селекции.

Резистентность к маститу – это сложный признак, который состоит из ряда других, менее сложных свойств организма. Данная резистентность определяется гуморальными и клеточными механизмами защиты, морфологическими и функциональными свойствами вымени и др. Одним из важных признаков резистентности коров к маститам может быть оценка по средней частоте заболеваемости семейств и потомства отдельных быков-производителей, с учетом генетических и биохимических маркеров. Количество соматических клеток в молоке тесно связано с величиной воспалительного процесса, а также является хорошим диагностическим инструментом, который позволяет раннее выявление как субклинического, так и клинического мастита. Накопленные результаты свидетельствуют о наследуемости количества соматических клеток больше для клинического мастита, и средняя генетическая корреляция 0,7 между клиническими случаями [264, 196, 48, 288, 256].

Аллель *A* гена лактоферрин (*LTF*) связан с заболеваемостью маститом у коровы. Исследованиями ученых установлена частота генетических вариантов *AA*, *BB* и *AB* лактоферрина у коров голштинской породы, 32,5, 10 и 57,5% соответственно. Авторы рекомендуют использовать генетические варианты лактоферрина в качестве ДНК маркера для прогнозирования содержания соматических клеток в молоке и заболеваемости маститом, аллель *A* гена *LTF* связана с заболеваемостью маститом у коров [260].

Коэффициент наследуемости концентрации лактоферрина колеблется от 0,15 до 0,44 [180].

Исследования Тюлькина С.В. с соавт. (2015) на чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей, выявили частоту встречаемости *A* и *B* аллелей гена *LTF* (0,78 и 0,22, соответственно), частота встречаемости генотипов *AA*, *AB* и *BB* составила 55,7%, 44,3% и 0% для гена *LTF*, соответственно [137].

Прошин С.Н. с соавт. (2015) установил, что частота генетических вариантов по локусу лактоферрина составила: с генотипом *AA* – 28 животных (31,8%), *AB* –

54 животных (61,3%) и *BB* – 6 животных (6,8%). Также в результате исследования на субклинический мастит у 12 коров обнаружили данную форму мастита [113].

Исследования Nanaei H.A. et al. (2012) на голштинской популяции коров выявили два аллеля гена *LTF*, где частота *A*-аллеля варьировала от 0,775 до 0,831, тогда как частота аллеля *B* – 0,169-0,225. Эти аллели контролировали возникновение 2-х генотипов *AA* и *AB*, с частотой 0,606 и 0,394, соответственно [237].

Другие результаты изучения полиморфизма гена лактоферрина было опубликовано Srubarova P. & Dvorak J. (2009), которые показали два генотипа *AA* и *AB* с частотами встречаемости 57,14% и 42,86%, соответственно [275].

Подобные данные были получены в результате исследований Maletic M. et al. (2013) на голштино-фризском скоте, где соотношение генотипов *AA* и *AB* составило 71,7 % и 28,3 %. В данной популяции аналогично результатам многих исследований отсутствуют особи с желательным генотипом *BB* [226].

Согласно результатам исследований Javanmard A.N. et al. (2005) встречаемость гетерозиготного генотипа у голштинской породы крупного рогатого скота было менее 50%, тогда как у ангусского мясного скота частота составила 1,00, в лимузинском – 43%, брахман – 47 % [203].

Wojdak-Maksymiec K. et al. (2006) сообщили в своих исследованиях, что у черно-пестрой популяции коров полиморфные варианты гена лактоферрин имели следующее распределение: *AA* – 38 %, *AB* – 59 % и *BB* – 3 %. Особи с генотипом *AA* имели наиболее низкое содержание соматических клеток в молоке, чем животные с гетерозиготным генотипом *AB* [288].

А исследования Sender G. et al. (2006) дали противоположные результаты и показали, что животные с генотипом *BB* имели наиболее низкое содержание соматических клеток в молоке. Также авторы сообщают, что из-за низкой частоты встречаемости генотипа *BB* необходимо проводить селекцию на увеличение доли животных с данным генотипом [261].

Среди популяции коров Южной красной степной и Восточной красной степной породы выявили, что частота аллеля *B* превалировала над *A* аллелем, при этом лишь 6 животных являлись носителями желательного генотипа *BB* [190].

Согласно исследованиям Бименова Ж.Ж. с соавт. (2015) частота генетических вариантов гена лактоферрина среди 88 голов коров голштинской породы составило: *AA* – 28 голов (31,8 %), *AB* – 54 головы (61,3 %) и *BB* – 6 голов (6,8 %). При этом была проведена димастиновая проба на выявление субклинического мастита, где 12 особей с гетерозиготным генотипом *AB* имели положительный результат [19].

Motwani K.T. (2011) определили высокую генетическую корреляцию между полиморфными вариантами гена лактоферрина и маститом ($r=0,7$) [235].

По данным Maletic M. et al. (2013) в группе коров с генотипом *AA* средняя концентрация белков в образцах молока была $3,29 \pm 0,02$ %, тогда как у коров с генотипом *AB* – $3,22 \pm 0,03$ %. Относительно содержания молочного жира, животные с генотипом *AA* превосходили особей с генотипом *AB* на 0,05 %. Также в этой группе коров было наивысшее содержание соматических клеток (521 тыс./мл), чем у особей с генотипом *AB* (343,0 тыс./мл). Подобные данные получены и исследованиями Sender et.al. (2010) [226, 262].

Nanaei H.A. et al. (2012) установлено, что у коров голштинской породы с генотипом *AB* за 305 дней лактации удой составил 9379,44 кг, что меньше чем у особей с генотипом *AA* на 156,48 кг, при этом они превосходили по содержанию жира на 0,024 [237].

Многие исследования показали, что молекулярно-генетический маркер лактоферрин был связан с изменениями количественного содержания соматических клеток в молоке коров [149, 291, 212].

Вышеизложенные результаты исследований подтвердили гипотезы, о том, что ген лактоферрин может служить потенциальным генетическим маркером у крупного рогатого скота, связанным с устойчивостью к маститу у молочных коров. Этот критерий также возможно использовать при отборе и подборе родительских пар в процессе селекционно-племенной работе.

1.6 Ген манноза-связывающего лектина и влияние его полиморфизма на устойчивость коров к маститу

Маннозосвязывающий лектин (англ. mannose binding lectin, MBL), также известный как маннан-связывающий белок (MBP), представляет собой кальций-зависимый коллагеновый белок, который участвует в активации комплемента через лектиновые пути. Известно, что для формирования быстрой иммунной реакции организма при условии, что он еще не продуцировал антитела против инфекционного агента, лектиновый путь активации комплемента является антителонезависимым [200, 206, 185, 282, 176].

Система комплемента является одной из главных защитных систем организма, представляющая собой некий комплекс сывороточных белков крови. Данная система комплемента относится к неспецифическим факторам устойчивости, обеспечивая при этом немедленную защиту организма от инфекции, включая также противовоспалительные эффекты. Важнейшей функцией маннозосвязывающий лектин белка – опсонизирующая, нейтрализующая и активирующая систему комплемента. Данная функция характеризуется секрецией опсонизирующих компонентов вскоре после активации системы комплемента, которые в свою очередь покрывают патогенные микроорганизмы либо иммунные комплексы, увеличивая при этом процесс фагоцитоза. Еще одной важной функцией системы комплемента является участие его в воспалительных процессах организма [186, 276, 210, 283].

Белок манноза-связывающий лектин вырабатывается в печени под влиянием цитокинов воспаления. Выработка MBL происходит в качестве ответной реакции на инфекцию, при этом попадая в кровь, он становится частью механизма антиген – специфического иммунитета [256, 285, 292].

Данный белок является частью многих факторов, определяемых как белки острой фазы. Он играет важную роль во врожденном иммунитете. Недостаточность MBL связывают с низкой выживаемостью новорожденных в

возрасте до года, которые в связи с незрелостью иммунитета очень чувствительны к инфекционным заболеваниям [225, 167, 201, 160, 240].

Манноза-связывающий белок относится к группе белков коллектинов, являющимися белками суперсемейства лектинов. При этом важнейшей их функцией в организме млекопитающих является распознавание чужеродноподобных агентов, имеющие бактериальную, грибковую, вирусную природу. Установлено, что маннозосвязывающий лектиновый путь активации врожденного иммунитета, обусловлен связыванием данного белка с углеводными остатками – маннозой и фукозой, которые находятся на поверхности патогенов. Также известно, что MBL связывается на поверхности апоптозных клеток, что облегчает их поглощение фагоцитами [277, 184].

Ген MBL1 крупного рогатого скота локализован на 26 хромосоме *Bos taurus* и состоит из 3 интронов и 4 экзонов, кодирует 249 аминокислот. Установлено, что однонуклеотидная замена в позиции 2651 аденина на гуанин приводит к возникновению мутации в гене. Мутации MBL гена клинически проявляются повышенной восприимчивостью к инфекционным агентам. Подобные точковые мутации, происходящие в гене MBL, могут влиять на структуру самого маннозасвязывающего лектин белка, тем самым уменьшая уровень концентрации MBL в сыворотке крови и способствуя восприимчивости к различного рода инфекций [186, 217, 218, 273].

У большинства млекопитающих есть 2 гена манноза-связывающего лектина – это MBL1 и MBL2, которые кодируют белки MBL-A и MBL-C, соответственно. Показано, что мутации в обоих генах изменяют восприимчивость животных к различного рода инфекциям [148, 227, 217]. Так, например, у различных пород свиней, ослабленная резистентность к болезням связана с тремя однонуклеотидными заменами (SNP) в кодирующей области. А исследования человеческого гена MBL1 показали, что три однонуклеотидные замены (SNPs) в коллагенподобном домене и три дополнительные мутации в области промотора MBL2 могут влиять на выработку манноза-связывающего лектин белка, тем

самым способствуя низкому его уровню в плазме, и приводя к дисфункции иммунной системы [218, 225, 167, 177, 200, 277].

Некоторые исследования показали, что у коров, вымя которых поражено клиническим маститом, более высокая экспрессия гена MBL, по сравнению со здоровыми животными. Данные результаты могут свидетельствовать о том, что белок маннозосвязывающий лектин, кодируемый геном MBL может служить молекулярным маркером устойчивости коров к маститу [148, 177, 183].

Исследования ряда авторов показали взаимосвязь между полиморфными вариантами гена MBL1 с устойчивостью к возбудителям различных инфекций, в том числе и маститу [293, 269, 193, 250].

Capparelli R. et al. (2009) в своих исследованиях продемонстрировал, что полиморфизм в локусе MBL2 буйвола связан с восприимчивостью и устойчивостью к заражению *Brucella abortus*, которое приводит к абортированию животного. Одновременно данное заболевание носит зооантропонозный характер [167].

Результаты ПЦР в реальном времени показали, что в трех голштинизированных породах крупного рогатого скота Китая (голштины китайской селекции, Luxi Yellow, Bohai Black) частота генотипов гена MBL среди этих популяций составила – в голштинской породе китайской селекции: СС – 0,28, СТ – 0,65, ТТ – 0,07; в Luxi Yellow: СС – 0,57, СТ – 0,43, ТТ – 0,0; в Bohai Black: СС – 0,34, СТ – 0,58, ТТ – 0,08. При этом, необходимо отметить, что в трех популяциях исследуемых коров наивысший средний удой за 305 дней лактации достигнут в группе особей с генотипом ТТ (7360 кг), однако при этом они уступали по содержанию жира и белка животным с генотипом СТ на 0,01 и 0,05, с генотипом СС на 0,17 и 0,08, соответственно. Количество соматических клеток было наименьшим в группе коров с желательным генотипом ТТ – 462 тыс./мл [220].

Статистические результаты исследований Zhao Z. et al. (2012) показали, что коровы с точковыми мутациями в гене MBL в позициях g.1164 G>A-GG и g.1197 C>A-CC, что соответствует генотипам СС и GG, имели значительно более низкое

содержание соматических клеток в молоке. Полученные результаты указывает на то, что эти генотипы могут быть связаны с резистентностью к маститу у коров, и соответственно животных с генотипами GG и CC возможно использовать при разведения на устойчивость к данному заболеванию [292].

Изучая частоту генотипов, среднюю гетерозиготность, полиморфизм, содержание соматических клеток в молоке и значения χ^2 для локуса MBL «rs109231409» на кроссбредном крупном рогатом скоте Индии – Вриндавани (голштино-фризы, бурый швейцарский скот и джерси \times Nariana), (n=100), Muhasin Asaf V.N. et al. (2014) не обнаружили взаимосвязь между SNP «rs109231409» и устойчивостью к маститу. Однако, авторы отметили, что дальнейшие исследования должны быть проведены на большей выборке животных, чтобы подтвердить или опровергнуть влияние «rs109231409» (g.855G>A) на резистентность к маститу [236].

Yuan Z. et al. (2013) в своих исследованиях установили значительную взаимосвязь между SNP c.2534G>A и содержанием соматических клеток в молоке. Так, у коров с генотипом AA, наблюдается наивысшее содержание соматических клеток, и соответственно такие животные больше всего подвержены маститу, тогда как коровы с генотип GG, имея наиболее низкое содержание соматических клеток в молоке, обладали высокой устойчивостью к маститу [289].

Анализ хи-квадрат показал, что буйволы Мурра с генотипами CC и TC (с точковой заменой 154C>T), GG (с точковой заменой 235G>A), AT генотип (с точковой заменой 252A>T), CC и AC генотипы (с точковой заменой 265C>A), TC и CC генотипы (с точковой заменой 268T>C), AG и GG генотипы (с точковой заменой 282G>A), а также AG и GG генотипы (с точковой заменой 431G>A) имели значительно низкую частоту встречаемости клинического мастита по сравнению с их контр-генотипами [268].

Основываясь на вышеизложенном, гены MBL1 и MBL2 могут быть использованы в качестве потенциальных маркеров устойчивости коров к маститу. По результатам молекулярно-генетического тестирования крупного рогатого

скота в раннем возрасте, возможно вести селекционно-племенную работу, направленную на увеличение в стаде животных с резистентностью к маститам. Однако, необходимо отметить, что молекулярно-генетические исследования проводились на ограниченном числе пород крупного рогатого скота, поэтому необходимо провести подобный анализ и относительно других пород в частности на отечественном скоте, с целью подтверждения ассоциативности данных маркеров с устойчивостью коров к маститам и, соответственно, дальнейшем наращивании маститорезистентных особей в стадах.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 Материалы и методы исследования

Экспериментальные исследования проводились в период с 2014 по 2016 гг. в ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» на кафедре ветеринарно-санитарной экспертизы и в лаборатории молекулярно-генетических исследований ФГБНУ «Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства».

Научно-хозяйственные эксперименты проводились в условиях СХПК племзавод им. Ленина Атнинского района РТ на 387 коровах-первотелках голштинской породы. За период проведения исследований все опытное поголовье крупного рогатого скота СХПК им. Ленина находились в одинаковых условиях кормления, технологического содержания, ветеринарного обслуживания.

Выдоенное молоко исследовали по внешним признакам: по запаху, консистенции, цвету и однородности. Молочную продуктивность определяли путём проведения контрольных доек. Физико-химические показатели в молоке: содержание жира, белка, плотность и сухой обезжиренный остаток молока (СОМО) определяли на приборе "Лактан 1-4". Чистоту молока определяли по ГОСТу 8218-89 "Молоко. Методы определения чистоты", кислотность – по ГОСТ Р 54669-2011 "Молоко и продукты переработки молока. Методы определения кислотности". Общую микробную обсемененность определяли согласно ГОСТ 32901-2014 "Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа". Определение количества соматических клеток тыс/см³ с препаратом "Мастоприм" проводили с помощью прибора «Соматос-В» согласно рекомендациям производителя.

Коров-первотелок комплекса ежемесячно обследовали на мастит с помощью быстрого маститного теста. Для лабораторного исследования брали молоко в конце доения из каждой доли в отдельности. Пробное сдаивание проводили с использованием (ПМК) - молочного контрольного пластины. Для

выявления скрытой формы мастита к 1 мл молока добавляли 1 мл кенотеста. Смесь перемешивали стеклянной палочкой в течение 15-20 секунд. Реакцию учитывали по характеру образования желе или изменению цвета. Отрицательная реакция – однородная жидкость и красный окрас (-), сомнительная реакция – следы образования желе и появление оранжевого окрашивания (+), положительная реакция – ясно видимый сгусток от слабого до плотного с желтым окрашиванием (+).

Цифровой материал, полученный в результате исследований, математически обрабатывали по стандартным программам вариационной статистики с определением критерия достоверности Стьюдента на персональном компьютере.

Для проведения исследований и оценки по генам-кандидатам устойчивости коров к маститам были отобраны племенные первотёлки из СХПК им. Ленина Атнинского района Республики Татарстан (РТ) (n=387); быки-производители и ремонтные бычки из ГУП ГПП «Элита» Высокогорского района (n=20), Мензелинского п/п РТ (n=18), Бугульминского п/п Республики Татарстан (n=20).

Схема исследования представлена на рисунке 1.

Анализ происхождения, продуктивности коров был проведен с помощью программного пакета «Селекс 3.1» (АРМ Плинон, Санкт-Петербург).

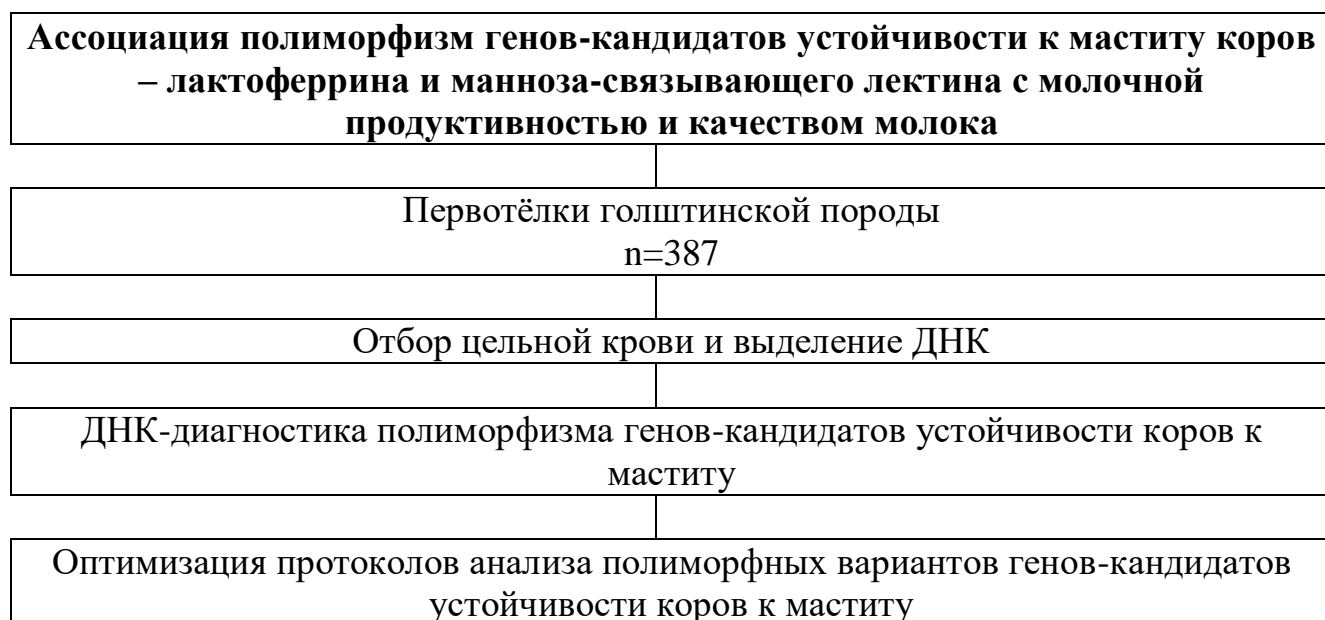




Рисунок 1 – Схема исследования

Перечень использованного основного оборудования, приведен в таблице 4.

Таблица 4 – Перечень оборудования

Приборы и расходный материал	Изготовитель
Автоматические дозаторы переменного объема	Одноканальные электронные дозаторы переменного объема Pipetman Ultra, Gilson, Франция: – 2-10 мкл – 2 - 20 мкл – 20 - 100 мкл – 20 - 200 мкл – 200 - 1000 мкл
Микроцентрифуга	Mini Spin plus, Германия
Твердотельный термостат	«Гном», ДНК-технология, Россия
Планшеты для пробирок	объемом: – 1,5 - 2 мл – 0,2 - 0,5 мл
Вортекс (шейкер)	Biosan V - 1
Амплификатор с подложкой на 96 лунок	MyCycler Bio -Rad (США)
Пробирки микроцентрифужные	на:

Eppendorf,	– 1,5 мл – 2 мл
Пробирки для ПЦР Ахуген, США	на: – 0,2 мл – 0,5 мл
ПЦР-бокс	DNA/RNA UV – CLEA NER, Biosan
Электронные весы	Scout Pro, Ohaus Comporation, Pine Brook, NJ USA
Гель-документирующая система	Gel Doc Bio-Rad (США)
Источник питания для электрофорезной камеры	Bio-Rad (США)
Электрофорезная камера	Bio-Rad (США)
Подложка для заливки геля	Bio-Rad (США)
Гребенки для заливки геля	Bio-Rad (США)
Микроволновая печь	LG MS-1724 W
Лактан-1.4	Россия, Новосибирск
Соматос В	Россия, Новосибирск

Перечень основных использованных реактивов представлен в таблице 5.

Таблица 5 – Перечень реактивов

Реактивы	Изготовитель
Для выделения ДНК	
ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота)	Хеликон, г. Москва, Россия
Комплект реагентов для выделения ДНК из клинического материала «ДНК-сорб-В»	ФГБУН ЦНИИ Эпидимиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия
ПЦР - ПДРФ	
Дионизированная вода	СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия
10× Taq ДНК полимеразы	СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия
Смесь dNTP 2,5 мМ каждого	МВІ Fermentas, St. Leon-Rot, Германия. СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия
25 мМ MgCl ₂	МВІ Fermentas, St. Leon-Rot, Германия.
ПЦР-праймеры различной концентрации (пмоль/мкл)	МВІ Fermentas, St. Leon-Rot, Германия. СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия
Эндонуклеазы рестрикции различной концентрации (ед./мл)	СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия
10× SE-буфер	СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия

Электрофорез	
Агароза	Хеликон, г. Москва, Россия
1% Этидиум бромид	Хеликон, г. Москва, Россия
Бромфеноловый синий	Sigma, Германия
10× Трис-боратный буфер (10× TBE буфер)	MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Германия
Глицерол	Хеликон, г. Москва, Россия
Анализ молока на содержание в нем соматических клеток	
Мастоприм	БиоКомпас-С, г. Углич, Россия
Дистиллированная вода	

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

Выделение ДНК из цельной крови крупного рогатого скота проводили с использованием комплекта реагентов «ДНК-Сорб-В» согласно инструкции изготовителя по применению (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия).

Фрагменты ДНК амплифицировали на программируемом термоциклере MyCycler и T-100 (Bio-Rad, США). Для ПЦР использовали *Taq* ДНК полимеразу (5 ед./мкл) (MBI Fermentas, Германия) с поставляемым буфером - 10× *Taq* буфер. Смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (2,5 мМ каждого из dNTP) (MBI Fermentas, Германия) была добавлена в реакционную смесь в конечной концентрации 0,25 мМ. Праймеры, использованные в работе, были синтезированы фирмой СибЭнзим (г. Новосибирск, Россия). Праймеры применяли в концентрации 1 мкМ. Матричную ДНК добавляли в количестве 10-100 нг на одну реакцию.

Были оптимизированы протоколы и режимы проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) для каждого из исследуемых генов, с соответствующими изменениями температурных и временных профилей реакции, что обеспечило оптимальную амплификацию участков генов.

Гидролиз ПЦР-проб проводили эндонуклеазами рестрикции *EcoRI* для гена лактоферрина (*LTF*), и *HaeIII* для гена манноза-связывающего лектина (*MBL1*), фирмы СибЭнзим (г. Новосибирск, Россия) в соответствии с рекомендациями изготовителя. ПЦР-смесь с амплифицированными фрагментами составляла 3/5 общего объема реакционной смеси.

Соответствующие протоколы ПЦР-ПДРФ-анализа полиморфизма гена LTF и MBL1 представлены в таблицах 6 и 7.

Таблица 6 – Протокол ПЦР-ПДРФ-анализа полиморфизма гена *LTF*

Протокол ПЦР

Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)	10 проб (мкл)
dH ₂ O			12,39	123,9
dNTPs	2,5 мМ	0,25 мМ	2	20
Буфер	10×	1×	2	20
Taq ДНК полимеразы	5 ед	1 ед	0,2	2
LTF-f	35,5 мкМ	1 мкМ	0,56	5,6
LTF-r	23,5 мкМ	1 мкМ	0,85	8,5
ДНК			2	
ВСЕГО			20	

Праймеры:

LTF-f: 5'-GCCTCATGACAACCTCCCACAC-3' (21 н.)

LTF-r: 5'-CAGGTTGACACATCGGTTGAC-3' (21 н.)

Режим амплификации:

×1: 94 °С – 5 мин

×35: 94 °С – 30 сек, 61 °С – 45 сек, 72 °С – 45 сек.

×1: 72 °С – 5 мин

ХРАНЕНИЕ +10 °С

ПЦР-продукт = 300 п.н.

Протокол ПДРФ

Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)	10 проб (мкл)
dH ₂ O			2,5	25
SE буфер Y	10×	1×	2,0	20
<i>EcoRI</i>	20 ед	10 ед	0,5	5
ПЦР проба			20	
ВСЕГО			25	

Режим гидролиза:

37 °С – 16 ч.

65 °С – 20 сек

Электрофорез в агарозном геле 2,5 %

ПЦР-ПДРФ-фрагменты:

AA = 300 п.н.

BB = 200/100 п.н.

AB = 300/200/100 п.н.

Таблица 7 – Протокол ПЦР-ПДРФ-анализа полиморфизма гена *MBL1***Протокол ПЦР**

Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)	10 проб (мкл)
dH ₂ O			12,85	128,5
dNTPs	2,5 мМ	0,25 мМ	2	20
Буфер	10×	1×	2	20
Тaq ДНК полимеразы	5 ед	1 ед	0,2	2
MBL1 f	35,0 мкМ	1 мкМ	0,57	5,7
MBL1 r	52,0 мкМ	1 мкМ	0,38	3,8
ДНК			2	
ВСЕГО			20	

Праймеры:

MBL1f: 5'-GTGGTGGCAAATGTTGGCTAAAC-3' (23 н.)

MBL1r: 5'-TGGCTCTCCSTTTTCTCCSTT-3' (21 н.)

Режим амплификации:

×1: 94 °С – 3 мин

×35: 94 °С – 30 сек, 63 °С – 45 сек, 72 °С – 45 сек.

×1: 72 °С – 5 мин

ХРАНЕНИЕ +10 °С

ПЦР-продукт = 255 п.н.

Протокол ПДРФ

Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)	10 проб (мкл)
dH ₂ O			2	20
SE буфер Y	10×	1×	2	20
НаеIII	10 ед	10 ед	1	10
ПЦР проба			20	
ВСЕГО			25	

Режим гидролиза:

37 °С – 16 ч.

65 °С – 20 сек

Электрофорез в агарозном геле 2,5 %

ПЦР-ПДФ-фрагменты: $TT = 255$ п.н. $CC = 178/77$ п.н. $TC = 255/178/77$ п.н.

Для определения полиморфизма генов амплифицированные фрагменты, обработанные соответствующими рестриктазами разделяли в 2,5 % агарозном геле с добавлением 5 мкл 1 %-го бромистого этидия в $1 \times$ TBE-буфере (Sambrook & Russel, 2001) в камере Bio-Rad при напряженности электрического поля в 15 В/см в течение 35 мин. Визуализацию и фиксирование результатов ПЦР-ПДФ-анализа проводили с помощью системы GelDoc (Bio-Rad, США).

Идентификацию генотипов определяли по выявляемому полиморфизму последовательностей ДНК.

Частоту встречаемости генотипов определяли по формуле согласно Меркурьевой Е.К. (1977) : [96]

$$p = \frac{n}{N}, \text{ где (1)}$$

p – частота определения генотипа,

n – количество особей, имеющих определенный генотип,

N – число особей.

Частоту отдельных аллелей определяли по формулам максимального правдоподобия:

$$p(A) = \frac{2nAA + nAB}{2n}; q(B) = \frac{2nBB + nAB}{2n}, \text{ где (2)}$$

p – частота аллеля А,

q – частота аллеля В,

n – общее число аллелей.

Статистическую ошибку для обеих частот определяли по формуле [96]:

$$m_p = m_q = \sqrt{\frac{p \times q}{2n}}, \text{ где (III)}$$

p – частота аллеля А,

q – частота аллеля В,

n – общее число аллелей.

При проведении научно-производственных опытов учитывали следующие показатели: удой, содержание жира и белка в молоке, выход молочного жира и белка высокопродуктивных коров черно-пестрой и холмогорской пород – за 305 дней лактации по данным зоотехнического учета.

Статистические расчеты были выполнены по Меркурьевой Е.К. (1977), и с помощью компьютерной программы «Microsoft Excel» [96].

2.2 Результаты собственных исследований

2.2.1 Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели молока коров при субклиническом мастите

Молоко как продукт питания и сырьё для производства других продуктов питания должно соответствовать не только определенным органолептическим требованиям (цвет, вкус, запах), но еще обладать энергетической и пищевой ценностью, и самое главное, оно должно соответствовать санитарно-гигиеническим требованиям. Согласно ГОСТу 31449-2013 и ТР ТС 033/2013 одним из основных показателей при оценке качества молока является количество соматических клеток. Содержание соматических клеток в молоке обусловлено паратипическими и генетическими факторами.

Согласно стандартам ГОСТ 31449-2013 и требованиям ТР ТС 033/2013, молоко коровье питьевое должно иметь вид белой или светло-кремовой непрозрачной жидкости однородной не тягучей консистенции, без осадка и хлопьев.

Молоко от 360 коров-первотелок соответствовало требованиям ГОСТа 31449-2013 и ТР ТС 033/2013 по органолептическим и физико-химическим показателям. Молоко было белого с желтоватым оттенком, со специфическим запахом, однородной консистенции, массовая доля жира от 3,4 до 4,93%, массовая доля белка – от 3,11 до 4,34%, СОМО составляло 8,88-9,16%; плотность 1027-1028 кг/м³; кислотность 16-18⁰Т; первой группы чистоты.

В результате проведенных исследований было установлено количество соматических клеток в 25-и пробах молока до 100 клеток, в 225-и пробах – от 100 до 300 клеток, в 89 пробах – от 300 до 500 клеток, в 27-и пробах – 500 клеток и выше. В пробах молока от 27 коров физико-химические показатели были ниже установленных норм.

Полученные данные коррелировали с положительными результатами быстрого маститного теста, которое проводили ежемесячно в соответствии с действующими рекомендациями по борьбе с маститом коров в хозяйстве.

Всего генотипировано 387 голов коров голштинской породы племенного завода им. Ленина Атнинского района РТ, частота генетических вариантов по локусу MBL1 составила: с генотипом СС – 112 голов (30,6%) ТС – 194 голов (53%) , ТТ – 60 голов (16,4%). По результатам исследования на количество соматических клеток в молоке у 27 коров был выявлен субклинический мастит, которые имели гомозиготный генотип СС по локусу гена MBL1 и у 11 коров был выявлен гетерозиготный генотип ТС.

Одним из главных факторов в этиологии и патогенезе мастита у коров является микрофлора. Для проведения бактериологического исследования секрета вымени первотёлок голштинской породы нами отобраны у особей с клинической и субклинической формами мастита.

В результате проведённого бактериологического исследования секрета вымени коров были выделены следующие виды микроорганизмов: 14 проб (50,0 %) выявили бактерии группы кишечных палочек (БГКП), 4 пробы (14,3 %) – *St. aureus* и 4 пробы (14,3 %) – была ассоциация БГКП и *St. aureus*. В 6 пробах данных возбудителей не выявлено, что составляет 21,4 %, это показывает, что в возникновении мастита у дойных коров микробный фактор не является единственным (рисунок 2).

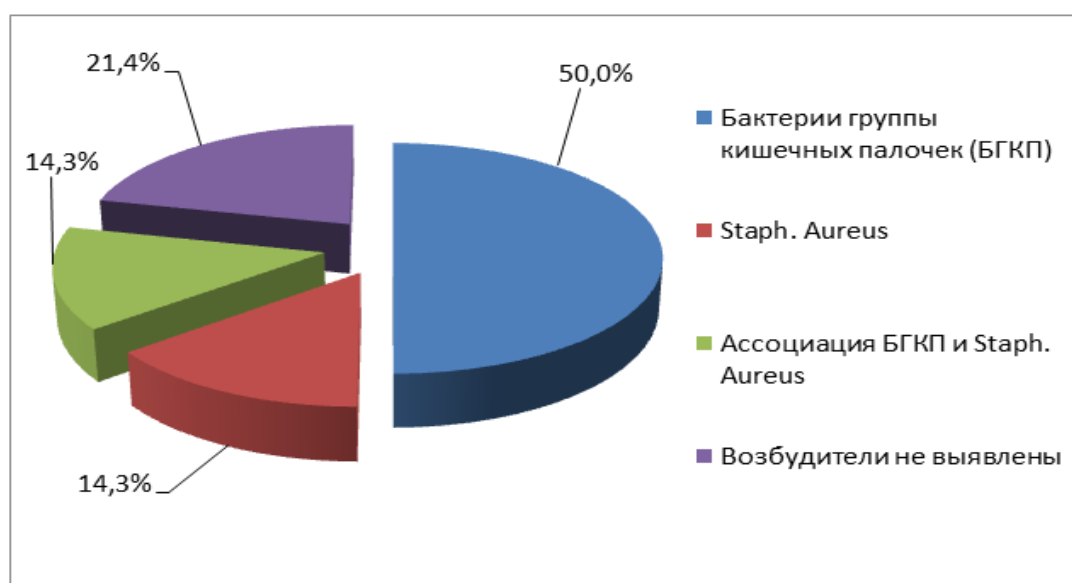


Рисунок 2 – Результаты бактериологического исследования образцов молочного секрета коров, больных маститом, %

Полученные результаты исследований показали, что основная доля случаев заболевания маститом у коров относится к факторам микробной этиологии (78,6%).

2.2.2 Заболеваемость маститом коров с разными генотипами гена лактоферрина и гена манноза-связывающего лектина

Анализ заболеваемости маститом коров голштинской породы, отличающихся по генотипам гена *LTF* представлены в таблице 8.

Таблица 8– Влияние полиморфных вариантов гена лактоферрина на заболеваемость коров маститом

Генотип	Всего, исследуемых коров	из них больных маститами	
		n	%
<i>AA</i>	272	18	6,6
<i>AB</i>	115	10	8,7
Всего	387	28	7,2

Среди животных, имеющих генотип *LTF^{AB}* наблюдалось наибольшее количество коров заболевших маститом – 8,7 %, наименьший процент больных животных было среди сверстниц с генотипом *LTF^{AA}* – 6,6 %.

Таким образом, не выявлено явной закономерности влияния генотипа *LTF* на заболеваемость коров голштинской породы маститом.

Анализ заболеваемости маститом коров голштинской породы, отличающихся по генам гена *MBL1* представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Влияние полиморфных вариантов гена манноза-связывающего лектина на заболеваемость коров маститом

Генотип	Всего, исследуемых коров	из них больных маститами	
		n	%
<i>MBL1^{CC}</i>	161	14	8,7
<i>MBL1^{TC}</i>	168	8	4,8
<i>MBL1^{TT}</i>	58	6	10,3

Всего	387	28	7,2
-------	-----	----	-----

Среди животных, имеющих генотипы $MBL1^{CC}$ и $MBL1^{TT}$ наблюдалось наибольшее количество коров заболевших маститами – 8,7 % и 10,3 %, соответственно. Наименьший процент больных коров имели гетерозиготный генотип $MBL1^{TC}$ – 4,8 %, что на 3,9 % и на 5,5 % ниже в сравнении с генотипами $MBL1^{CC}$ и $MBL1^{TT}$.

Таким образом, выявлена некоторая закономерность позитивного влияния гетерозиготного генотипа $MBL1^{TC}$ на заболеваемость маститом коров голштинской породы.

2.2.3 Генотипирование крупного рогатого скота по лактоферрину

С помощью метода ПЦР-ПДФ-анализа ДНК, экстрагированной из крови крупного рогатого скота, нами были исследованы полиморфные аллели и генотипы гена лактоферрина. По результатам амплификации ДНК крупного рогатого скота с парой праймеров LTF-f: 5'-GCCTCATGACAACCTCCACAC-3' и LTF-r: 5'-CAGGTTGACACATCGGTTGAC-3' получен специфический фрагмент гена лактоферрина длиной 300 п.н. При последующем ПДФ-анализе продуктов амплификации в тестируемых препаратах ДНК исследуемого поголовья крупного рогатого скота выявлено два аллеля гена лактоферрина – *A* и *B*, и отмечено наличие двух генотипов – LTF^{AA} и LTF^{AB} (рисунок 3).

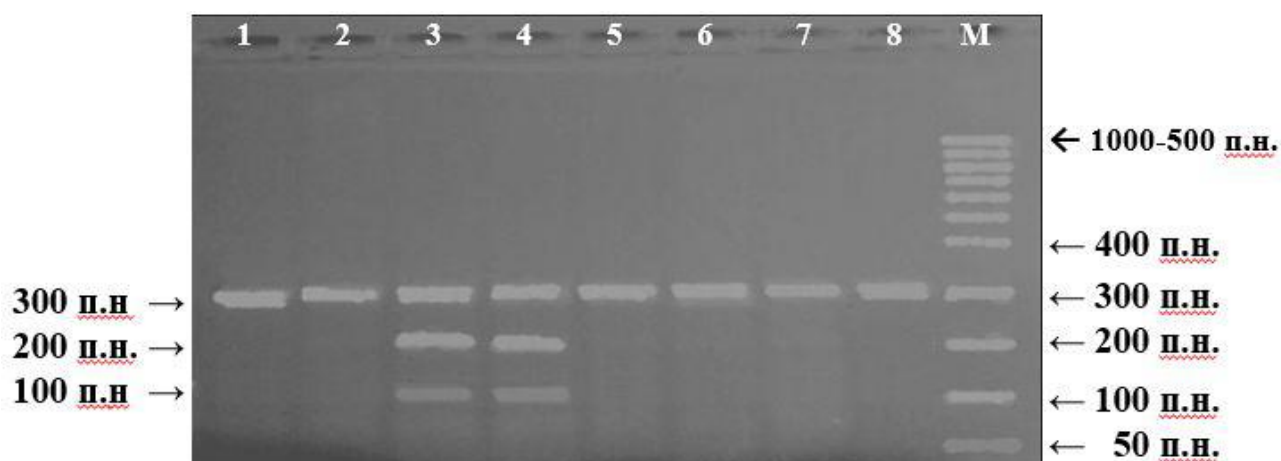


Рисунок 3 – Электрофореграмма результата ПЦР-ПДФ-анализа гена лактоферрина крупного рогатого скота с праймерами LTFf+LTFr и эндонуклеазным расщеплением ферментом *EcoRI*

Обозначения: М) ДНК-маркеры 1000-50 п.н. (СибЭнзим); 1, 2, 5, 6, 7, 8 – генотип AA (300 п.н.); 3, 4 – генотип AB (300/200/100 п.н.)

Генотипирование крупного рогатого скота по гену лактоферрина осуществляли с учётом схемы выравнивания и картирования амплифицируемых с помощью праймеров LTF-f и LTF-r нуклеотидных последовательностей ДНК локуса *LTF*-гена *Bos taurus* (рисунок 4).

Ген/аллель	Праймер LTF-f					
<i>LTF/B</i>	001	GCCTCATGAC	AACTCCSACA	ССААААСAGT	ACTTTATTTT	GТАААТТТТG ACCATTATTA
<i>LTF/A</i>	001
		*****	*****	*****	*****	*****
Ген/аллель						
<i>LTF/B</i>	061	CTCCCATGTT	ATGGTCTTTT	CAGCTGTCAA	GCAAACAAGG	TGAAGAAAAA ATTTAGTTAG
<i>LTF/A</i>	061
		*****	*****	*****	*****	*****
Ген/аллель						
<i>LTF/B</i>	121	ATGGGGGTTG	CACCTGGAAA	АТАААТТТСТ	ТАААСТССАТ	АТАСАТGTTT САААТСТGCT
<i>LTF/A</i>	121
		*****	*****	*****	*****	*****
Ген/аллель			<u>EcoRI</u>			
<i>LTF/B</i>	181	GGGTCCCAAG	TCCATCTATG	ААТТСССAGG	СТGCCAGTAT	САТАТGCAGC АТАСТААAGC
<i>LTF/A</i>	181С.....
		*****	*****	** *****	*****	*****
Ген/аллель					Праймер LTF-r	
<i>LTF/B</i>	241	TACGCTATCT	GAATAGCTTA	ТТААТТСТGC	АТАТАТCAGG	TCAACCGATG TGCAACCTG
<i>LTF/A</i>	241
		*****	*****	*****	*****	*****
Ген/аллель	GenBank A/N	ПЦР-продукт	<u>EcoRI-рестрикционное картирование</u>			
<i>LTF/B</i>	AN000852	300 п.н.	1-200/201-300 н.			
<i>LTF/A</i>		300 п.н.	1-300 н.			
Ген/аллель	<u>ПДФ-EcoRI-профиль</u>					
<i>LTF/B</i>	200/100 п.н.					
<i>LTF/A</i>	300 п.н.					

Рисунок 4 – Схема результатов выравнивания и *EcoRI*-рестрикционного картирования амплифицируемых с помощью праймеров LTF-f и LTF-r нуклеотидных последовательностей ДНК локуса *LTF*-гена *Bos taurus* (аллели B и A)

Таким образом, исследования показали возможность применения использованных праймеров LTF-f и LTF-r, эндонуклеазы рестрикции *EcoRI* и соответствующего ПЦР-ПДРФ-протокола в целом для генотипирования крупного рогатого скота по гену *LTF*.

2.2.4 Полиморфизм гена лактоферрина у коров-первотёлок

На основании анализа полиморфизма гена лактоферрина 387 первотёлок голштинской породы установлено, что 272 животных или 70,0 % имели гомозиготный генотип LTF^{AA} , а у 115 первотёлок или 30,0 % выявлен генотип LTF^{AB} . Частота встречаемости аллелей *A* и *B* составила 0,85 и 0,15, соответственно (таблица 10, рисунок 5).

Таблица 10 – Полиморфизм гена *LTF* у голштинских первотёлок

Генотип	n	Частота генотипов		Частота аллелей		χ^2
		Наблюдаемая частота (H_o)	Ожидаемая частота (H_e)	<i>A</i>	<i>B</i>	
LTF^{AA}	272	70,3	72,5	0,85	0,15	11,24***
LTF^{AB}	115	29,7	25,3			
LTF^{BB}	0	0	2,2			

*** – $P < 0,001$

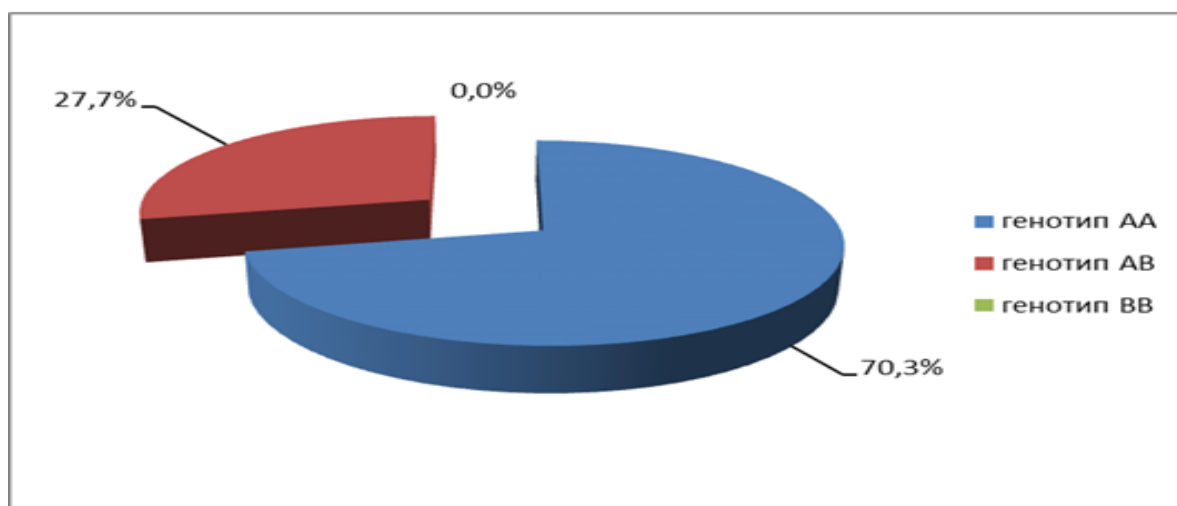


Рисунок 5 – Полиморфизм гена лактоферрина у голштинских первотёлок

По гену *LTF* выражено преимущество аллеля *A* над аллелем *B*. Его частота среди исследованных животных составила 0,75. Среди изученных коров преобладал гомозиготный генотип LTF^{AA} , тогда как генотип LTF^{BB} вообще не встречался. Генетическое равновесие в данной популяции крупного рогатого скота несколько смещено в сторону генотипа *AB* (11,24, при $P < 0,001$).

Дополнительно к полиморфизму гена лактоферрина у первотёлок голштинской породы была определена встречаемость генотипов гена лактоферрина у коров с учётом их линейной принадлежности (таблица 11).

Таблица 11 – Частота встречаемости генотипов и аллелей гена лактоферрин в разрезе линейной принадлежности коров

Линия	Количество животных		Частоты генотипов						Частота аллелей		χ^2
			LTF^{AA}		LTF^{AB}		LTF^{BB}		<i>A</i>	<i>B</i>	
	ГОЛ.	%	Наблюдаемая частота H_o	Ожидаемая частота H_e	Наблюдаемая частота H_o	Ожидаемая частота H_e	Наблюдаемая частота H_o	Ожидаемая частота H_e			
Айвенго	44	11,4	70,5	72,6	29,5	25,2	0	2,2	0,85	0,15	1,39
Айдиал	31	8,0	71,0	73,1	29,0	24,8	0	2,1	0,85	0,15	1,13
Рокмэн	68	17,6	72,1	74,0	27,9	24,0	0	2,0	0,86	0,14	1,26
Соверинг	9	2,3	44,4	52,2	55,6	40,1	0	7,7	0,72	0,28	2,53
Чиф	210	54,3	71,0	73,1	29,0	24,8	0	2,1	0,85	0,15	5,72*
Чифтейн	25	6,4	68,0	70,5	32,0	26,9	0	2,6	0,84	0,16	1,14
ВСЕГО	387	100	70,3	72,5	29,7	25,3	0	2,2	0,85	0,15	11,24***

* – $P < 0,05$, *** - $P < 0,001$

Исследование 387 первотёлок голштинской породы разной линейной принадлежности показало, что в среднем 68,0-72,1 % животных линий Айвенго, Айдиала, Рокмэна, Чифа, Чифтейна несли гомозиготный генотип LTF^{AA} и 27,9-32,0 % обладали гетерозиготным генотипом LTF^{AB} . Только в линии Соверинга

встречаемость генотипов была другой, то есть коров с генотипами LTF^{AA} – 44,4 % и LTF^{AB} – 55,6 %.

Частота встречаемости аллелей A и B в среднем по линиям Айвенго, Айдиала, Рокмэна, Чифа и Чифтейна была в диапазонах 0,84-0,86 и 0,14-0,16, соответственно, тогда как в линии Соверинга она составила 0,72 и 0,28.

По гену LTF выражено преимущество аллеля A над аллелем B во всех линиях. Его частота среди всех исследованных линий животных находилась в диапазоне 0,72-0,86. При этом, наименьшая встречаемость аллеля A выявлена у животных линии Соверинга. Среди изученных коров линий Айвенго, Айдиала, Рокмэна, Соверинга, Чифа, Чифтейна преобладал генотип LTF^{AA} , тогда как генотип LTF^{BB} вообще не был обнаружен. Генетическое равновесие в популяциях разных линий крупного рогатого скота по гену LTF смещено в сторону генотипа AB (5,72, при $P < 0,05$) только у животных линии Соверинга.

2.2.5 Генотипирование крупного рогатого скота по лектину

С помощью метода ПЦР-ПДФ-анализа ДНК, экстрагированной из крови крупного рогатого скота, нами были исследованы аллели и генотипы гена манноза-связывающего лектина. По результатам амплификации ДНК крупного рогатого скота с парой праймеров MBL1f: 5'-GTGGTGGCAAATGTTGGCTAAAC-3' и MBL1r: 5'-TGGCTCTCCSTTTTCTCCSTT-3' получен специфический фрагмент гена лактоферрина длиной 255 п.н. При последующем ПДФ-анализе продуктов амплификации в тестируемых препаратах ДНК исследуемого поголовья крупного рогатого скота выявлено два аллеля гена лактоферрина – C и T , и отмечено наличие трех генотипов – $MBL1^{CC}$, $MBL1^{TC}$ и $MBL1^{TT}$ (рисунок 6).

Генотипирование крупного рогатого скота по гену манноза-связывающего лектина осуществляли с учётом схемы выравнивания и картирования амплифицируемых с помощью праймеров MBL1f и MBL1r нуклеотидных последовательностей ДНК локуса $MBL1$ -гена *Bos taurus* (рисунок 7).

Таким образом, исследования показали возможность применения использованных праймеров MBL1f и MBL1r, эндонуклеазы рестрикции *HaeIII* и соответствующего ПЦР-ПДРФ-протокола в целом для генотипирования крупного рогатого скота по гену *MBL1*.

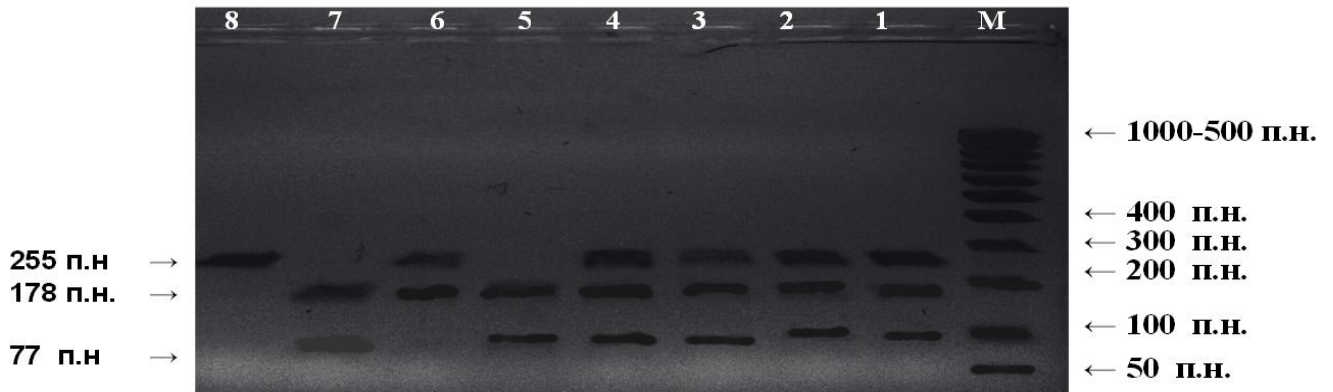


Рисунок 6 – Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ-анализа гена манноза-связывающего лектина крупного рогатого скота с праймерами MBL1f+MBL1r и эндонуклеазным расщеплением ферментом *HaeIII*
Обозначения: М) ДНК-маркеры 1000-50 п.н. (СибЭнзим); 1, 2, 3, 4, 6 – генотип *CC* (255/178/77 п.н.); 5, 7 – генотип *TC* (178/77 п.н.); 8 – генотип *TT* (255 п.н.).

<u>Ген/аллель</u>	<u>Праймер MBL1f</u>
<i>MBL1/T</i>	001 GTGGTGGCAA ATGTTGGCTA AACAAAATAA GATGAAACTA TTTTCCTCAA CTCTCTTCAT
<i>MBL1/C</i>	001 *****
<u>Ген/аллель</u>	<u>Праймер MBL1r</u>
<i>MBL1/T</i>	061 TCTAAGGTAA GGATCATGTT CCTGTTTTCA TCACTTCCTG TCCTCCTGTG TTTGGTGACA
<i>MBL1/C</i>	061 *****
<u>Ген/аллель</u>	<u>Праймер MBL1r GenBank A/N</u>
<i>MBL1/T</i>	241 GAAAAGGGAG AGCCA AC_000185
<i>MBL1/C</i>	241 *****

<u>Ген/аллель</u>	<u>ПЦР-продукт</u>	<u><i>HaeIII</i>-рестрикционное картирование</u>	<u>ПДРФ-<i>HaeIII</i>-профиль</u>
<i>MBL1/T</i>	255 п.н.	1-255 н.	255 п.н.
<i>MBL1/C</i>	255 п.н.	1-178/179-255 н.	178/77 п.н.

Рисунок 7 – Схема результатов выравнивания и *HaeIII*-рестрикционного картирования амплифицируемых с помощью праймеров MBL1f и MBL1r

нуклеотидных последовательностей ДНК локуса *MBL1*-гена *Bos taurus* (аллели *T* и *C*)

На основании анализа полиморфизма гена манноза-связывающего лектина 387 первотёлок голштинской породы установлено, что 161 животное или 41,6 % несут гомозиготный генотип *MBL1^{CC}*, 168 коров или 43,4 % имели генотип *MBL1^{TC}*, и у 58 первотёлок или 15,0 % выявлен генотип *MBL1^{TT}*. Частота встречаемости аллелей *C* и *T* составила 0,63 и 0,37, соответственно (таблица 12, рисунок 8).

Таблица 12 – Полиморфизм гена *MBL1* у голштинских первотёлок

Генотип	n	Частота генотипов		Частота аллелей		χ^2
		Наблюдаемая частота (H_o)	Ожидаемая частота (H_e)	<i>C</i>	<i>T</i>	
<i>MBL1^{CC}</i>	161	41,6	40,1	0,63	0,37	2,27
<i>MBL1^{TC}</i>	168	43,4	46,5			
<i>MBL1^{TT}</i>	58	15,0	13,4			

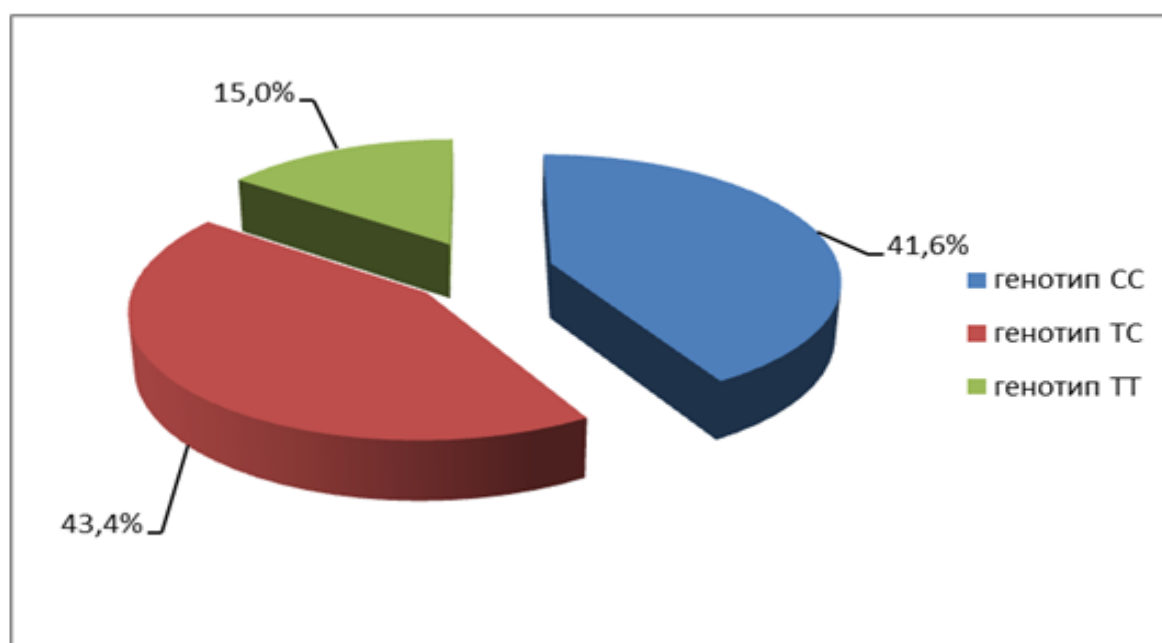


Рисунок 8 – Полиморфизм гена манноза-связывающего лектина у голштинских первотёлок

По гену *MBL1* выражено преимущество аллеля *C* над аллелем *T*. Его частота среди исследованных животных составила 0,63. Среди изученных коров

преобладал гетерозиготный генотип $MBL1^{TC}$. Генетическое равновесие в данной популяции крупного рогатого скота несколько находится в равновесии.

Дополнительно к полиморфизму гена лактоферрина у первотёлок голштинской породы была определена встречаемость генотипов гена манноза-связывающего лектина у коров с учётом их линейной принадлежности (таблица 13).

Таблица 13 – Частота встречаемости генотипов и аллелей гена манноза-связывающего лектина в разрезе линейной принадлежности коров

Линия	Количество животных		Частоты генотипов						Частота аллелей		χ^2
			$MBL1^{CC}$		$MBL1^{TC}$		$MBL1^{TT}$		C	T	
	гол.	%	Наблюдаемая частота H_o	Ожидаемая частота H_e	Наблюдаемая частота H_o	Ожидаемая частота H_e	Наблюдаемая частота H_o	Ожидаемая частота H_e			
Айвенго	44	11,4	38,6	36,3	43,2	47,9	18,2	15,8	0,60	0,40	0,40
Айдиал	31	8,0	58,1	57,5	35,5	36,7	6,4	5,8	0,76	0,24	0,01
Рокмэн	68	17,6	39,7	40,9	48,5	46,1	11,8	13,0	0,64	0,36	0,28
Соверинг	9	2,3	22,2	30,9	66,7	49,4	11,1	19,7	0,56	0,44	1,83
Чиф	210	54,3	41,4	39,2	42,4	46,8	16,2	14,0	0,63	0,37	1,88
Чифтейн	25	6,4	40,0	36,0	40,0	48,0	20,0	16,0	0,60	0,40	0,69
ВСЕГО	387	100	41,6	40,1	43,4	46,5	15,0	13,4	0,63	0,37	2,27

Исследование 387 первотёлок голштинской породы разной линейной принадлежности показало, что в среднем 22,2-58,1 % животных несли гомозиготный генотип $MBL1^{CC}$, 35,5-66,7 % имели гетерозиготный $MBL1^{TC}$, и 11,1-20,0 % обладали гомозиготным генотипом $MBL1^{TT}$. Наибольшая встречаемость генотипов $MBL1^{CC}$ в линии Айдиала (58,1 %), $MBL1^{TC}$ – в линии Соверинга (66,7 %), $MBL1^{TT}$ – в линии Чифтейна (20,0 %). Наименьшая встречаемость генотипов $MBL1^{CC}$ в линии Соверинга (22,2 %), $MBL1^{TC}$ – в линии Айдиала (35,5 %), $MBL1^{TT}$ – также в линии Айдиала (6,4 %). Частота

встречаемости аллелей *C* и *T* в среднем по линиям Айвенго, Рокмэна, Соверинга, Чифа, Чифтейна была в диапазонах 0,56-0,64 и 0,36-0,44, соответственно, тогда как в линии Айдиала она составила 0,76 и 0,24.

По гену *MBL1* выражено преимущество аллеля *C* над аллелем *T* во всех линиях. Его частота среди исследованных животных находилась в диапазоне 0,56-0,76. При этом, наименьшая встречаемость аллеля *C* выявлена у животных линии Соверинга (0,56). Среди изученных коров линий Айвенго, Рокмэна, Соверинга и Чифа преобладал генотип *MBL1^{TC}*, в линии Айдиала превосходством отличались первотёлки с генотипом *MBL1^{CC}*, тогда как в группе животных линии Чифтейна наибольшие и одинаковые показатели встречаемости были у генотипов *MBL1^{CC}* и *MBL1^{TC}*. Генетическое равновесие в популяциях разных линий крупного рогатого скота по гену *MBL1* находилось в равновесии.

2.2.6 Ассоциация полиморфизма гена лактоферрина с продуктивностью и качеством молока у первотёлок голштинской породы

Анализ ассоциации полиморфизма гена лактоферрина с молочной продуктивностью 387 первотёлок показал, что наибольшим удоём, характеризовались коровы с гетерозиготным генотипом *LTF^{AB}*. Их удоём составил в среднем 6481 кг молока. В отношении к сверстницам с генотипом *LTF^{AA}* разница составила 302 кг ($P < 0,001$) молока (таблица 14).

Однако, по содержанию белка в молоке разница между особями с разными генотипами *LTF* незначительная – 0,02 %, а по содержанию жира в молоке отличий вообще не было. Наибольший выход молочного белка и жира имели животные с генотипом *LTF^{AB}*. Они превосходили по этим показателям первотёлок с генотипом *LTF^{AA}* на 10,1 кг ($P < 0,05$) и 11,7 кг ($P < 0,05$), соответственно.

Таблица 14 – Влияние полиморфных вариантов гена лактоферрина на показатели молочной продуктивности первотёлок

Генотип	n	Удой, кг	Белок, %	Выход белка, кг	Жир, %	Выход жира, кг	Содержание соматических клеток, тыс./мл
<i>LTF^{AA}</i>	272	6179	2,94	181,7	3,89	240,4	279,2

		±65,9	±0,018	±2,17	± 0,025	±2,87	±11,50
LTF^{AB}	115	6481 ±18,1	2,96 ±0,026	191,8 ±3,69	3,89 ±0,039	252,1 ±4,56	272,5 ±14,14
LTF^{AB} _к LTF^{AA}	-	+302***	+0,02	+10,1*	0	+11,7*	- 6,71

* – $P < 0,05$; *** - $P < 0,001$

По содержанию соматических клеток в молоке выгодно отличались коровы с генотипом LTF^{AB} по сравнению с аналогами с генотипом LTF^{AA} . В их молоке содержание соматических клеток было на 6,71 тыс./мл меньше.

Таким образом, по результатам сравнительного анализа первотёлок голштинской породы преимущество по всем показателям молочной продуктивности, в том числе по содержанию соматических клеток в молоке было у животных с генотипом LTF^{AB} .

Дополнительно к оценке ассоциации полиморфизма гена лактоферрина с молочной продуктивностью первотёлок голштинской породы была определена молочная продуктивность и качество молока у коров с разными генотипами гена лактоферрина с учётом их линейной принадлежности (таблица 15).

Таблица 15 – Влияние полиморфных вариантов гена лактоферрина на показатели молочной продуктивности первотёлок с разной линейной принадлежностью

Линия	Генотип	n	Удой, кг	Белок, %	Выход белка, кг	Жир, %	Выход жира, кг	Содержание соматических клеток, тыс./мл
Айвенго	LTF^{AA}	31	6286 ±197,4	3,02 ±0,047	189,8 ±6,29	4,01 ±0,058	252,1 ±8,74	226,2 ±21,82
	LTF^{AB}	13	7142 ±356,4	2,91 ±0,069	207,8 ±12,74	3,92 ±0,104	280,0 ±14,61	202,7 ±30,62
Айдиал	LTF^{AA}	22	6129 ±187,2	3,04 ±0,161	186,3 ±6,18	3,86 ±0,073	236,6 ±10,16	267,8 ±16,28
	LTF^{AB}	9	6026 ±369,9	3,09 ±0,111	186,2 ±12,69	4,16 ±0,149	250,7 ±14,35	256,6 ±28,36
Рокмэн	LTF^{AA}	49	6458 ±175,8	2,95 ±0,032	190,5 ±5,48	3,79 ±0,057	244,8 ±7,13	250,0 ±12,43
	LTF^{AB}	19	6681	3,00	200,4	3,72	248,5	236,9

			±297,3	±0,051	±10,08	±0,089	±12,34	±20,03
Соверинг	LTF^{AA}	4	6109 ±266,3	2,98 ±0,061	182,0 ±6,27	4,04 ±0,034	246,8 ±12,72	350,5 ±173,23
	LTF^{AB}	5	6413 ±355,6	3,03 ±0,127	194,3 ±16,80	3,94 ±0,131	252,7 ±18,10	320,8 ±84,15
Чиф	LTF^{AA}	149	6057 ±89,0	2,92 ±0,028	176,9 ±2,98	3,88 ±0,035	235,0 ±3,94	290,7 ±15,65
	LTF^{AB}	61	6361 ±147,7	2,91 ±0,040	185,1 ±4,86	3,87 ±0,061	246,2 ±6,39	267,2 ±19,07
Чифтейн	LTF^{AA}	17	6326 ±254,1	2,80 ±0,088	177,1 ±8,69	3,99 ±0,131	252,4 ±8,72	255,1 ±38,63
	LTF^{AB}	8	6533 ±478,4	2,87 ±0,100	187,5 ±17,10	3,92 ±0,130	256,1 ±18,65	237,8 ±39,99

Наибольшим удоём, характеризовались коровы с гетерозиготным генотипом LTF^{AB} линий Айвенго, Рокмэна, Соверинга, Чифа и Чифтейна. Их удои составили в среднем 6361-7142 кг молока. В отношении к сверстницам с генотипом LTF^{AA} по своим линиям соответственно разница составила 207-856 кг молока, причём разница между генотипами LTF^{AA} и LTF^{AB} линии Айвенго была наибольшей – 856 кг ($P < 0,05$). Только у животных линии Айдиала превосходство по удою было у особей с генотипом LTF^{AA} над аналогами с генотипом LTF^{AB} (на 103 кг). В целом по удоям выделялись первотёлки с генотипом LTF^{AB} линий Айвенго, Рокмэна, Чифтейна – 7142 кг, 6681 кг и 6533 кг соответственно. Коровы с генотипом LTF^{AB} линии Айвенго превосходили животных с другими генотипами и линий на 461-1116 кг. При этом разница с аналогами с генотипом LTF^{AA} линий Айдиала, Соверинга, Чифа и с генотипом LTF^{AB} линий Айдиала, Чифа была статистически достоверной ($P < 0,05-0,01$).

Более высоким содержанием белка в молоке отличались первотёлки с генотипом LTF^{AB} линий Айдиала, Рокмэна, Соверинга и Чифтейна. Их показатель составил в среднем 2,87-3,09 %. По отношению к сверстницам с генотипом LTF^{AA} по своим линиям соответственно превосходство составило 0,05-0,07 %. У животных линий Айвенго и Чифа превосходили особи с генотипом LTF^{AA} , они имели большие показатели, чем аналоги по своим линиям на 0,11 % и 0,01 % соответственно. Содержание белка в молоке 3% и более имели животные с

генотипом LTF^{AA} линий Айвенго, Айдиала и с генотипом LTF^{AB} линий Айдиала, Рокмэна, Соверинга.

По содержанию жира в молоке выгодно отличались коровы с генотипом LTF^{AA} линий Айвенго, Рокмэна, Соверинга, Чифа и Чифтейна. Их показатель составил в среднем 3,79-4,04 %. По отношению к сверстницам с генотипом LTF^{AA} по своим линиям соответственно превосходство было 0,01-0,10 %. У животных линии Айдиала превосходили особи с генотипом LTF^{AB} , они имели больше показатель, чем аналоги с генотипом LTF^{AA} на 0,30 %. Содержание жира в молоке 3,99% и более имели животные с генотипом LTF^{AA} линий Айвенго, Соверинга, Чифтейна и с генотипом LTF^{AB} линии Айдиала.

Наибольший выход молочного белка и жира имели животные с генотипом LTF^{AB} линий Айвенго, Айдиала, Рокмэна, Соверинга, Чифа и Чифтейна, которые составили 185,1-207,8 кг 246,2-280,0 соответственно. Они превосходили по этим показателям первотёлок с генотипом LTF^{AA} по своим линиям на 8,2-18,0 кг и 3,7-27,9 кг соответственно. По выходу молочного белка животные с генотипами LTF^{AA} и LTF^{AB} линии Айдиала почти не отличались. По выходу молочного белка и жира наибольшие показатели выявлены у коров с генотипом LTF^{AB} линии Айвенго 207,8 кг и 280,0 кг соответственно. Они превосходили аналогов с разными генотипами LTF и другой линейной принадлежности на 7,4-30,9 кг и 23,9-45 кг соответственно. Причём достоверная ($P < 0,05-0,01$) разница выявлена по выходу молочного белка у животных с генотипом LTF^{AA} линии Чифа, а по выходу молочного жира с первотёлками с генотипом LTF^{AA} Айдиала, Рокмэна, Чифа и с генотипом LTF^{AB} линии Чифа.

Содержание соматических клеток в молоке у коров разных генотипов LTF и в зависимости от линейной принадлежности было в пределах от 202,7 тыс./мл (генотип LTF^{AB} линии Айвенго) до 350 тыс./мл (генотип LTF^{AA} линии Соверинга). В целом по всем линиям животные с генотипом LTF^{AB} выгодно отличались в содержании соматических клеток по отношению с аналогами генотипа LTF^{AA} ; разница при этом составила 11,2-29,7 тыс./мл. Животные с генотипами LTF^{AB} выгодно уступали по этому показателю сверстницам других генотипов LTF и

линейной принадлежности на 10,7-147,8 тыс./мл. Причём статистически достоверная разница ($P < 0,05$) выявлена между животными с разными генотипами *LTF* линии Айвенго и аналогами с генотипом *LTF^{AA}* линии Чифа.

Таким образом, по результатам сравнительного анализа первотёлок голштинской породы преимущество почти по всем показателям молочной продуктивности (удой, молочный белок и жир), в том числе по содержанию соматических клеток в молоке было у животных с генотипом *LTF^{AB}* линии Айвенго. Некоторый интерес в плане ведения селекционной работа на повышение содержания белка и жира в молоке представляют животные с генотипом *LTF^{AB}* линии Айдиала.

2.2.7 Ассоциация полиморфизма гена манноза-связывающего лектина с продуктивностью и качеством молока у первотёлок голштинской породы

Анализ ассоциации полиморфизма гена манноза-связывающего лектина с молочной продуктивностью 387 первотёлок показал, что наибольшим удоём обладали коровы с гетерозиготным генотипом *MBLI^{TC}*. Их удой составил в среднем 6425 кг молока. В отношении к сверстницам с генотипами *MBLI^{CC}* и *MBLI^{TT}* разница составила 320 кг ($P \leq 0,01$) и 157 кг молока, соответственно (таблица 16).

Таблица 16 – Влияние полиморфных вариантов гена манноза-связывающего лектина на показатели молочной продуктивности первотёлок

Генотип	n	Удой, кг	Белок, %	Выход белка, кг	Жир, %	Выход жира, кг	Содержание соматических клеток, тыс./мл
<i>MBLI^{CC}</i>	161	6105 ±74,6	2,91 ±0,024	177,7 ±2,48	3,90 ±0,035	238,1 ±3,43	269,6 ±14,28
<i>MBLI^{TC}</i>	168	6425 ±98,3	3,00 ±0,021	192,8 ±3,19	3,89 ±0,031	249,9 ±4,07	283,6 ±13,70
<i>MBLI^{TT}</i>	58	6268 ±139,7	2,88 ±0,046	180,5 ±4,67	3,84 ±0,046	240,7 ±5,83	279,4 ±23,83
<i>MBLI^{TC}_к</i> <i>MBLI^{CC}</i>	-	+320**	+0,09**	+15,1***	- 0,01	+11,8*	+14,0

$MBL1^{TC}$ к $MBL1^{TT}$	-	+157	+0,12*	+12,3*	+0,05	+9,2	+4,2
------------------------------	---	------	--------	--------	-------	------	------

* - $P < 0,05$; ** - $P < 0,01$, *** - $P < 0,001$

По содержанию белка в молоке значительно превосходили особи с генотипом $MBL1^{TC}$. Их преимущество над коровами с другими генотипами $MBL1$ составляло 0,09-0,12 % ($P < 0,05-0,01$). При этом по содержанию жира в молоке выгодно отличались животные с генотипом $MBL1^{CC}$ (3,90 %). Они превосходили по этому показателю сверстниц с другими генотипами на 0,01-0,06 %.

Наибольшие показатели по выходу молочного белка и жира имели животные с генотипом $MBL1^{TC}$. Они превосходили по этим данным первотёлок с другими генотипами $MBL1$ на 12,3-15,1 кг ($P < 0,05-0,001$) и 9,2-11,8 кг, соответственно. Причём межгрупповая разница по выходу жира, составлявшая 11,8 кг ($P < 0,05$), была статистически достоверная.

Содержание соматических клеток в молоке было в пределах от 269,6 тыс./мл в группе коров с генотипом $MBL1^{CC}$; до 283,6 тыс./мл в группе сверстниц с генотипом $MBL1^{TC}$. У аналогов с генотипом $MBL1^{TT}$ этот показатель был промежуточный (279,4 тыс./мл).

Таким образом, по результатам сравнительного анализа первотёлок голштинской породы преимущество по основным показателям молочной продуктивности было у животных с генотипом $MBL1^{TC}$. Однако, по содержанию соматических клеток в молоке выгодно отличались животные с генотипом $MBL1^{CC}$.

Дополнительно к оценке ассоциации полиморфизма гена манноза-связывающего лектина с молочной продуктивностью первотёлок голштинской породы была определена молочная продуктивность у коров с разными генотипами гена манноза-связывающего лектина с учётом их линейной принадлежности (таблица 17).

Наибольшим удоём, характеризовались коровы с генотипом $MBL1^{TC}$ линий Айвенго, Соверинга, Чифа, Чифтейна и аналоги с генотипом $MBL1^{TT}$ линий

Айдиала, Рокмэна. Их удой составил в среднем 6234-7004 кг и 7059-7062 кг молока соответственно.

Таблица 17 – Влияние полиморфных вариантов гена манноза-связывающего лектина на показатели молочной продуктивности первотёлок с разной линейной принадлежностью

Линия	Генотип	n	Удой, кг	Белок, %	Выход белка, кг	Жир, %	Выход жира, кг	Содержание соматических клеток, тыс./мл
Айвенго	<i>MBLI^{CC}</i>	17	6093 ±201,1	3,04 ±0,050	185,2 ±4,67	4,00 ±0,080	243,7 ±9,16	238,4 ±36,25
	<i>MBLI^{TC}</i>	19	7004 ±19,6	2,95 ±0,071	206,6 ±11,26	3,95 ±0,085	276,7 ±13,67	199,2 ±20,33
	<i>MBLI^{TT}</i>	8	6381 ±405,0	3,00 ±0,095	191,4 ±14,86	4,02 ±0,114	256,5 ±17,43	226,5 ±41,40
Айдиал	<i>MBLI^{CC}</i>	18	5896 ±217,4	3,03 ±0,057	178,6 ±7,58	3,94 ±0,089	232,3 ±9,56	275,1 ±13,38
	<i>MBLI^{TC}</i>	11	6257 ±273,2	3,10 ±0,056	194,0 ±8,86	3,98 ±0,140	249,0 ±16,39	236,2 ±26,47
	<i>MBLI^{TT}</i>	2	7059 ±520,4	2,98 ±0,190	210,4 ±2,05	3,75 ±0,141	264,7 ±29,49	154,5 ±17,67
Рокмэн	<i>MBLI^{CC}</i>	27	6335 ±215,7	2,89 ±0,050	183,1 ±6,58	3,76 ±0,073	238,2 ±9,40	270,9 ±16,28
	<i>MBLI^{TC}</i>	33	6541 ±243,7	3,02 ±0,032	197,5 ±7,78	3,84 ±0,069	251,2 ±9,67	232,1 ±12,35
	<i>MBLI^{TT}</i>	8	7062 ±318,3	3,00 ±0,082	211,9 ±11,28	3,57 ±0,148	252,1 ±13,47	211,3 ±45,57
Соверинг	<i>MBLI^{CC}</i>	2	5688 ±19,1	2,93 ±0,001	166,7 ±0,56	3,79 ±0,332	215,6 ±19,63	675,5 ±140,71
	<i>MBLI^{TC}</i>	6	6545 ±249,9	3,09 ±0,065	202,2 ±8,97	4,03 ±0,064	263,8 ±10,50	242,7 ±50,61
	<i>MBLI^{TT}</i>	1	5852 ±0	2,64 ±0	154,5 ±0	4,05 ±0	237,0 ±0	199,0 ±0
Чиф	<i>MBLI^{CC}</i>	87	6099 ±102,2	2,90 ±0,035	176,9 ±3,59	3,92 ±0,056	239,1 ±5,03	296,8 ±21,93
	<i>MBLI^{TC}</i>	89	6234 ±134,7	2,98 ±0,032	185,8 ±4,35	3,84 ±0,041	239,4 ±5,55	274,2 ±16,94
	<i>MBLI^{TT}</i>	34	6020 ±214,8	2,79 ±0,081	168,0 ±6,16	3,83 ±0,071	230,6 ±9,10	251,6 ±26,41
Чифтейн	<i>MBLI^{CC}</i>	10	6198	2,70	167,3	3,83	237,4	283,1

			±262,9	±0,129	±10,72	±0,088	±8,97	±68,00
	<i>MBLI^{TC}</i>	10	6651 ±449,5	2,83 ±0,093	188,2 ±14,6	4,06 ±0,223	270,0 ±13,27	246,6 ±25,01
	<i>MBLI^{TT}</i>	5	6264 ±552,4	3,07 ±0,045	192,3 ±27,40	4,05 ±0,135	253,7 ±27,40	188,6 ±22,3

В отношении к сверстницам с другими генотипами *MBLI* по своим линиям разница составила 135-911 кг и 521-1163 кг соответственно, причём статистически достоверная разницы была между сверстницами генотипов *MBLI^{TC}* и *MBLI^{CC}* линии Айвенго – 911 кг ($P < 0,001$), *MBLI^{TT}* и *MBLI^{CC}* линии Айдиала – 1163 кг ($P < 0,05$), *MBLI^{TC}* и *MBLI^{CC}*, *MBLI^{TT}* линии Соверинга – 693-857 кг ($P < 0,05$) молока соответственно. В целом по удоям выделялись первотёлки с генотипом *MBLI^{TT}* линий Айдиала, Рокмэна – 7059 кг и 7062 кг соответственно. Коровы с генотипом *MBLI^{TT}* линий Айдиала и Рокмэна превосходили животных с другими генотипами и линий на 55-1374 кг. При этом разница животных генотипа *MBLI^{TT}* линии Рокмэна с аналогами с генотипом *MBLI^{CC}* линии Айдиала, генотипом *MBLI^{TT}* линии Соверинга, генотипами *MBLI^{CC}*, *MBLI^{TC}*, *MBLI^{TT}* линии Чифа была статистически достоверной ($P < 0,05-0,01$).

Более высоким содержанием белка в молоке отличались первотёлки с генотипом *MBLI^{CC}* линий Айвенго, генотипом *MBLI^{TC}* линий Айдиала, Рокмэна, Соверинга, Чифа, генотипом *MBLI^{TT}* линии Чифтейна. Их показатель составил в среднем 2,98-3,10 %. По отношению к сверстницам с другими генотипами *MBLI* по своим линиям соответственно превосходство составило 0,02-0,45 %. Причём статистически достоверная ($P < 0,05-0,01$) разница выявлена между животными с генотипом *MBLI^{TC}* и *MBLI^{CC}* линии Рокмэна – 0,13 %, *MBLI^{TC}* и *MBLI^{CC}*, *MBLI^{TT}* линии Соверинга – 0,16-0,45 %, *MBLI^{TC}* и *MBLI^{TT}* линии Чифа – 0,19 %, *MBLI^{TT}* и *MBLI^{CC}*, *MBLI^{TC}* линии Чифтейна – 0,24-0,37 %, соответственно. Содержание белка в молоке 3 % и более имели животные с генотипами *MBLI^{CC}* и *MBLI^{TT}* линии Айвенго, *MBLI^{CC}* и *MBLI^{TC}* линии Айдиала, *MBLI^{TC}* линии Рокмэна, Соверинга и *MBLI^{TT}* линии Чифтейна соответственно.

По содержанию жира в молоке выгодно выделялись коровы с генотипом *MBLI^{CC}* линии Чифа, генотипом *MBLI^{TC}* линий Айдиала, Рокмэна, Чифтейна,

генотипом $MBLI^{TT}$ линии Айвенго, Соверинга. Их показатель составил в среднем 3,84-4,06 %. По отношению к сверстницам с генотипом $MBLI$ по своим линиям соответственно превосходство было 0,01-0,27 %. Содержание жира в молоке 3,98 % и более имели животные с генотипом $MBLI^{CC}$ и $MBLI^{TT}$ линии Айвенго, $MBLI^{TC}$ и $MBLI^{TT}$ линии Соверинга и Чифтейна соответственно.

Наибольший выход молочного белка и жира по линиям Айвенго, Соверинга, Чифа имели животные с генотипом $MBLI^{TC}$, которые составили 185,8-206,6 кг и 239,4 кг соответственно. Тогда как в линиях Айдиала, Рокмэна более высокие показатели выхода молочного белка и жира были у коров с генотипом $MBLI^{TT}$, и соответственно составили 210,4-211,9 кг и 252,1-264,7 кг. У сверстниц линии Чифтейна больший выход молочного белка был в генотипе $MBLI^{TT}$ – 192,3 кг, тогда как по молочному жиру наибольшим показателем характеризовались первотёлки с генотипом $MBLI^{TC}$ – 270 кг. Животные с наибольшими показателями выхода молочного белка и жира превосходили по этим показателям аналогов с другими генотипом $MBLI$ по своим линиям на 4,1-47,7 кг и 0,9-48,2 кг соответственно. Причём достоверная ($P < 0,05-0,001$) разница выявлена по выходу молочного белка между животными с генотипами $MBLI^{CC}$ и $MBLI^{TT}$ линий Айдиала, Рокмэна, $MBLI^{CC}$, $MBLI^{TT}$ и $MBLI^{TC}$ линии Соверинга, $MBLI^{TC}$ и $MBLI^{TT}$ линии Чифа соответственно. По выходу молочного жира достоверные ($P < 0,05$) различия выявлены только между первотёлками с генотипами $MBLI^{CC}$ и $MBLI^{TC}$ линии Айвенго. По выходу молочного белка наибольшие показатели выявлены у животных с генотипом $MBLI^{TT}$ линии Рокмэна – 211,9 кг и с генотипом $MBLI^{TC}$ линии Айвенго – 276,7 кг соответственно. Они превосходили аналогов с разными генотипами $MBLI$ и другой линейной принадлежности на 1,5-57,4 кг и 6,7-61,1 кг соответственно. Причём достоверная ($P \leq 0,05-0,01$) разница выявлена по выходу молочного белка и жира у животных с генотипами $MBLI^{CC}$ линий Айвенго, Айдиала, Рокмэна, Соверинга, Чифа, Чифтейна, а также с генотипом $MBLI^{TC}$ линии Чифа и генотипом $MBLI^{TT}$ линий Соверинга, Чифа.

Содержание соматических клеток в молоке у коров разных генотипов $MBLI$ и в зависимости от линейной принадлежности было в пределах от 154,5 тыс./мл

(генотип $MBL1^{TT}$ линии Айвенго) до 675,5 тыс./мл (генотип $MBL1^{CC}$ линии Соверинга). В целом по всем линиям животные с генотипом $MBL1^{TT}$ выгодно отличались в содержании соматических клеток по отношению с аналогами других генотипов $MBL1$ и только в линии Айвенго наименьшее их содержание было у коров с генотипом $MBL1^{TC}$; разница при этом составила 20,8-476,5 тыс./мл и 27,3-39.2 тыс./мл, соответственно. Причём статистически достоверная разница ($P < 0,05$ и $0,001$) по своим линиям выявлена между животными с генотипами $MBL1^{TT}$ и $MBL1^{CC}$, $MBL1^{TC}$ линии Айдиала, генотипами $MBL1^{TT}$ и $MBL1^{CC}$ линии Соверинга.

Таким образом, по результатам сравнительного анализа первотёлок голштинской породы преимущество почти по всем показателям молочной продуктивности (удой, молочный белок и жир), в том числе по содержанию соматических клеток в молоке было у животных с генотипом $MBL1^{TC}$ линии Айвенго и с генотипом $MBL1^{TT}$ линии Айдиала, Рокмэна. Некоторый интерес в плане ведения селекционной работа на повышение содержания жира в молоке представляют животные с генотипом $MBL1^{TC}$ линии Чифтейна.

2.2.8 Сопряжённость признаков молочной продуктивности у коров с разными генотипами генов лактоферрина и манноза-связывающего лектина

В связи с меняющейся технологией производства продуктов животноводства, требования к животным с каждым годом повышаются. При этом значительно увеличивается число признаков, по которым оценивают коров. Всё это усложняет проведение целенаправленной селекционной работы со стадом. В зарубежной и отечественной зоотехнической практике при разработке более точных методов оценки животных повсеместно используются такие показатели, как изменчивость, повторяемость, наследуемость признаков, а также корреляционная связь между важнейшими хозяйственно-полезными признаками.

В связи с этим мы посвятили свои исследования одному из важных показателей, а именно корреляционной зависимости между собой основных признаков молочной продуктивности и качества молока.

В результате проведённых исследований по выявлению коррелятивной зависимости между признаками молочной продуктивности у первотёлок с разными генотипами гена *LTF* нами выявлен характер связи.

Данные таблицы 18 показывают, что у первотёлок с генотипами *AA* и *AB* гена *LTF* коэффициенты корреляции между удоем и содержанием жира в молоке были слабые (от $-0,08$ до $-0,16$).

Таблица 18 – Корреляция между количественными признаками первотёлок с разными генотипами гена *LTF*

Генотип	n	Удой, кг - Жир, %	Удой, кг - Белок, %	Жир, % - Белок, %	Удой, кг - Соматические клетки, тыс./мл	Жир, % - Соматические клетки, тыс./мл	Белок, % - Соматические клетки, тыс./мл
<i>LTF^{AA}</i>	272	-0,08 $\pm 0,060$	-0,07 $\pm 0,060$	0,09 $\pm 0,060$	-0,04 $\pm 0,061$	-0,02 $\pm 0,061$	-0,15* $\pm 0,059$
<i>LTF^{AB}</i>	115	-0,16 $\pm 0,091$	-0,01 $\pm 0,093$	0,10 $\pm 0,092$	-0,04 $\pm 0,093$	-0,09 $\pm 0,092$	-0,03 $\pm 0,093$

* – $P < 0,05$

Корреляционная связь между удоем и содержанием белка у коров с генотипами *LTF^{AA}* и *LTF^{AB}* была также отрицательно направленной (от $-0,01$ до $-0,07$).

Коэффициенты корреляции между жиром и белком были положительными. Данные коэффициенты были слабыми и почти одинаковыми $0,09-0,10$.

Установлено, что коэффициенты корреляции между такими показателями, как удой-соматические клетки, жир-соматические клетки и белок-соматические клетки оказались отрицательными. Данные коэффициенты были невысокими и колебались от $-0,02$ до $-0,15$.

Таким образом, полученные результаты показали, что у животных с разными генотипами гена *LTF* величина и направленность корреляции почти между всеми показателями молочной продуктивности стабильная, слабая и отрицательная. Относительно хорошие показатели коэффициентов корреляции

между жиром-белком и белком-соматическими клетками у первотёлок с генотипами *AA* и *AB*, и только *AA* гена *LTF*, соответственно.

Также нами изучена взаимосвязь между признаками молочной продуктивности у первотёлок с разными генотипами гена *LTF* и отдельного линейного происхождения (таблица 18).

По группам первотёлок с генотипами *AA* и *AB* гена *LTF* и разного линейного происхождения установлена корреляция как положительная, так и отрицательная между удоём и жиром. По группе первотёлок линий Соверинга и Чифа с генотипом *AA* гена *LTF* получена высокая положительная корреляция ($r = 0,84$ и $r = 1,0$, $P < 0,001$). Положительные коэффициенты корреляции получены также у животных с генотипом *AA* гена *LTF* линии Айдиала ($r = 0,39$) и с генотипом *AB* гена *LTF* линии Соверинга ($r = 0,31$). В группах других линий выявлен коэффициент корреляции в пределах от $-0,04$ до $-0,58$. Наименьшая и достоверная корреляция была у первотёлок с генотипом *AA* гена *LTF* линии Чифтейна ($-0,58$; $P < 0,05$).

Коэффициенты корреляции у животных с генотипами LTF^{AA} и LTF^{AB} и разной линейной принадлежности были положительные и отрицательные между удоём и содержанием белка. В группах первотёлок линий Айдиала и Соверинга с генотипами LTF^{AB} получена средняя положительная корреляция $0,38$ и $0,61$. Положительные взаимосвязь получена также у животных с генотипом LTF^{AB} линий Рокмэна ($r = 0,16$) и с генотипом *AB* гена *LTF* линии Соверинга ($r = 0,23$). По другим группам других линий выявлен коэффициент корреляции в пределах от $-0,05$ до $-0,51$. Наименьшая корреляция была у первотёлок с генотипом LTF^{AA} линии Соверинга ($-0,51$).

Таблица 18 – Влияние отдельных линий на сопряжённость признаков молочной продуктивности коров с разными генотипами гена *LTF*

Линия	Генотип	n	Удой, кг - Жир, %	Удой, кг - Белок, %	Жир, % - Белок, %	Удой, кг - Соматические клетки, тыс./мл	Жир, % - Соматические клетки, тыс./мл	Белок, % - Соматические клетки, тыс./мл
Айвенго	<i>LTF^{AA}</i>	31	-0,11 ±0,179	-0,13 ±0,178	0,26 ±0,173	-0,13 ±0,178	-0,02 ±0,180	0,02 ±0,180
	<i>LTF^{AB}</i>	13	-0,11 ±0,300	0,38 ±0,279	0,02 ±0,301	-0,09 ±0,300	-0,52 ±0,258	0,04 ±0,301
Айдиал	<i>LTF^{AA}</i>	22	0,39 ±0,206	-0,17 ±0,220	-0,17 ±0,220	0,03 ±0,224	0,06 ±0,223	0,19 ±0,220
	<i>LTF^{AB}</i>	9	-0,41 ±0,345	-0,41 ±0,345	-0,28 ±0,363	0,59 ±0,305	-0,11 ±0,376	-0,21 ±0,370
Рокмэн	<i>LTF^{AA}</i>	49	-0,13 ±0,142	-0,05 ±0,143	0,20 ±0,140	0,14 ±0,141	0,11 ±0,142	0,22 ±0,139
	<i>LTF^{AB}</i>	19	-0,04 ±0,242	0,16 ±0,239	-0,39 ±0,223	0,26 ±0,234	0,21 ±0,237	0,09 ±0,242
Соверинг	<i>LTF^{AA}</i>	4	0,84 ±0,384	-0,58 ±0,576	-0,91 ±0,293	-0,53 ±0,600	0,001 ±0,707	-0,25 ±0,685
	<i>LTF^{AB}</i>	5	0,31 ±0,549	0,61 ±0,457	0,30 ±0,551	-0,24 ±0,560	-0,98** ±0,115	-0,13 ±0,572
Чиф	<i>LTF^{AA}</i>	149	1,00*** ±0	-0,08 ±0,081	0,08 ±0,081	-0,12 ±0,081	0,001 ±0,082	-0,17 ±0,080
	<i>LTF^{AB}</i>	61	-0,14 ±0,127	-0,14 ±0,127	0,18 ±0,126	-0,07 ±0,128	-0,04 ±0,128	-0,21 ±0,125
Чифтейн	<i>LTF^{AA}</i>	17	-0,58* ±0,210	-0,10 ±0,257	0,03 ±0,258	0,38 ±0,239	-0,30 ±0,246	-0,14 ±0,256
	<i>LTF^{AB}</i>	8	-0,15 ±0,404	0,23 ±0,397	0,36 ±0,381	-0,04 ±0,408	0,14 ±0,404	0,44 ±0,367

* – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

Коэффициенты корреляции между жиром и белком у особей с генотипами *AA* и *AB* гена *LTF* были слабо и средне положительными, составили 0,02-0,36 в группах животных линий Айвенго, Рокмэна, Чифа, Чифтейна (*AA* генотип) и Соверинга, Чифа, Чифтейна (*AB* генотип). У других коэффициенты были

отрицательные, в пределах от $-0,17$ до $-0,91$, причём наихудший показатель отмечен в группе животных линии Соверинга с генотипом *AA* гена *LTF*.

Установлено, что коэффициенты корреляции у животных разных линий между такими показателями, как удой-соматические клетки, жир-соматические клетки и белок-соматические клетки были в пределах от $-0,98$ ($P < 0,001$) до $0,59$. При этом корреляционная связь у аналогов с генотипами *LTF^{AA}* и *LTF^{AB}* средняя положительная в линиях Айдиала и Чифтейна ($r = 0,38-0,59$), а также средняя и сильная отрицательная в линиях Айвенго и Соверинга (от $-0,52$ до $-0,98$).

Следует отметить, что лучшие показатели по сопряжённости признаков молочной продуктивности выявлены у коров с генотипом *AB* гена лактоферрина линии Соверинга.

2.2.9 Сопряжённость признаков молочной продуктивности у животных с разными генотипами гена манноза-связывающего лектина

В результате проведённых исследований по выявлению коррелятивной зависимости между признаками молочной продуктивности у первотёлок с разными генотипами гена *MBL1* нами выявлен характер связи.

Данные таблицы 18 показывают, что у первотёлок с генотипами *CT*, *TC* и *TT* гена *MBL1* коэффициенты корреляции между удоём и содержанием жира в молоке были слабые (от $-0,09$ до $-0,12$).

Корреляционная связь между удоём и содержанием белка у коров с генотипами *MBL1^{CC}*, *MBL1^{TC}* и *MBL1^{TT}* была также отрицательно направленной (от $-0,04$ до $-0,14$).

Коэффициенты корреляции между жиром и белком были положительными. Данные коэффициенты были слабыми $0,04-0,06$, за исключением животных с генотипом *TT* гена *MBL1*, у которых этот показатель был средним, достоверным и составил $0,32$ ($P < 0,05$).

Установлено, что коэффициенты корреляции между такими показателями, как удой-соматические клетки, жир-соматические клетки и белок-соматические

клетки оказались отрицательными. Данные коэффициенты были невысокими и колебались от $-0,01$ до $-0,18$.

Таблица 19 – Корреляция между количественными признаками первотёлок с разными генотипами гена *MBL1*

Генотип	n	Удой, кг - Жир, %	Удой, кг - Белок, %	Жир, % - Белок, %	Удой, кг - Соматические клетки, тыс./мл	Жир, % - Соматические клетки, тыс./мл	Белок, % - Соматические клетки, тыс./мл
<i>MBL1^{CC}</i>	161	-0,09 ±0,078	-0,09 ±0,078	0,06 ±0,079	-0,02 ±0,079	-0,01 ±0,079	-0,06 ±0,079
<i>MBL1^{TC}</i>	168	-0,12 ±0,076	-0,04 ±0,077	0,04 ±0,077	-0,02 ±0,077	-0,03 ±0,077	-0,18* ±0,075
<i>MBL1^{TT}</i>	58	-0,09 ±0,131	-0,14 ±0,130	0,32* ±0,124	-0,02 ±0,131	-0,18 ±0,129	-0,16 ±0,130

* – $P < 0,05$

Таким образом, полученные результаты показали, что у животных с разными генотипами гена *MBL1* величина и направленность корреляции почти между всеми показателями молочной продуктивности стабильная, слабая и отрицательная. Относительно хорошие показатели коэффициентов корреляции между жиром-белком и белком-соматическими клетками у первотёлок с генотипами *TT* и *TC* гена *MBL1*, соответственно.

Также нами изучена взаимосвязь между признаками молочной продуктивности у первотёлок с разными генотипами гена *MBL1* и отдельного линейного происхождения (таблица 20).

По группам первотёлок с генотипами *CC*, *TC* и *TT* гена *MBL1* и разного линейного происхождения между удоем и жиром установлена в основном корреляция как отрицательная (от $-0,01$ до $-0,69$). Средние положительные коэффициенты корреляции получены у животных с генотипом *TC* гена *MBL1* линии Айдиала ($r = 0,47$) и с генотипом *TT* гена *MBL1* линии Чифтейна ($r = 0,43$).

Таблица 20 – Влияние отдельных линий на сопряжённость признаков молочной продуктивности коров с разными генотипами гена *MBL1*

Линия	Генотип	n	Удой, кг - Жир, %	Удой, кг - Белок, %	Жир, % - Белок, %	Удой, кг - Соматические клетки, тыс./мл	Жир, % - Соматические клетки, тыс./мл	Белок, % - Соматические клетки, тыс./мл
Айвенго	<i>MBL1^{CC}</i>	17	-0,15 ±0,255	-0,66** ±0,194	0,10 ±0,257	-0,34 ±0,243	0,28 ±0,248	-0,34 ±0,243
	<i>MBL1^{TC}</i>	19	-0,16 ±0,239	0,16 ±0,239	0,11 ±0,241	0,15 ±0,240	-0,27 ±0,234	-0,17 ±0,239
	<i>MBL1^{TT}</i>	8	-0,02 ±0,408	0,33 ±0,385	0,75* ±0,270	-0,19 ±0,401	-0,33 ±0,385	-0,11 ±0,406
Айдиал	<i>MBL1^{CC}</i>	18	-0,13 ±0,248	0,17 ±0,246	-0,34 ±0,235	0,42 ±0,227	-0,02 ±0,250	-0,20 ±0,245
	<i>MBL1^{TC}</i>	11	0,47 ±0,294	-0,13 ±0,331	0,11 ±0,331	0,38 ±0,308	-0,01 ±0,333	0,46 ±0,296
	<i>MBL1^{TT}</i>	2	-	-	-	-	-	-
Рокмэн	<i>MBL1^{CC}</i>	27	-0,01 ±0,200	-0,10 ±0,199	0,12 ±0,199	0,35 ±0,187	0,36 ±0,187	0,23 ±0,195
	<i>MBL1^{TC}</i>	33	-0,12 ±0,173	0,06 ±0,174	-0,13 ±0,173	0,11 ±0,173	0,09 ±0,173	0,10 ±0,173
	<i>MBL1^{TT}</i>	8	-0,30 ±0,389	0,04 ±0,408	0,22 ±0,398	0,47 ±0,360	-0,26 ±0,394	-0,69 ±0,295
Соверинг	<i>MBL1^{CC}</i>	2	-	-	-	-	-	-
	<i>MBL1^{TC}</i>	6	-0,10 ±0,497	0,02 ±0,500	0,21 ±0,489	0,43 ±0,451	-0,59 ±0,500	-0,01 ±0,404
	<i>MBL1^{TT}</i>	1	-	-	-	-	-	-
Чиф	<i>MBL1^{CC}</i>	87	-0,05 ±0,107	-0,02 ±0,107	0,08 ±0,107	-0,03 ±0,107	-0,01 ±0,107	-0,08 ±0,107
	<i>MBL1^{TC}</i>	89	-0,10 ±0,105	-0,08 ±0,106	0,06 ±0,106	-0,13 ±0,105	-0,01 ±0,106	-0,41*** ±0,097
	<i>MBL1^{TT}</i>	34	0,001 ±0,171	-0,39* ±0,158	0,35* ±0,161	-0,34* ±0,161	-0,11 ±0,170	0,03 ±0,171
Чифтейн	<i>MBL1^{CC}</i>	10	-0,43 ±0,319	-0,06 ±0,353	-0,37 ±0,328	0,52 ±0,302	-0,62 ±0,223	-0,08 ±0,352
	<i>MBL1^{TC}</i>	10	-0,69 ±0,256	0,02 ±0,353	0,19 ±0,347	0,19 ±0,347	0,04 ±0,353	0,66* ±0,266
	<i>MBL1^{TT}</i>	5	0,43 ±0,521	0,10 ±0,574	0,58 ±0,470	0,06 ±0,576	0,21 ±0,564	0,48 ±0,506

* – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$

Коэффициенты корреляции у животных с генотипами $MBL1^{CC}$, $MBL1^{TC}$ и $MBL1^{TT}$ и разной линейной принадлежности были как положительные (от 0,02 до 0,33), так и отрицательные (от -0,02 до -0,66, $P < 0,01$) между удоем и содержанием белка. В группах первотёлок линии Айвенго с генотипом $MBL1^{TT}$ получена средняя положительная корреляция ($r = 0,33$), тогда как в группах линий Айвенго с генотипом $MBL1^{CC}$ и Чифа с генотипом $MBL1^{TT}$ была средняя отрицательная связь -0,66 ($P < 0,01$) и -0,39 ($P < 0,05$).

Коэффициенты корреляции между жиром и белком у особей с разными генотипами гена $MBL1$ и линиями в основном были слабо и средне положительными, составили 0,06-0,75, при этом $r = 0,75$ ($P < 0,05$). Исключением были коровы с генотипами CC гена $MBL1$ линий Айдиала, Чифтейна и с генотипом TC линии Рокмэна. У них этот показатель был отрицательным в пределах от - 0,13 до - 0,37.

Установлено, что коэффициенты корреляции у животных разных линий между такими показателями, как удой-соматические клетки, жир-соматические клетки и белок-соматические клетки были в пределах от -0,69 до 0,66 ($P < 0,05$). При этом корреляционная связь у аналогов с генотипами $MBL1^{CC}$, $MBL1^{TC}$ и $MBL1^{TT}$ средняя положительная в линиях Айдиала, Рокмэна, Соверинга и Чифтейна ($r = 0,35$ -0,66), а также средняя отрицательная в линиях Айвенго, Рокмэна, Соверинга и Чифа (от -0,33 до -0,69).

Следует отметить, что лучшие показатели по сопряжённости основных признаков молочной продуктивности выявлены у коров с генотипом TT гена манноза-связывающий лектин линии Чифтейна. В тоже время животные с генотипами TT и TC гена $MBL1$ линии Чифтейна и с генотипами CC и TC гена $MBL1$ линии Рокмэна показали наихудшие данные взаимосвязи молочной продуктивности с количеством соматических клеток.

2.2.10 Встречаемость комплексных генотипов генов манноза-связывающего лектина и лактоферрина у первотёлок голштинской породы

На основании анализа встречаемости комплексных генотипов генов манноза-связывающего лектина и лактоферрина выборки из 387 первотёлок голштинской породы установлено, что в данной популяции встречалось 6 комплексных генотипов генов *MBL1* и *LTF* (таблица 21).

Таблица 21 – Встречаемость комплексных генотипов *MBL1* и *LTF* у голштинских первотёлок

Комбинации генотипов генов <i>MBL1</i> и <i>LTF</i>	Количество	Соотношение
	n = 387	100%
<i>MBL1^{CC}LTF^{AA}</i>	115	29,72
<i>MBL1^{TC}LTF^{AA}</i>	114	29,46
<i>MBL1^{TT}LTF^{AA}</i>	44	11,37
<i>MBL1^{CC}LTF^{AB}</i>	49	12,66
<i>MBL1^{TC}LTF^{AB}</i>	49	12,66
<i>MBL1^{TT}LTF^{AB}</i>	16	4,13
<i>MBL1^{CC}LTF^{BB}</i>	-	-
<i>MBL1^{TC}LTF^{BB}</i>	-	-
<i>MBL1^{TT}LTF^{BB}</i>	-	-

Среди 387 особей обладали комплексными генотипами *MBL1^{CC}LTF^{AA}* – 115 (29,72 %) первотёлок, *MBL1^{TC}LTF^{AA}* – 114 (29,46 %), *MBL1^{CC}LTF^{AB}* и *MBL1^{TC}LTF^{AB}* по 49 (12,66 %), *MBL1^{TT}LTF^{AA}* – 44 (11,37 %), *MBL1^{TT}LTF^{AB}* – 16 (4,13 %) животных, соответственно.

Более наглядно соотношение комплексных генотипов по генам *MBL1* и *LTF* в популяции голштинских коров показано на рисунке 9.

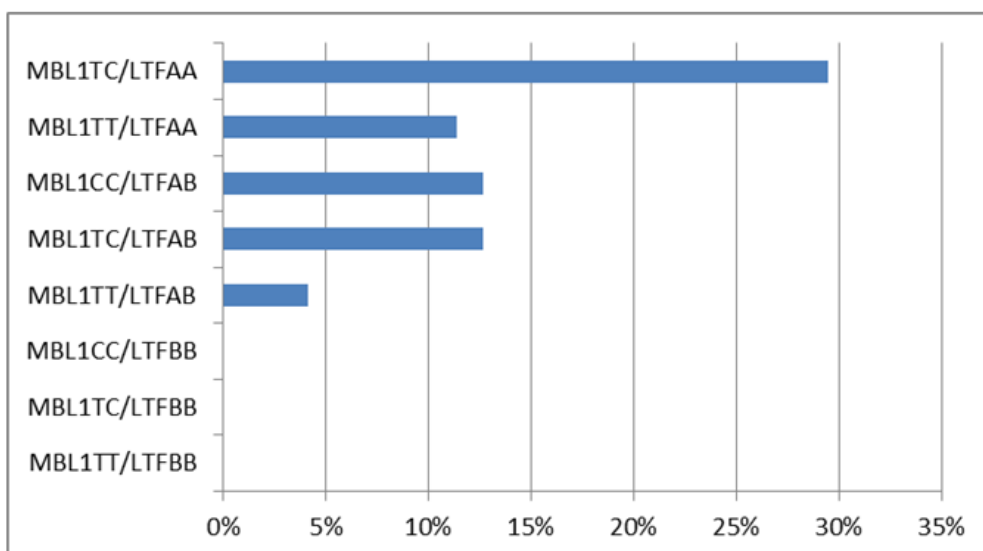


Рисунок 9 – Встречаемость комплексных генотипов *MBL1* и *LTF* у голштинских первотёлок

Благодаря проведённому анализу определено, что наибольшая встречаемость комплексных генотипов *MBL1* / *LTF* характерна для первотёлок двух комплексных генотипов $MBL1^{CC}LTF^{AA}$ и $MBL1^{TC}LTF^{AA}$, что в общем составляет 59,18 % от поголовья изучаемой популяции. Причём, таких комплексных генотипов, как $MBL1^{CC}LTF^{BB}$, $MBL1^{TC}LTF^{BB}$ и $MBL1^{TT}LTF^{BB}$ у исследованных животных вообще не встречалось, это связано с отсутствием особей с генотипом LTF^{BB} .

2.2.11 Встречаемость комплексных генотипов генов манноза-связывающего лектина и лактоферрина у первотёлок голштинской породы в зависимости от линейной принадлежности

Дополнительно к встречаемости комплексных генотипов манноза-связывающего лектина и лактоферрина у первотёлок голштинской породы была определена встречаемость комплексных генотипов исследуемых генов с учётом их линейной принадлежности (таблица 22).

Среди голштинских первотёлок линий Айвенго, Айдиала, Рокмэна, Соверинга, Чифа, Чифтейна встречаемость комплексных генотипов *MBL1* / *LTF*

была в следующих пределах: генотип $MBL1^{CC}LTF^{AA}$ от 11,1 % в линии Соверинга до 38,7 % в линии Айдиала; генотип $MBL1^{TC}LTF^{AA}$ от 20,0 % в линии Чифтейна до 33,8 % в линии Рокмэна; генотип $MBL1^{TT}LTF^{AA}$ от 6,4 % в линии Айдиала до 15,9-16,0 % в линиях Айвенго, Чифтейна; генотип $MBL1^{TC}LTF^{AB}$ от 8,8 % в линии Рокмэна до 33,3 % в линии Соверинга; генотип $MBL1^{TC}LTF^{AB}$ от 9,7 % в линии Айдиала до 20,0 % в линии Чифтейна; и генотип $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ от 0 % в линиях Айдиала, Соверинга до 5,2 % в линии Чифа, соответственно.

Таблица 22 – Частота встречаемости комплексных сочетаний генотипов генов $MBL1$ и LTF в разрезе линейной принадлежности коров

Комплексное сочетание генотипов	Айвенго		Айдиал		Рокмэн		Соверинг		Чиф		Чифтейн	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
$MBL1^{CC}LTF^{AA}$	10	22,7	12	38,7	21	30,9	1	11,1	64	30,5	7	28,0
$MBL1^{TC}LTF^{AA}$	14	31,8	8	25,8	23	33,8	3	33,3	61	29,1	5	20,0
$MBL1^{TT}LTF^{AA}$	7	15,9	2	6,4	5	7,4	1	11,1	25	11,9	4	16,0
$MBL1^{CC}LTF^{AB}$	7	15,9	6	19,4	6	8,8	3	33,3	24	11,4	3	12,0
$MBL1^{TC}LTF^{AB}$	5	11,4	3	9,7	10	14,7	1	11,1	25	11,9	5	20,0
$MBL1^{TT}LTF^{AB}$	1	2,3	-	-	3	4,4	-	-	11	5,2	1	4,0
ИТОГО	44	100	31	100	68	100	9	100	210	100	25	100

Таким образом, исследования показали, что в целом среди самых высоких данных встречаемости комплексных генотипов $MBL1 / LTF$ с учётом их линейной принадлежности была наибольшая у первотёлок линии Айдиала с генотипом $MBL1^{CC}LTF^{AA}$, линии Рокмэна с генотипами $MBL1^{TC}LTF^{AA}$ и линии Соверинга с генотипом $MBL1^{CC}LTF^{AB}$ (33,3-38,7 %), промежуточная – в линии Айвенго с генотипом $MBL1^{TT}LTF^{AA}$, линии Чифтейна с генотипами $MBL1^{TT}LTF^{AA}$, $MBL1^{TC}LTF^{AB}$ (15,9-20 %) и наименьшая – в линии Чифа (5,2 %), соответственно.

Анализ ассоциации комплексных генотипов манноза-связывающего лектина и лактоферрина с молочной продуктивностью 387 первотёлок показал, что

наибольшим удоём, характеризовались коровы с комплексными генотипами $MBLI^{TC}LTF^{AB}$ и $MBLI^{TT}LTF^{AB}$. Их удои составили в среднем 6619-6626 кг молока. В отношении к сверстницам с другими комплексными генотипами $MBLI / LTF$ разница составила 267-572 кг молока, причём превосходство было статистически достоверным ($P < 0,05-0,01$) над животными с комплексными генотипами $MBLI^{CC}LTF^{AA}$ и $MBLI^{TT}LTF^{AA}$ (таблица 23).

Таблица 23 – Влияние комплексных генотипов манноза-связывающего лектина и лактоферрина на показатели молочной продуктивности первотёлок

Комплексный генотип	n	Удой, кг	Белок, %	Выход белка, кг	Жир, %	Выход жира, кг	Содержание соматических клеток, тыс./мл
$MBLI^{CC}LTF^{AA}$	115	6054 ±81,7	2,91 ±0,029	176,2 ±2,86	3,89 ±0,041	235,5 ±3,79	277,1 ±18,83
$MBLI^{TC}LTF^{AA}$	114	6352 ±116,3	3,00 ±0,025	190,6* ±3,73	3,89 ±0,035	247,1 ±5,04	272,8 ±16,65
$MBLI^{TT}LTF^{AA}$	44	6093 ±172,5	2,86* ±0,055	174,3 ±5,05	3,83 ±0,055	233,4 ±7,02	304,8 ±30,1
$MBLI^{CC}LTF^{AB}$	49	6229 ±162,7	2,92 ±0,042	181,9 ±4,94	3,93 ±0,069	244,8 ±7,30	251,5 ±17,63
$MBLI^{TC}LTF^{AB}$	49	6619 ±188,9	2,97 ±0,039	196,6 ±6,31	3,87 ±0,060	256,2 ±7,10	299,4 ±23,09
$MBLI^{TT}LTF^{AB}$	16	6626 ±181,0	2,94 ±0,074	194,8 ±8,75	3,91 ±0,109	259,1 ±9,09	240,2 ±43,47

По содержанию белка в молоке значительно превосходили особи с комплексным генотипом $MBLI^{TC}LTF^{AA}$ (3,00 %). Их преимущество над коровами с другими комплексными генотипами $MBLI / LTF$ составило 0,03-0,14 %, причём статистически достоверная ($P < 0,05-0,01$) разница была с животными комплексных генотипов $MBLI^{CC}LTF^{AA}$ и $MBLI^{TT}LTF^{AA}$. При этом по содержанию жира в молоке выгодно отличались животные с комплексным генотипом $MBLI^{CC}LTF^{AB}$ (3,93%). Они превосходили по этому показателю сверстниц с другими комплексными генотипами на 0,02-0,10%.

Наибольшие показатели по выходу молочного белка и жира имели животные с комплексными генотипами $MBLI^{TC}LTF^{AB}$ и $MBLI^{TT}LTF^{AB}$ – 194,8-

196,9 кг и 256,2-259,1 кг, соответственно. Они превосходили по этим данным первотёлок с другими комплексными генотипами *MBL1 / LTF* на 4,2-22,3 кг и 9,1-25,7 кг, соответственно. Причём межгрупповая разница по выходу молочного белка и жира была статистически достоверная ($P < 0,05-0,01$) с комплексными генотипами *MBL1^{CC}LTF^{AA}*, *MBL1^{TC}LTF^{AA}* (по выходу молочного белка) и *MBL1^{CC}LTF^{AA}*, *MBL1^{TT}LTF^{AA}* (по выходу молочного жира).

Содержание соматических клеток в молоке было в пределах от 240,2 тыс./мл в группе коров с комплексным генотипом *MBL1^{TT}LTF^{AB}*; до 304,8 тыс./мл в группе сверстниц с комплексным генотипом *MBL1^{TT}LTF^{AA}*. Межгрупповая разница животных с разными комплексными генотипами *MBL1 / LTF* была статистически недостоверной.

Таким образом, по результатам сравнительного анализа первотёлок голштинской породы преимущество по основным показателям молочной продуктивности (удой, выход молочного белка и жира) было у животных с комплексными генотипами *MBL1^{TC}LTF^{AB}* и *MBL1^{TT}LTF^{AB}*. Однако по содержанию соматических клеток в молоке выгодно отличались только животные с комплексным генотипом *MBL1^{TT}LTF^{AB}*.

Дополнительно к оценке ассоциации комплексных генотипов генов манноза-связывающего лектина и лактоферрина с молочной продуктивностью первотёлок голштинской породы была определена молочная продуктивность и качество молока у коров с разными комплексными генотипами генов манноза-связывающего лектина и лактоферрина с учётом их линейной принадлежности (таблица 24).

Анализ ассоциации комплексных генотипов манноза-связывающего лектина и лактоферрина с молочной продуктивностью первотёлок показал, что наибольшим удоём, характеризовались коровы с комплексными генотипами *MBL1^{TC}LTF^{AB}*, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Айвенго, *MBL1^{TT}LTF^{AA}* линии Айдиала, *MBL1^{CC}LTF^{AB}*, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Рокмэна, *MBL1^{CC}LTF^{AB}* линии Соверинга, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Чифтейна. Их удои составили в среднем 6846-7996 кг молока. В отношении к сверстницам с другими комплексными генотипами *MBL1 /*

LTF и линиями разница составила 91-2939 кг молока, причём превосходство над отдельными комплексными генотипами других линий было статистически достоверным ($P < 0,05-0,001$).

По содержанию белка в молоке значительно превосходили особи с комплексными генотипами $MBL1^{CC}LTF^{AA}$, $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Айвенго, $MBL1^{TC}LTF^{AB}$ линии Айдиала, $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Рокмэна, $MBL1^{CC}LTF^{AB}$ линии Соверинга, $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Чифтейна (3,14-3,27%). Их преимущество над коровами с другими комплексными генотипами $MBL1 / LTF$ и линий составило 0,06-0,66 %, причём статистически достоверная ($P < 0,05-0,001$) разница была с животными комплексных генотипов $MBL1^{TT}LTF^{AA}$ линии Чифа, $MBL1^{CC}LTF^{AA}$ линии Чифтейна, а также с отдельными комплексными генотипами других линий.

По содержанию жира в молоке выгодно отличались животные с комплексными генотипами $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Айвенго, $MBL1^{CC}LTF^{AB}$, $MBL1^{TC}LTF^{AB}$ линии Айдиала, $MBL1^{TC}LTF^{AB}$, $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Чифтейна (4,16-4,42 %). Они превосходили по этому показателю сверстниц с другими комплексными генотипами и линий на 0,11-0,91 %, причём превосходство над отдельными комплексными генотипами и других линий было статистически достоверным ($P < 0,05-0,001$).

Таблица 24 – Влияние комплексных генотипов манноза-связывающего лектина и лактоферрина на показатели молочной продуктивности первотёлок в разрезе линейной принадлежности

Линия	Комплексный генотип	Показатели молочной продуктивности					
		Удой, кг	Белок, %	Выход белка, кг	Жир, %	Выход жира, кг	Содержание соматических клеток, тыс./мл
Айвенго	$MBL1^{CC}LTF^{AA}$	5801±287,5	3,14±0,053	182,2±7,75	4,01±0,075	232,6±9,37	268,5±55,0
	$MBL1^{TC}LTF^{AA}$	6649±317,6	2,98±0,085	198,1±11,05	4,03±0,110	268,0±15,88	282,8±99,4
	$MBL1^{TT}LTF^{AA}$	6253±444,5	2,97±0,100	185,7±15,32	3,98±0,122	248,9±17,60	359,7±120,6
	$MBL1^{CC}LTF^{AB}$	6512±209,4	2,88±0,064	187,5±3,92	3,99±	259,8±17,36	195,3±43,9
	$MBL1^{TC}LTF^{AB}$	7996±801,3	2,87±0,158	229,5±31,50	3,75±0,044	299,9±29,81	234,8±54,97
	$MBL1^{TT}LTF^{AB}$	7281±0	3,27±0	238,1±0	4,31±	313,8±0	94,0±0
А	$MBL1^{CC}LTF^{AA}$	5813±206,2	3,04±0,048	176,7±7,34	3,84±0,080	223,2±9,23	252,7±18,24

	<i>MBL1^{TC}LTF^{AA}</i>	6370±367,8	3,05±0,067	194,3±12,50	3,90±0,175	248,4±24,24	313,6±64,03
	<i>MBL1^{TT}LTF^{AA}</i>	7059±520,4	2,98±0,190	210,4±2,06	3,75±0,141	264,7±29,19	454,5±25,73
	<i>MBL1^{CC}LTF^{AB}</i>	6061±575,3	3,01±0,163	182,4±19,93	4,16±0,211	252,1±22,92	286,7±29,60
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AB}</i>	5057±340,3	3,24±0,066	163,8±7,01	4,17±0,276	210,9±2,82	496,3±130,43
Рокмэн	<i>MBL1^{CC}LTF^{AA}</i>	6170±223,4	2,85±0,058	175,8±6,48	3,73±0,091	230,1±9,10	185,1±16,03
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AA}</i>	6656±304,1	3,06±0,028	203,7±9,16	3,91±0,076	260,2±12,1	247,9±14,03
	<i>MBL1^{TT}LTF^{AA}</i>	6755±462,2	2,90±0,082	195,9±12,61	3,51±0,177	237,1±13,75	292,4±64,74
	<i>MBL1^{CC}LTF^{AB}</i>	6910±597,4	3,08±0,060	212,8±15,77	3,85±0,108	266,0±	249,2±38,98
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AB}</i>	6276±431,5	2,91±0,076	182,6±15,06	3,66±0,142	229,7±14,95	275,6±55,71
	<i>MBL1^{TT}LTF^{AB}</i>	7575±266,6	3,17±0,148	240,1±3,04	3,70±0,363	280,3±25,35	176,0±83,16
Соверинг	<i>MBL1^{CC}LTF^{AA}</i>	5702±0	2,93±0	167,1±0	4,03±0	229,8±0	775,0±0
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AA}</i>	6244±323,1	2,99±0,087	186,9±4,18	4,04±0,052	252,3±16,41	209,0±86,34
	<i>MBL1^{TT}LTF^{AA}</i>	5675±0	2,93±0	166,3±0	3,56±0	202,0±0	775,0±0
	<i>MBL1^{CC}LTF^{AB}</i>	6846±387,9	3,19±0,069	218,4±10,51	4,03±0,153	275,9±14,72	276,3±82,78
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AB}</i>	5852±0	2,64±0	154,5±0	4,05±0	237,0±0	199,0±0
Чиф	<i>MBL1^{CC}LTF^{AA}</i>	6052±111,7	2,91±0,042	176,1±4,21	3,94±0,063	238,4±5,75	304,1±29,45
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AA}</i>	6151±160,3	2,98±0,040	183,3±5,22	3,83±0,047	235,6±6,25	277,3±20,35
	<i>MBL1^{TT}LTF^{AA}</i>	5837±233,4	2,78±0,088	162,3±5,71	3,83±0,078	223,6±9,94	298,0±35,18
	<i>MBL1^{CC}LTF^{AB}</i>	6226±236,4	2,85±0,068	177,4±7,22	3,89±0,119	242,2±10,71	238,0±19,51
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AB}</i>	6487±270,2	2,98±0,059	193,3±8,64	3,86±0,079	250,4±11,08	312,0±36,19
	<i>MBL1^{TT}LTF^{AB}</i>	6355±187,2	2,85±0,092	181,1±8,75	3,89±0,139	247,2±10,22	280,9±62,74
Чифтейн	<i>MBL1^{CC}LTF^{AA}</i>	6551±233,4	2,61±0,179	171,0±14,74	3,84±0,131	251,6±5,37	291,8±95,09
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AA}</i>	6595±564,4	2,89±0,142	190,6±12,60	3,93±0,288	259,2±23,33	276,8±24,27
	<i>MBL1^{TT}LTF^{AA}</i>	6109±699,4	3,04±0,045	185,7±20,84	3,96±0,119	241,9±31,59	192,7±27,35
	<i>MBL1^{CC}LTF^{AB}</i>	5275±429,1	2,89±0,111	152,4±15,03	3,81±0,018	201,0±17,05	262,7±109,04
	<i>MBL1^{TC}LTF^{AB}</i>	6707±838,2	2,77±0,145	185,8±30,33	4,19±0,399	281,0±17,73	276,4±61,27
	<i>MBL1^{TT}LTF^{AB}</i>	6884±0	3,18±0	218,9±0	4,42±0	304,3±0	172,0±0

Наибольшие показатели по выходу молочного белка и жира имели животные с комплексными генотипами *MBL1^{TC}LTF^{AB}*, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Айвенго, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Рокмэна, *MBL1^{CC}LTF^{AB}* линии Соверинга – 218,4-240,1 кг, а также *MBL1^{TC}LTF^{AB}*, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Айвенго, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Рокмэна, *MBL1^{TC}LTF^{AB}*, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Чифтейна – 201,0-313,8 кг, соответственно. Они превосходили по этим данным первотёлок с другими комплексными генотипами *MBL1 / LTF* и линий на 5,6-87,7 кг и 4,4-112,8 кг, соответственно. При этом межгрупповая разница по выходу молочного белка и жира была статистически достоверная ($P < 0,05-0,001$) с комплексными генотипами *MBL1^{TT}LTF^{AA}* линии Чифа (по выходу молочного белка и молочного жира), причём разница с отдельными комплексными генотипами и другими линиями была статистически достоверной ($P < 0,05-0,001$).

Наименьшее содержание соматических клеток в молоке было в группе коров с комплексными генотипами *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Айвенго, *MBL1^{CC}LTF^{AA}*,

$MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Рокмэна, $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Чифтейна – 94-185,1 тыс./мл. Они выгодно уступали по этому показателю животным с другими комплексными генотипами $MBL1 / LTF$ и линиями на 7,6-681 тыс./мл. При этом разница с отдельными комплексными генотипами и другими линиями была статистически достоверной ($P < 0,05-0,001$).

Таким образом, по результатам сравнительного анализа первотёлок голштинской породы преимущество по основным показателям молочной продуктивности (удой, содержание белка и жира в молоке, выход молочного белка и жира) было у трёх групп коров с комплексными генотипами $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Айвенго, $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Рокмэна и $MBL1^{TT}LTF^{AB}$ линии Чифтейна. Эти группы животных выгодно отличались и по содержанию соматических клеток в молоке. Необходимо также отметить у сверстниц с комплексными генотипами $MBL1^{CC}LTF^{AA}$ и $MBL1^{TT}LTF^{AA}$ линии Соверинга молоко было низкого качества; в их молоке выявлено самое высокое содержание соматических клеток (775,0 тыс./мл).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Селекционно-генетические методы профилактики мастита можно осуществлять в двух направлениях:

1) Прямой отбор, т.е. селекция маститоустойчивых животных, основанный на методах селекции для количественных признаков, так как маститоустойчивость наследуется полигенно. Эти мероприятия обязательны в племенных хозяйствах, но состояние ситуации по маститу должна быть проведена в каждом стаде. Прямой отбор животных по маститоустойчивости связан с состоянием естественной резистентности их организма;

2) Косвенный отбор, т.е. селекция на основе учёта количества соматических клеток в молоке, благодаря высокой корреляция между маститом и количеством соматических клеток (0,6-0,8). Соматические клетки в молоке – объективный показатель. Они служат методом диагностики скрытого мастита и клинического. Применение генетической оценки групп животных по соматическим клеткам молока улучшит резистентность к маститу, качество молока, здоровье животных, снизит затраты на лечение [116].

Использование современных методов ДНК-технологии и геномолекулярной диагностики в повышении молочной продуктивности и качества молока является перспективным направлением, которое в конечном счете обеспечит более высокий селекционный эффект [54, 55].

Многочисленные исследования показывают, что некоторые гены ассоциируются с продуктивностью животных, качеством их продукции, а также с устойчивостью к различным заболеваниям. В частности, такие генотипы генов, как лактоферрин (*LTF*) и манноза-связывающий лектин (*MBL1*) связаны с молочной продуктивностью и качеством молока коров, а также с устойчивостью к маститам [220, 237, 292, 226, 289, 268, 113, 19].

Изучением аллельного полиморфизма генов *LTF* и *MBL1* у крупного рогатого скота занимались учёные России и дальнего зарубежья.

Исследования по определению встречаемости аллелей гена *LTF* среди различных пород и популяций крупного рогатого скота показали распределение частот аллелей *A* и *B* среди животных южного и восточного анатолийского красного скота ($A - 0,47-0,63$, $B - 0,37-0,53$), чистопородных и помесных по голштинской породе ($A - 0,78$ и $B - 0,22$), популяций голштинского скота иранской, сербской селекции ($A - 0,775-0,831$ и $B - 0,169-0,225$), ангусского мясного скота ($A - 0,50$ и $B - 0,50$) и помесей польская чёрно-пёстрая × голштинская порода ($A - 0,677$ и $B - 0,323$). Необходимо также отметить, что в большинстве исследований генотип *BB* гена *LTF* не встречался. В нашем исследовании голштинских коров встречаемость аллеля *A* (0,85) гена *LTF* была выше, а аллеля *B* (0,15), соответственно, ниже в сравнении с литературными данными, в том числе по голштинской породе. В исследуемой популяции также не выявлен генотип LTF^{BB} [190, 137, 237, 226, 203, 288].

Исследования по определению встречаемости аллелей гена *MBL1* среди различных пород и популяций крупного рогатого скота показали распределение частот аллелей *C* и *T* среди животных пород голштинской китайской селекции ($C - 0,57$, $T - 0,43$), Luxi Yellow ($C - 0,74$, $T - 0,26$), Bohai Black ($C - 0,63$, $T - 0,37$). Схожие результаты получены и в нашем исследовании коров голштинской породы. Так, частота встречаемости аллеля *C* (0,63) гена *MBL1* была около верхней границы, а аллеля *T* (0,37) около нижней границы, соответственно. Однако, имеются противоположные результаты исследований. В исследованиях крупного рогатого скота пород голштинской китайской селекции ($C - 0,3318$, $T - 0,6682$), симментальской китайской селекции ($C - 0,3385$, $T - 0,6615$), Sanhe ($C - 0,3955$, $T - 0,6045$) встречаемость аллеля *T* гена *MBL1* была выше, чем аллеля *C* [220, 289].

Проведённые исследования ассоциации полиморфизма гена *LTF* с хозяйственно-полезными признаками коров показали, что аллели и генотипы по гену *LTF* связаны с молочной продуктивностью, содержанием соматических клеток в молоке и составом молока. По данным Nanaei H.A. et al. (2012) животные с генотипом LTF^{AA} превосходили аналогов с генотипом LTF^{AB} по удоям на 156,48

кг молока. Схожие результаты получены и в нашем исследовании, хотя разница в нашем случае была выше и составила 302 кг ($P < 0,001$). Большинство исследователей отмечают, что по содержанию соматических клеток в молоке выгодно отличались коровы, имеющие в геноме *B* аллель или генотип *BB* гена *LTF*. Схожая тенденция была в нашем исследовании. Животные голштинской породы с генотипом *LTF^{AB}* по данному показателю имели меньшее содержание соматических клеток, чем у сверстниц с генотипом *LTF^{AA}*. При этом в исследованиях Wojdak-Maksymiec K. et al. (2006) [270] содержание соматических клеток в молоке было наименьшим у коров с генотипом *LTF^{AA}*. [288, 226, 267, 237, 190, 226, 260, 261].

Проведённые исследования ассоциации полиморфизма гена *MBL1* с хозяйственно-полезными признаками коров показали, что аллели и генотипы по гену *MBL1* связаны с молочной продуктивностью, составом молока и содержанием соматических клеток в молоке [220, 285, 292].

По сведениям Liu J. et al. (2011) наибольшие удои имели животные с генотипом *MBL1^{TT}*, тогда как по содержанию жира и белка в молоке выгодно отличались аналоги с генотипом *MBL1^{CC}* и *MBL1^{TC}*. Однако в нашем исследовании схожие результаты получены у голштинских коров по содержанию жира и белка в молоке, тогда как по удоям выгодно отличались сверстницы с генотипом *MBL1^{TC}* [220].

По данным ряда зарубежных исследователей желательным генотипом *MBL1* с наименьшим количеством соматических клеток в молоке были животные с генотипом *MBL1^{TT}*. Однако, в нашем исследовании наименьшим содержанием соматических клеток в молоке обладали голштинские коровы с генотипом *MBL1^{CC}*. При этом другие исследователи показали, что генотипы по гену *MBL1* не оказывают влияние на содержание соматических клеток в молоке, хотя отметили, что аналогичные исследования необходимо продолжить [220, 285, 22036].

Таким образом, на основе проведенных исследований сделаны следующие

ВЫВОДЫ:

1. Установлено, что основная доля случаев заболевания маститом у коров относится к факторам микробной этиологии (78,6 %). По определению количества соматических клеток в молоке у 27 коров был выявлен субклинический мастит, которые имели гомозиготный генотип *CC* по локусу гена *MBL1* и у 11 коров был выявлен гетерозиготный генотип *ТС*.

2. Анализ голштинских первотёлок с разными генотипами *LTF* и *MBL1* по молочной продуктивности и качеству молока показал, что животные с генотипами *LTF^{AB}* и *MBL1^{TC}* в сравнении с аналогами с другими генотипами имели больше: удой на 302 кг ($P < 0,001$) и 157-320 кг, выход молочного белка на 10,1 кг ($P < 0,05$) и 12,3-15,1 кг ($P < 0,05-0,001$), выход молочного жира на 11,7 кг ($P < 0,05$) и 9,2-11,8 кг, соответственно. По содержанию соматических клеток в молоке животные с генотипами *LTF^{AB}* и *MBL1^{CC}* выгодно уступали сверстницам на 6,71 тыс./мл и 4,2-14,0 тыс./мл, соответственно. В зависимости от линейной принадлежности животных более высокая молочная продуктивность и качество молока у коров с генотипом *LTF^{AB}* линии Айвенго, а также с генотипом *MBL1^{TC}* линии Айвенго и с генотипом *MBL1^{TT}* линий Айдиала и Рокмэна.

3. Высокими показателями молочной продуктивности (удой – 6619-6626 кг, выход молочного белка – 194,8-196,9 кг, выход молочного жира – 256,2-259,1 кг) характеризовались первотёлки с комплексными генотипами *MBL1^{TC}LTF^{AB}* и *MBL1^{TT}LTF^{AB}*, что выше, чем у сверстниц с другими генотипами на 267-572 кг, 4,2-22,3 кг и 9,1-25,7 кг, соответственно. По содержанию соматических клеток в молоке несколько лучшее положение занимали животные с комплексным генотипом *MBL1^{TT}LTF^{AB}*. В зависимости от линейной принадлежности животных более высокая молочная продуктивность и качество молока у коров трёх комплексных генотипов: *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Айвенго, *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Рокмэна и *MBL1^{TT}LTF^{AB}* линии Чифтейна.

4. В группах первотёлок с разными генотипами *LTF* и *MBL1* между основными показателями молочной продуктивности и качеством молока установлена слабая отрицательная связь. В некоторой степени хорошие и значимые коэффициенты корреляции выявлены между белком-соматическими

клетками (от -0,15 до -0,18, при $P < 0,05$) у животных с генотипами LTF^{AA} и $MBL1^{TC}$, а также между жиром-белком (0,32, при $P < 0,05$) у аналогов с генотипом $MBL1^{TT}$. В зависимости от линейной принадлежности животных наилучшие показатели взаимосвязи между удоем-жиром (1,00, при $P < 0,001$) у особей с генотипом LTF^{AA} линии Чифа, между жиром-соматическими клетками (-0,98, при $P < 0,01$) у особей с генотипом LTF^{AB} линии Соверинга, а также между жиром-белком (0,75, при $P < 0,05$) у сверстниц с генотипом $MBL1^{TT}$ линии Айвенго, между белком-соматическими клетками (-0,41, при $P < 0,001$) у сверстниц с генотипом $MBL1^{TC}$ линии Чифа.

5. Апробированные ПЦР-ПДРФ-протоколы для генотипирования крупного рогатого скота по генам LTF и $MBL1$ являлись действенными подходами к определению генотипической принадлежности исследуемой выборки первотёлок голштинской породы.

6. В популяции первотёлок голштинской породы по частоте встречаемости преобладали A аллель (0,85) и генотип LTF^{AA} (70,3%) гена лактоферрина, C аллель (0,63) и генотип $MBL1^{TC}$ (43,4%) гена манноза-связывающего лектина. В зависимости от линейной принадлежности животных высокая встречаемость A аллеля (0,72-0,86) гена LTF и C аллеля (0,56-0,76) гена $MBL1$ сохраняется.

7. В популяции голштинских первотёлок было 6 из 9 возможных комплексных генотипов $MBL1 / LTF$. Наибольшая встречаемость комплексных генотипов в популяции коров следующая: $MBL1^{CC}LTF^{AA}$ и $MBL1^{TC}LTF^{AA}$ (29,46-29,76 %). В зависимости от линейной принадлежности животных более высокая встречаемость этих комплексных генотипов в линии Айдиала (38,7 %) и линиях Рокмэна, Соверинга (33,3-33,8%), соответственно.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

На основании проведённых исследований предлагается :

1. Лабораториям рекомендуем использовать апробированную технику генотипирования крупного рогатого скота по локусам генов *LTF* и *MBL1*.
2. Племенным скотоводческим хозяйствам с целью повышения молочной продуктивности и качества молока, а также снижения случаев маститов при отборе животных учитывать сочетания генотипов по локусам генов *LTF* и *MBL1*.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГОСТ – государственный стандарт

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота.

ед. – единиц

ЖКТ – желудочно – кишечный тракт

нг – нанограмм

СОМО – сухой обезжиренный молочный остаток

ПМК –молочно – контрольная пластина

п.н. - пар нуклеотид.

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

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

сек. – секунд

СХПК – сельскохозяйственный производственный комплекс

РТ – Республика Татарстан

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота (EDTA – *ethylenediaminetetraacetic acid*)

10x TBE буфер – трис – боратный буфер.

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

CaCl₂ - хлорид кальция

dNTPs – deoxynucleosidtriphosphates (дНТФ – дезоксинуклеозидтрифосфаты).

et. al. – и другие

LTF – лактоферрин

MBL - маннозосвязывающий лектин (англ. mannose binding lectin)

SNP – Single Nucleotide Polymorphism (полиморфизм единичных нуклеотидов).

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдессемед Д. Субклинический мастит у коров в послеродовой период (верификация диагноза и терапия): автореф. дис...канд. вет. наук. Абдессемед Даляя. Саратов. 2014. 19 с.
2. Авдеенко, В.С. Рекомендации по диагностики, терапии и профилактики мастита у коров / В.С. Авдеенко // Саратов, 2009. – 71 с.
3. Авдеенко, В.С. Новый подход к патогенезу и лечению заболеваний молочных желез у животных / В.С. Авдеенко // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г.А. Черемисова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер. 18–19 октября 2012. – Воронеж: Истоки, 2012. – С. 28–31.
4. Авдеенко, В.С. Лечение маститов у разных видов животных / В.С. Авдеенко, А.С. Рыхлов, И.Ю. Бибина // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. В.А. Акатова, Воронеж, 27–29 мая 2009. – Воронеж: Истоки, 2009. – С. 37–38.
5. Анюлис, Э. Изменение возбудителей субклинического мастита коров при лечении антимаститными препаратами / Э. Анюлис, С. Япертас, Ю. Рудеевене // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. В.А. Акатова, Воронеж, 27–29 мая 2009. – Воронеж: Истоки, 2009. – С. 49–53.
6. Арзуманян, Е.А. Животноводство / Е.А. Арзуманян, А.П. Бегучев, В.И. Георгиевский [и др.] // 4 изд. перераб. и допол. М.: Агропромиздат, 1991. – 512 с.
7. Арсеньев, Д.Д. Динамика физико-химических показателей сборного молока коров ярославской породы по месяцам года / Д.Д. Арсеньев, Е.А. Дмитриевская // Вестник АПК Верхневолжья. – 2010 – № 2. – С. 38.

8. Артеменко, А.П. Требования, предъявляемые к качеству сырого молока / А.П. Артеменко, А.А. Баранова, А.И. Харькова // Электронный научно-популярный журнал Novalinfo.ru. – 2016. – Т. 46. – С. 43-46.
9. Багманов, М.А. Этиологические факторы мастита / М.А. Багманов, Ю.Б. Никулина // Вестник РАСХН. – 2003. – № 2. – С. 75–76.
10. Балковой, И.И. Биологические принципы лечения электромагнитным полем УВЧ коров при маститах / И.И. Балковой, В.П. Иноземцев, А.Г. Самоделкин // Ветеринария. – 1993. – № 6. – С. 40–43.
11. Барабанщиков, Н.В. Молочное дело / М.: Агропромиздат, 1990. – 245 с.
12. Баркова, А.С. Ультразвуковое исследование молочной железы высокопродуктивных коров в норме и при патологии / А.С. Баркова, А.Г. Баранова, Ю.Г. Смирнов // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г.А. Черемисова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер., Воронеж, 18–19 октября 2012. – Воронеж: Истоки, 2012. – С. 88–91.
13. Баркова, А.С. Заболеваемость коров маститом и качество молока / А.С. Баркова, Е.И. Шурманова, А.Г. Баранова // Аграрный вестник Урала. – 2010. – № 11-2 (77). – С. 10-11.
14. Батраков, А.Я. Профилактика маститов на молочном комплексе / А.Я. Батраков, В.В. Токарев, А.Р. Костяков // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. В.А. Акатова, Воронеж, 27–29 мая 2009. – Воронеж: Истоки, 2009. – С. 58–60.
15. Баязитов, Т.Б. Генетические и негенетические факторы устойчивости коров к маститу / Т.Б. Баязитов, К.Н. Баязитов // Актуальные вопросы производства продукции животноводства и рыбоводства: Материалы международной научно-практической конференции 2-3 марта 2017 г. – Саратов: Саратовская ГАУ, 2017. – С. 34-40.

16. Белкин, Б.Л. Иммунобиологические показатели сыворотки крови и молока коров при заболевании маститом / Б.Л. Белкин, В.М. Юрков, Т.В. Попкова, А.М. Гуськов // Доклады Российской академии с.-х. наук. – 2002. – № 1. – С. 38-40.
17. Белкин, Б.Л. Мастит коров: Учебное пособие / Б.Л. Белкин, Л.А. Черепахина, Т.В. Попкова, Е.Н. Скребнева, В.Б. Андреев; под ред. Профессора Б.Л. Белкина. – Изд-во Орел ГАУ. – 2011. – 88 с.
18. Беляев, В.И. генетические и паратипические факторы акушерско-гинекологических патологий КРС / В.И. Беляев // Сборник трудов научно-практической конференции: «Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизводства животных». Воронеж, 2012. – С. 105-117.
19. Бименова, Ж.Ж. Определение аллелей генов LTF и GDF-9 у коров голштинской породы методом ПЦР-ПДРФ исследования / Ж.Ж. Бименова, Е.Б. Шакибаев // Материалы региональной студенческой научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию Победы в Великой Отечественной войне и 100-летию со Дня рождения А.А. Ежовского: Научные исследования студентов в решении актуальных проблем АПК (25-26 марта 2015 года). – С. 21-24.
20. Болгов, А.Е. Признаки здоровья в селекции молочного скота / А.Е. Болгов // Достижения в генетике, селекции и воспроизводстве сельскохозяйственных животных. Материалы междунаучной конф. Часть I. Санкт-Петербург, 9-11 июня, 2009 г. – С. 163-168.
21. Боженков, С.Е. Распространение и причины возникновения острого мастита у коров / С.Е. Боженков, Э.Н. Грига, О.Э. Грига // Ветеринарная патология. – 2013. – №1. – С. 5-7.
22. Боровков, М.Ф. Ветеринарно-санитарная экспертиза с основами технологии стандартизации продуктов животноводства / М.Ф. Боровков, В.П. Фролов, С.А. Серко // СПб, 2010. – 480 с.

23. Брылин, А.П. Программа по борьбе с маститами и улучшению качества молока / А.П. Брылин, А.В. Бойко // Ветеринария. – 2006. – № 5. – С. 9–11.
24. Бычкова, В.А. Влияние мастита на состав молока и пригодность для переработки / В.А. Бычкова, Ю.Г. Мануилова // Научное обеспечение развития АПК в современных условиях: материалы Всерос. науч.-практ. конф. (15-18 февр. 2011 г.). Ижевск, 2011. – Т. 2. – С. 113-117.
25. Валитова, А.А. влияние пробиотической добавит Ветоспорин-актив на состав и свойства молока и творога / А.А. Валитова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2004. – № 4. – С. 137-140.
26. Валюшкин, К.Д. Рекомендации по совершенствованию лечения и профилактики маститов у коров / К.Д. Валюшкин, С.Н. Ковальчук // Витебск, 2005. – 17 с.
27. Валюшкин, К.Д. Рекомендации по применению эффективных способов диагностики, лечению и профилактики маститов у коров / К.Д. Валюшкин, С.Н. Ковальчук, В.В. Петров // Витебск, 2005. – 38 с.
28. Васильев, В.В. Профилактика мастита у коров / В. В. Васильев // Ветеринария. – 2004. – № 11. – С. 37–39.
29. Васильев, В.Г. Факторы, обуславливающие возникновение мастита у коров / В.Г. Васильев // Ветеринария. – 1996. – №6. – С. 36-37.
30. Васильева, О.К. Влияние генетических и паратипических факторов на качественные признаки молочной продуктивности высокопродуктивных коров черно-пестрой породы / О.К. Васильева // Автореф. дисс. на соис. уч. степени канд. с-х. наук 06.02.01. – Санкт-Петербург, 2006. 20 с.
31. Володин, В.А. Использование нетрадиционных методов профилактики мастита у коров разного типа высшей нервной деятельности / В.А. Володин, М.А. Панин // Практик. – 2008. – № 1. – С. 34-39.
32. Волынкина, М.Г. Влияние заболевания маститом на молочную продуктивность коров в ОАО «Салехардагро» Ямало-Ненецкого Автономного

округа / М.Г. Волынкина // Наука и обозрение: Новое время. – 2014. – № 2. – С. 33-35.

33. Воскобойников, В.М. Маститы коров / В.М. Воскобойников // Минск: Ураджай, 1981. – 324 с.

34. Вязова, Л.М. Мероприятия по профилактике и лечению субклинического мастита коров для повышения качества молока: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 06.02.05 / Вязова Людмила Марковна. – Чебоксары, 2014. – 20 с.

35. Гаврин, А.Н. Этиологические факторы мастита у коров и его фитотерапия: автореф. диссер. на соискание уч. степени канд. ветерин. наук. Мичуринск. Наугоград. 2012. Гаврин Алексей Николаевич. 23 с.

36. Галиуллина, А.М. Технология и ветеринарно-санитарная экспертиза молока и молочных продуктов / А.М. Галиуллина, С.Г. Канарейкина // Уфа. БашГАУ, 2012. – 104 с.

37. Голынец, В.Г. Распространение маститов у коров / В.Г. Голынец // Актуальные проблемы патологии с.-х. животных. – 2006. – С. 461-462.

38. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов / К.К. Горбатова // СПб, 2001. – 320 с.

39. Горбатова, К.К. Химия и физика молока / К.К. Горбатова // СПб, 2004. – 320 с.

40. ГОСТ 23455-79 Препарат "Мастоприм". Технические условия (с Изменением N 1). Дата введения 1980-01-01

41. ГОСТ Р 52054-2003. Молоко коровье сырое. Технические условия (с Изменением N 1) Переиздание: сентябрь 2008 г.

42. ГОСТ Р 54077-2010 Молоко. Методы определения количества соматических клеток по изменению вязкости.

43. ГОСТ 32255-2013 Молоко и молочная продукция. Инструментальный экспресс-метод определения физико-химических показателей идентификации с применением инфракрасного анализатора.

44. Гуськова, Л.Д. Методы определения *staph. aureus* / Л.Д. Гуськова // Молочная промышленность. – 2002. – № 7. – С. 5-9.

45. Доденко, О.В. Влияние соматических клеток на липолитическую активность и качественные показатели сырого молока / О.В. Доденко, В.П. Вистовская // Известия Алтайского государственного университета. – 2013. – № 3 (79). – Т.1. – С. 61-65.
46. Ежкова, М.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза. Часть 2. Биологическая безопасность сырья и продуктов животного происхождения / М.С. Ежкова, В.О. Ежков, А.М. Ежкова // Учебное пособие. Казань. КНИТУ, 2013. – 188 с.
47. Ермашина, Е.В. Молочная продуктивность и технологические свойства молока коров черно-пестрой и айширской пород в зависимости от сезона отела: автореф. дис... доктора с/х наук. М. 2009. Ермашина Елена Викторовна. 112 с.
48. Желтиков, А.И., Макеева Г.В. Оценка коров черно-пестрой породы разного экогенеза по устойчивости к некоторым заболеваниям / А.И. Желтиков, Г.В. Макеева // Сб. науч. тр. НГАУ. Новосибирск, 1989. – С. 7-17.
49. Заболотнов, Л.А. Качество молока коров. Физико-химические и технологические свойства / Л.А. Заболотнов, С.Г. Кузнецов, И.А. Баранов // Эффективное животноводство. – 2012. - № 3. – С. 27-31.
50. Закопайло, В.А. Характеристика генетических факторов, влияющих на содержание соматических клеток в молоке коров / В.А. Закопайло // Автореф. дисс. на соиск. уч. степени канд. биологических наук 06.02.07. Москва. 2011. 19 с.
51. Зверева, Г.В. Профилактика мастита у коров в различные периоды функционального состояния вымени / Г.В. Зверева // Ветеринария. – 1979. – № 9. – С. 52-54.
52. Зверева, Т.В. Борьба с маститами коров / Т.В. Зверева // Актуальные проблемы ветеринарии в промышленном животноводстве. М.: 1999. – С. 15-17.
53. Зверева, Г.В. Профилактика мастита у коров в поточно-цеховой системе производства молока / Г.В. Зверева, В.Н. Олескив // VI Всероссийский Симпозиум по машин. доению с-х животных. – 1988. – Ч I. – С. 120-121.

54. Зиннатова Ф.Ф. Тестирование племенного крупного рогатого скота по ДНК-маркерам молочной продуктивности: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Казань. 2013. Зиннатова Фарида Фатиховна. 23 с.
55. Зиннатова Ф.Ф. Корреляция между основными признаками молочной продуктивности крупного рогатого скота в зависимости от генотипа / Ф.Ф. Зиннатова, Ф.Ф. Зиннатов, Ш.К. Шакиров // Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии. – 2016. – № 2. – С. 111-114.
56. Ивашура, А. О наследственной устойчивости коров к заболеванию маститом / А. Ивашура, В. Шмайлов // Молочное и мясное скотоводство. – 1989. – 2. – С. 22-24.
57. Ильинский, Е.В. О некоторых аспектах этиопатогенеза, лечения и профилактики мастита у коров / Е.В. Ильинский, С.В. Синилов // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., Воронеж, 5–7 октября 2005. – Воронеж: Европолиграфия, 2005. – С. 412–415.
58. Иноземцев, В.П. Квантовая терапия коров при метритах и маститах / В.П. Иноземцев, И.И. Балковой // Ветеринария. – 2000. – № 10. – С. 9–12.
59. Калмыкова, О.А. Влияние генетических и средовых факторов на заболеваемость маститом коров черно-пестрой породы: автореф. канд. с.-х. наук. М.: 1998. Калмыкова Ольга Алексеевна. 19 с.
60. Калмыкова, О.А. Технология доения и качества молока / О. Калмыкова, Т. Ананьева, И. Колпакова // Животноводство России. – 2011. – № 6. – С. 41-42.
61. Канеев, А.З. Оценка молочной продуктивности коров с учётом количества соматических клеток в молоке : дис. ... канд. с.-х. наук / А.З. Канеев. – пос. Быково, Моск. обл., 2002.
62. Карпенко, Ю.А. Распространение и причины возникновения острого мастита у коров / Карпенко Ю.А. [и др.] // Сборник научных трудов Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства. 2013. – Т. 2. – № 2 (1). – С. 221-224.

63. Карташова, В.М. Метод контроля молочных стад на заболеваемость маститом/ В.М. Карташова // Ветеринария. – 1993. – №8. – С. 39-41.
64. Карташова, В.М. Быстрые маститные тесты / В.М. Карташова // Ветеринария. – 1998. – № 5. – С. 32–33.
65. Карташова, В.М. Концепция программы борьбы с маститами коров / В.М. Карташова // Ветеринария. – 2001. – №6. – С. 42-45.
66. Карташова, О.Л. Диагностика скрытых форм мастита у коров / О.Л. Карташова, С.Б. Киргизова, Е.Ю. Исайкина // Ветеринария. – 2004. – № 10. – С. 32–35.
67. Климова, Е.Н. Состав и технологические свойства молока коров черно-пестрой породы в Московской области : автореф. дис. ... канд. с.-х. наук / Е.Н. Климова. - пос. Дубровицы, Моск. обл., 2000. 22 с.
68. Коба, И.С. Лечение мастита у коров без антибиотиков / И.С. Коба, М.Б. Решетка // Эффективное животноводство. – 2013. – №3 (89). – С. 22-23.
69. Колчина, А.Ф. Ветеринарные аспекты снижения соматических клеток в молоке коров / А.Ф. Колчина //Аграрный вестник Урала. – 2008. – № 11. – С. 40–41.
70. Конопельцев, И.Г. Воспаление вымени у коров : учебное пособие / И.Г.Конопельцев, В.Н. Шулятьев // Киров – Санкт-Петербург : ВГСА, 2010. – 353 с.
71. Копытин, В.К. Разработка системы мероприятий диагностики, профилактики лечения маститов у коров в Смоленской области / В.К. Копытин // Тр. X международного симпозиума по маш. доению с.-х. животных, первичной обработке переработке молока : Тез. докл. – Москва, 2002. – С. 245-248.
72. Корельская, Л.А. Влияние сезона года на содержание соматических клеток в молоке коров черно-пестрой породы при различных технологиях доения/ Л.А. Корельская, С.Ф. Сафаралиева, М.А. Фоменко, Е.В. Богатырева // Молочно-хозяйственный вестник. – 2016. – №2 (22). – С. 36-44.
73. Коренник, И.В. Производство качественного молока / И.В. Коренник // Ветеринария. – 2009. – № 3. – С. 8-11.

74. Коренник, И.В. Соматические клетки в молоке / И.В. Коренник // Ветеринария. – 2010. – № 6. – С. 10-13.
75. Королева, Н.С. Санитарная микробиология молока и молочных продуктов / Н.С. Королева, В.Ф. Семенихина // М.: Пищевая промышленность, 1980. – 256 с.
76. Коротков А.С. Влияние различных факторов на содержание соматических клеток в молоке коров: автореф. дис. ... канд. с/х наук . Коротков Алексей Сергеевич. М. 2004. 20 с.
77. Коротков, А.С. Влияние паратипических и генетических факторов на число соматических клеток в молоке здоровых коров / А.С. Коротков, Л.П. Табакова // Научное наследие П.Н. Кулешова и современное развитие зоотехнической науки и практики животноводства. – М. : Рос. гос. аграр. ун-т - Моск. с.-х. акад., 2006. – С. 102-107.
78. Красочко, П.А. Роль вирусов-возбудителей респираторных инфекций крупного рогатого скота в этиопатогенезе маститов / П.А. Красочко, О.Г. Новиков, С.М. Грибко // Международный аграрный журнал. – 2001. – № 3. – С. 34–35.
79. Кремянский, В.И. Генетические основы разведения крупного рогатого скота / В.И. Кремянский // Обзор иностр. лит. М.: 1965. – 199 с.
80. Крусъ, Г.Н. Методы исследования молока и молочных продуктов / Г.Н. Крусъ // М.: Колос, 2000. – 368 с.
81. Кузьмин, Г.Н. Эффективность новых антимикробных препаратов при лечении мастита у коров / Г.Н. Кузьмин // Сб. научные труды Воронежского сельскохозяйственного института. – Воронеж, 1990. – С. 49-54.
82. Кузмич, Р.Г. Проблемы акушерской и гинекологической патологии у коров в хозяйствах республики Беларусь и некоторые вопросы ее этиологии / Р.Г. Кузмич // Мат. Межд. науч. практ. конф. посвящ. 100-летию со дня рождения проф. В.А. Акатова. – Воронеж, 2009. – С.239-243.

83. Ларионов, Г.А. Ветеринарно-санитарная экспертиза молока и молочных продуктов / Г.А. Ларионов // Учебное пособие. Чебоксары. Чувашская ГСХА, 2016. – 160 с.

84. Ларионов, Г.А. Влияние обработки вымени коров на микробиологическую обсеменённость молока / Г.А. Ларионов, Н.И. Миловидова, Л.М. Вязова // Вестник ветеринарии. – 2012. – № 63. – С. 174–176.

85. Летунович, А.А. Морфологические и биохимические показатели молока в диагностике субклинического мастита у коров / А.А. Летунович, С.С. Абрамов // Ученые записки Витебской ордена «Знак Почета» государственной академии ветеринарной медицины. – 2007. – Ч. 2. – С. 179-181.

86. Липатова, О.А. Экономическая эффективность комплексных методов лечения коров, больных маститом / О.А. Липатова, Ю.Б. Никульшина // Материалы междунар. научно-практич. конференции. – Ульяновск, 2003. – Т. 2. – С. 39-41.

87. Логвинов, Д. Маститы и качество молока / Д. Логвинов // Молочное и мясное скотоводство. – 1992. – № 5/6. – С. 5–7.

88. Логинов, Д.Д. Болезни вымени коров / Д.Д. Логинов, С.Б. Солодовников, Д.Д. Логинов, С.Б. Солодовников // Урожай. – 1979. – 112 с.

89. Лукашенкова, Т.В. Устойчивость коров к маститу в условиях поточной технологии с учетом линейной принадлежности и типа нервной деятельности / Т.В. Лукашенкова, В.Г. Прокопьев // Международный научно-исследовательский журнал Сельскохозяйственные науки. – 2016. – №4. (46). – Ч. 6. – С. 54-56.

90. Лукьянченко, А.В. Некоторые вопросы этиологии мастита коров / А.В. Лукьянченко, А.В. Оршлет, Т.Б. Баязитов // Материалы Межвузовской студенческой конференции «Конституция Республики Казахстан – правовой феномен современности», посвященный 20-летию Конституции Республики Казахстан – 2015. – С. 255-258. – URL: <http://repository.nkzu.kz/id/eprint/5169>

91. Любимов, А.И. Качество молока, производимого в Удмурдской Республике и пути его повышения в соответствие с требованиями ФЗ

«Технический регламент на молоко и молочную продукцию» / А.И. Любимов, В.И. Бычкова, О.С. Уткина // Научное обеспечение инновационного развития животноводства: матер. междунар. науч.-практ. конф. посвящ. 60-летию ректора ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА д-ра с.-х. наук проф. А.И. Любимова. – ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА. – Ижевск, 2010. – С. 78-83.

92. Лях, В.Я. Качество молока / В.Я. Лях, В.Д. Харитонов, Т.Н. Садовая, Н.Р. Шоков, Е.В. Шепелева // Справочник для работников лабораторий зоотехников молочно-товарных ферм и работников молокоперерабатывающих предприятий. – Санкт-Петербург : Гиорд, 2008. – С. 28-32.

93. Мамедли, А.Т. Усовершенствование методов диагностики скрытого мастита и меры борьбы с ним / А.Т. Мамедли // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. В.А. Акатова, Воронеж, 27–29 мая 2009. – Воронеж : Истоки, 2009. – С. 268–271.

94. Мануилова, Ю.Г. Состав и свойства молока коров холмогорской породы в разные периоды лактации и при заболевании маститом: автореф. дис... канд. с.-х. наук. М.: 2016. Мануилова Юлия Геннадьевна. 23 с.

95. Межевикина, А.С. Фармако-токсикологические свойства и эффективность применения пробиотика ЗИМУН-14.40 при субклиническом мастите у коров: дис...канд.вет. наук.Троицк.2006. Межевикина Анна Сергеевна. С. 142.

96. Меркурьева, Е.К. Биометрия в животноводстве / Е.К. Меркурьева // М.: Колос, 1977. – 311 с.

97. Мисайлов, В.Д. Методические рекомендации по диагностике, терапии и профилактике субклинического мастита у коров в сухостойный период / В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов, В.А. Париков // ГНУ «Всероссийский НИВИ патологии, фармакологии и терапии», ГНУ «Всероссийский НИИ ветеринарной санитарии, гигиены и экологии». – Воронеж, 2005. – 11 с.

98. Мугинова, А.Х. Влияние различных форм мастита на физико-химические показатели молока / А.Х. Мугинова, А.М. Галиуллина // VIII

Международная студенческая электронная научная конференция «Студенческий научный форум 2016». – URL: <http://www.scienceforum.ru/2016/pdf/23894.pdf>

99. Недерева, О.Н. Диагностика и лечение маститов коров / О.Н. Недерева // Ветеринарное дело. – Минск, 2014. – № 6. – С. 32-33.

100. Некрасов, Г.Д. Акушерство, гинекология и биотехника воспроизводства животных: учебное пособие / Г.Д. Некрасов, И.А. Суманова // Барнаул: Изд-во АГАУ. – 2007. – 204 с.

101. Нечаев, А.П. Пищевая химия / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Качеткова // СПб, 2007. – 640 с.

102. Новиков, А.В. Наследственный потенциал быков-производителей Среднего Урала / А.В. Новиков // Аграрный Вестник Урала. – 2015. – № 10 (140). – С. 40-44.

103. Осколкова, М.В. Этиология мастита и его взаимосвязь с генетическими заболеваниями крупного рогатого скота / М.В. Осколкова, Э.В. Кузьмина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2014. – № 4 (48). – С. 86-88.

104. Охрименко, О.В. Лабораторный практикум по химии и физике молока / О.В. Охрименко, К.К. Горбатова, А.В. Охрименко // СПб.: ГИОРД, 2005. – 256 с.

105. Павленко О.Б. Морфология клеточного состава секрета молочных желез коров / О.Б. Павленко // Ветеринарная патология. – 2013. – № 2 (44). – С. 40-42.

106. Париков, В.А. Итоги и перспективы исследований по борьбе с маститом коров (этиология, диагностика, профилактика и терапия) / В.А. Париков // Теоретические и практич. аспекты возникновения и развития болезней животных и защита их здоровья в современных условиях : Матер. Междунар. конф. – Воронеж, 2000. – Т. 1. – С. 197-202.

107. Першин, С.С. Требования технического регламента на молоко и значение профилактики болезней молочной железы у коров в его выполнении / С.С. Першин, Н.И. Шумский, Н.Т. Климов // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы

Междунар. науч.–практ. конф., посвящ. 100–летию со дня рождения проф. В.А. Акатова.– Воронеж: Истоки, 2009. – С. 421–423.

108. Пешук, Л.В. Влияние генотипа и других факторов на заболеваемость коров маститом / Л.В. Пешук // Молоч. и мясн. скотоводство. – 1999. – № 5. – С. 17.

109. Полянцев, Н.И. Лечение субклинического мастита / Н.И. Полянцев // Ветеринария. – 1997. – № 12. – С. 37–39.

110. Попов, Л.К. Генотипические аспекты мастита у коров и его фитотерапия : Автореф. дис. д-ра вет. наук / Всерос. н.-и. вет. ин-т патологии, фармакологии и терапии // Воронеж. 1998. 44 с.

111. Попов, Л.К. Влияние скрытого мастита на молочную продуктивность коров разных генотипов / Л.К. Попов, Ю.Л. Попов, А.Ф. Федюшкин // Материалы Междунар. конф., посвящ. 30-летию ВНИВИ патологии, фармакологии и терапии; Мичуринский гос. аграрный университет. – Воронеж, 2000. – 206 с.

112. Притыкин, Н.В. Субклинический мастит у коров в сухостойный период, его профилактика и терапия с использованием фурадина : автореф. дис. ... канд. вет. наук : 16.00.07 / Н.В. Притыкин. Воронеж, 2003. 20 с.

113. Прошин, С.Н. Исследование полиморфизма генов LTF и GDF-9 у млекопитающих (*Bos Taurus L*) методом ПЦР-ПДРФ анализа для решения задач фармакогенетики / С.Н. Прошин, Е.С. Усенбеков, Е.Ш. Шакибаев [и др.] // Санкт-Петербург, 2015. – Т.6. –№ 2. – С. 55-58.

114. Распоряжение (ec) № 853/2004 европейского парламента и совета от 29 апреля 2004 г. устанавливающее особые правила, касающиеся гигиены применительно к продовольственным продуктам животного происхождения Европейский парламент и совет европейского союза.

115. Решетка, М.Б. Распространение мастита у коров и разработка средств профилактики мастита в период сухостоя / М.Б. Решетка // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского гос. агро. университета. – 2013. – № 88 (04). – С. 898-912.

116. Решетников, О.В. Резервы повышения ресурсов отрасли молочного скотоводства в Северо-Западном регионе / О.В. Решетников // Сб.: II Лужские научные чтения. Современные научное знание: теория и практика. Матер. междунар. науч.-практич. конф. – 2014. – С. 91-96.

117. Родионов, Г.В. Практикум по технологии производства и переработки животноводческой продукции / Г.В. Родионов, А.В. Овчиников, Ю.А. Юлдашбаев, Л.П. Табакова [и др.] // М.: 2012. – 307 с.

118. Роман, Л.Г. Патогенетические механизмы и диагностикотерапевтический алгоритм контроля постлактационного мастита у коров: автореф. дис. ... д-ра вет. наук / Л.Г. Роман. Новочеркасск. 2011. 47 с.

119. Рубцов, В.И. Предрасполагающие и непосредственные причины, вызывающие заболевание молочной железы у коров (Возникновение мастита при доении коров аппаратами марки ДА-2 и "Майга") / В.И. Рубцов // Докл. ТСХА Моск. с.-х. акад. им. К.А. Тимирязева, 2001. – Вып. 273. – Ч. 2. – С. 26-29.

120. Рузанова, Н.Г. Хозяйственные и биологические качества швицкостромских коров-первотелок разной кровности по бурой швицкой породе американской селекции / Автореф. дис...канд. с.-х. наук// Моск. с.-х. академия им. К.А. Тимирязева. М., 1995. 18 с.

121. Савельев, А.А. Факторы, влияющие на качество и безопасность сыров / А.А. Савельев М.Ю. Сорокин, Л.К. Шнейдер, А.Т. Крышин, С.А. Савельев, В.П. Дмитриева // Сыроделие и маслоделие. – 2003. – № 1. – С.11.

122. Сафиуллов, Р.Н. Влияние сезона года на заболеваемость коров маститом / Р.Н. Сафиуллов, М.А. Багманов, Р.К. Шаев // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных : материалы Международ. научно-практич. конференции. – Воронеж, 2009. – С. 319-321.

123. Свириденко, Г.М. Маститы крупного рогатого скота / Г.М. Свириденко, Е.Г. Симова // Молочная промышленность. – 2003. – № 10. – С. 18-20.

124. Свириденко, Г.М. Стандарты определения соматических клеток молока / Г.М. Свириденко // Переработка молока. – 2014. – № 3. – С. 6–10.
125. Свиридова, А.П. Молочная продуктивность коров при использовании пробиотической кормовой добавки ДКМ-С / А.П. Свиридова, О.Н. Воронис, С.Л. Поплавская // Современные технологии сельскохозяйственного производства : сборник научных статей по материалам XIX Международной научно-практической конференции (Гродно, 19, 13 мая 2016 г.). – УО "ГГАУ". – Гродно, 2016. – [Вып.] : Ветеринария. Зоотехния. – С. 94-96.
126. Сенченко, Б.С. Ветеринарно-санитарная экспертиза продуктов животного и растительного происхождения / Б.С. Сенченко // Ростов-на-Дону.: 2001. – 704 с.
127. Серопян, Г.Б. Диагностика и лечение скрытого мастита у коров / Г.Б. Серопян, В.А. Хачатрян // Ветеринария. – 2005. – № 10. – 36 с.
128. Сиротина, В.Ю. Показатели воспроизводства у коров айрширской породы при акушерско-гинекологических заболеваниях и при мастите: автореф. дис. ... канд. биол. наук / Валерия Юрьевна Сиротина. – СПб., 2005. 22 с.
129. Скребнева, Е.Н. Межлинейные различия заболеваемости маститом коров черно-пестрой породы / Е.Н. Скребнева // Матер. науч.-практич. конференц., посвящ. 150-летию ветеринарной службы Оренбуржья: «Актуальные проблемы ветеринарной медицины и биологии». – Оренбург, 2003. – С. 141.
130. Солдатов, А.П. Изменение активности некоторых ферментов при мастите коров / А. П. Солдатов, Н. И. Дубинская, В. Н. Остроухова // Докл. ВАСХНИЛ. – М., 1991. – № 7. – С. 39–41.
131. Ставикова, М. Методические рекомендации по контролю числа соматических клеток в молоке при селекции на устойчивость к маститу и качеству молока / М. Ставикова, Л. Ллойда // ВНИИ разведения и генетики с.-х. животных. – 1990. – 32 с.
132. Студенцов, А.П. Ветеринарное акушерство и гинекология / А.П. Студенцов / М.: Колос, 1986. – 480 с.

133. Студенцов, А.П. Ветеринарное акушерство, гинекология и биотехника размножения / А.П. Студенцов, В.С. Шипилов, В.Я. Никитин, М.Г. Миролубов, О.Н. Преображенский, В.В. Хромцов // М.: Колос, 1999. – 473 с.
134. Твердохлеб, Г.В. Технология молока и молочных продуктов / Г.В. Твердохлеб, Г.Ю. Сажинов, Р.И. Раманаускас // М.: ДелиПринт. – 2006. – 616 с.
135. Технический регламент на молоко и молочную продукцию: Федеральный закон № 88-ФЗ. 2008.
136. Тюлькин, С.В. Хозяйственно-полезные признаки холмогор и голштинских помесей разного происхождения : дис. ... канд. с.-х. наук : 06.02.01 / Тюлькин Сергей Владимирович. Казань, 2006. 134 с.
137. Тюлькин, С.В. Полиморфизм гена лактоферрин у быков-производителей в Республике Татарстан / Тюлькин С.В., Муратова А.В., Хатыпов И.И., Загидуллин Л.Р. [и др.] // Журнал Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2015. – №4 (28). – С. 7-10.
138. Хазипов, Н.Н. Рекомендации по воспроизводству стад и патологии молочной железы / Н.Н. Хазипов, Б.В. Камалов, И.Р. Закиров // Методические рекомендации. – Казань, 2012. – 45 с.
139. Харута, Г.Г. Эффективность разных методов лечения коров при заболевании субклиническим маститом / Г.Г. Харута, В. Лотоцкий // Ветеринарная медицина. – 2004. – № 11. – 31 с.
140. Шайхаматов, М.Х. Никитин И.Н., Воскобойник В.Ф. Организация и экономика ветеринарного дела. – 3-е издание перераб. и допол. М.: Колос, 1996. – С. 135-176.
141. Шакиров Ш.К. Животноводство: 200 вопросов и ответов: справочник / Ш.К. Шакиров, Ф.С. Гибадуллина, Н.Н. Хазипов, И.Р. Закиров [и др.] // Казань, 2014. – 180 с.
142. Шахов, А.Г. Неотложные нужды и задачи профилактики мастита у коров / А.Г. Шахов, В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов, В.А. Париков, Н.В. Притыкин, В.И.Слободяник // Ветеринария. – 2005. – № 8. – С. 3-7.

143. Шидловская, В.П. Органолептические свойства молока и молочных продуктов. Справочник / В.П. Шидловская // М.: Колос, 2004. – 360 с.
144. Шипилов, В.С. Профилактика болезней молочной железы у коров первотелок / В.С. Шипилов, В.П. Копытин // Молочное и мясное скотоводство. – 1988. – №2. – С. 56-61.
145. Юрсова, А.В. Ветеринарно-санитарная оценка качества и безопасности молока коров при использовании многокомпонентной фитокормовой добавки: дис. ... кандидата биологических наук. Юрсова Анастасия Владимировна. 2015 г. Москва, 179 с.
146. Abebe, R. Bovin mastitis: prevalence risk factors and isolation of staphylococcus aureus in dairy herds at Hawassa milk shed, south Ethiopia / R. Abebe, H. Hatiya, M. Abera, B. Megersa, K. Asmare // BMC Veterinary Research. – 2016. – V. 12. – P. 234-239.
147. Adlerova, L. Lactoferrin: a review / L. Adlerova, A. Bartoskova, M. Faldyna // Vet. Med. – 2008. – V. 53. – P. 457-68.
148. Agah, A. Isolation, cloning and functional characterization of porcine mannose-binding lectin / A. Agah, M.C. Montalto, K. Young, G.L. Stahl // Immunology. – 2001. – V. 102. – P. 338–343.
149. Ashwell, M.S. Detection of loci affecting milk production and health traits in an elite US Holstein population using microsatellite markers / M.S. Ashwell, C.E. Rexroad, R.H. Miller, P.M. Van Raden, Y. Da // Animal Genetics. – 1997. – V. 28. – P. 216-222.
150. Auldish, M.J. Changes in the composition of milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle / M.J. Auldish, S. Coats, G.L. Rogers, G.H. McDowell // Australian Journal of Experimental Agriculture. – 1995. – V. 35. – P. 427-436.
151. Baker, E.N. Molecular structure, binding properties, and dynamics of lactoferrin / E.N. Baker, H.M. Baker // Cellular and Molecular Life Sciences. – 2005. – V. 62. – P. 2531-2539.

152. Bargeloh, J.F. Relationship of mastitis and urea in rations as measured by milk and blood constituents / J.F. Bargeloh, R.O. Thomas // *West Virginia Agriculture and Forestry*. – 1976. – V.6. – N. 3. – P. 5-7.
153. Barkema, H.W. Incidence of clinical mastitis in dairy herds grouped in three categories by bulk milk somatic cell counts / H.W. Barkema, Y.H. Schukken, T.J. Lam, M.L. Beiboer, H. Wilmink, G. Benedictus, A. Brand // *J. Dairy. Sci.* – 1998 –V. 81. – N. 2. – P. 411-419.
154. Beaudéau, F. Risk of clinical mastitis in dairy herds with a high proportion of low individual milk somatic-cell counts / F. Beaudéau, C. Fourichon, H. Seegers, N. Bareille // *Preventative Veterinary Medicine*. – 2007. – V. 69. – P. 63-74.
155. Beaudéau, F. Risk of clinical mastitis in dairy herds with a high proportion of low individual milk somatic cell counts / F. Beaudéau, C. Fourichon, H. Seegers, N. Bareille // *Preventive Veterinary Medicine*. – 2002. – Vol. 53. – P. 43–54.
156. Bellamy, W. Killing of candida albicans by lactoferricin B, a potent antimicrobial peptide derived from the Nterminal region of bovine lactoferrin / W. Bellamy, H. Wakabayashi, M. Takase, K. Kawase, S. Shimamura, M. Tomita // *Med. Microbiol. Immunol. (Berl)*. – 1993. – V. 182. – P. 97-105.
157. Berkhout, B. The antiviral activity of the milk protein lactoferrin against the human immunodeficiency virus type 1 / B. Berkhout, R. Floris, I. Recio, S. Visser // *Biometals*. – 2004. – V. 17. – P. 291-294.
158. Berry, D.P. Association among body condition score, body weight, somatic cell count, and clinical mastitis in seasonally calving dairy cattle / D.P. Berry, J.M. Lee, K.A. Macdonald, K. Stafford, L. Matthews, J.R. Roche // *Journal of Dairy Science*. – 2007. – V. 90. – P. 637-648.
159. Blowey, R. *Mastitis Control in Dairy Herds*, 2nd Edition / R. Blowey, P. Edmondson // CAB International, UK. – 2010. – 274 p.
160. Bouwman, L.H. Mannose binding lectin: The Dr. Jekyll and Mr. Hyde of the innate immune system / L.H. Bouwman // Thesis. In: Department of surgery, Leiden University. – Leiden, 2006. – P. 153.

161. Brade, W. Eutergesundheit, somatischer Zellgehalt und Milchqualität / W. Brade // Tierarztl. Umsch. – 2001. – V. 56. – N. 9. – P. 470-476.
162. Bradley, A.J. Bovine mastitis: an evolving disease / A.J. Bradley // Vet. J. – 2002. – V. 164. – P. 116–128.
163. Bradley, A.J. Aetiology of clinical mastitis in six Somerset dairy herds / A.J. Bradley, M.J. Green // Veterinary Record. – 2001. – V. 148. – P. 683-686.
164. Bramley, A.J. The microbiology of raw milk / A.J. Bramley, C.H. McKinnon // Dairy Microbiology. – 1990. – V. 1. – P. 212-220.
165. Bruckmaier, R.M. Fractionized milk composition in dairy cows with subclinical mastitis / R.M. Bruckmaier R.M., C.E. O., J.W. Blum // Veterinary medicine. – Czech, 2004. – V. 8. – P. 283-290.
166. Cao, L.T. Efficacy of Nisin Treatment of Clinical Mastitis in Lactating Dairy Cows / L.T. Cao, J.Q. Wu, F. Xie, S.H. Hu [et al.] // Journal of Dairy Science. – 2007. – V. 90. – P. 3980-3985.
167. Capparelli, R. Role played by human mannose-binding lectin polymorphisms in pulmonary tuberculosis / R. Capparelli, M. Iannaccone, D. Palumbo, C. Medaglia, E. Moscariello, A. Russo, D. Iannelli // J. Infect. Dis. – 2009. – V. 199. N. 5. – P. 666–672.
168. Carlén, E. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, and Production in the First Three Lactations of Swedish Holstein Cows / E. Carlén, E. Strandberg, A. Roth // Journal of Dairy Science. – 2004. – V. 87. – N. 9. – P. 3062-3070.
169. Carlsson, A. Lactoferrin and lysozyme in milk during acute mastitis and their inhibitory effect in Delvotest / A. Carlsson, L. Bjorck, K. Persson // Journal of Dairy Science. – 1989. – V. 72. – P. 3166–3175.
170. Chaneton, L. Relationship between milk lactoferrin and etiological agent in the mastitic bovine mammary gland / L. Chaneton, L. Tirante, J. Maito, J. Chaves, L.E. Bussmann // J. Dairy Sci. – 2008. – V. 91. – N. 5. – P. 1865-1873.

171. Cheville, N.F. Ultrastructure of Prototheca-Zopfii in Bovine Granulomatous Mastitis / N.F. Cheville, J. McDonald, J. Richard // *Veterinary Pathology*. – 1984. – V. 21. – P. 341-348.
172. Crouch, S.P. Regulation of cytokine release from mononuclear cells by the iron-binding protein lactoferrin / S.P. Crouch, K.J. Slater, J. Fletcher // *Blood*. – 1992. – V. 80. – P. 235-240.
173. Daly, M. Polymorphisms within the lactoferrin gene promoter in various cattle breeds / M. Daly, P. Ross, L. Giblin, F. Buckley // *Anim. Biotechnol.* 2006. – V. 17. – N. 1. – P. 33-42.
174. De Meerschman, F. Longitudinal analysis of milk somatic cell counts: a case study / F. De Meerschman, F. Lemarchand // *European Buiatrics forum*. – Marseille, 2013. – P. 77.
175. Detilleux, J.C. Genetic factors affecting susceptibility of dairy cows to udder pathogens / J.C. Detilleux // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. – 2002. – V. 88. – P. 103-110.
176. Dommett, R.M. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future / R.M. Dommett, N. Klein, M.W. Turner // *Tissue Antigens*. – 2006. – V. 68. – P. 193.
177. Eisen, D.P. Impact of mannose-binding lectin on susceptibility to infectious diseases / D.P. Eisen, R.M. Minchinton R.M. // *J. Infect. Dis.* – 2003. – V. 37. – P. 1496-1505.
178. Elbers, A.R.W. Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of the Netherlands / A.R.W. Elbers, J.D. Miltenburg, D. De Lange, A.P.P. Crauwels, H.W. Barkema, Y.H. Schukken // *Journal of Dairy Science*. – 1998 – V. 81. – P. 420-426.
179. Ellison, R.T. Damage of the outer membrane of enteric gram-negative bacteria by lactoferrin and transferrin / R.T. Ellison, T.J. Giehl, F.M. LaForce // *Infect. Immun.* – 1988. – V. 56. – P. 2774-2781.
180. Elsik, C.G. The Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium. The Genome Sequence of Taurine Cattle: A Window to Ruminant Biology and

Evolution / C.G. Elsik, R.L. Tellam, K.C. Worley // *Science*. – 2009. – V. 324. – N. 5926. – P. 522-528.

181. Emanuelson, U. Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Counts, and Milk Production Estimated by Multiple-Trait Restricted-Maximum Likelihood / U. Emanuelson, B. Danell, J. Philipsson // *Journal of Dairy Science*. – 1988. – V. 71. – N. 2. – P. 467-476.

182. Fang, W. Identification of lactoferrinbinding proteins in bovine mastitis-causing *Streptococcus uberis* / W. Fang, S.P. Oliver // *FEMS Microbiology Letters*. – 1999. – V. 176. – P. 91-96.

183. Fonseca, I. Expression profile of genes associated with mastitis in dairy cattle / I. Fonseca, P.V. Silva, C.C. Lange, M.F.M. Guimarães, M.A. Weller, K.S. Sousa, P.S. Lopes, J.D. Guimarães, S.F. Guimarães // *Genet. Mol. Biol.* – 2009. – V. 32. – P. 776-781.

184. Frederiksen, P.D. Quantification of mannan-binding lectin / P.D. Frederiksen, S. Thiel, L. Jensen, A.G. Hansen, F. Matthiesen, J.C. Jensenius // *J. Immunol. Methods*. – 2006. – V. 315. – N. 1-2. – P. 49-60.

185. Garred, P. Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis / P. Garred, T. Pressler, H.O. Madsen et al. // *J. Clin. Invest.* – 1999. – V. 104. – P. 431.

186. Gjerstorff, M. The genes encoding bovine SP-A, SP-D, MBL-A, conglutinin, CL-43 and CL-46 form a distinct collectin locus on *Bos taurus* chromosome 28 (BTA28) at position q.1.8–1.9 / M. Gjerstorff, S. Hansen, B. Jensen, B. Dueholm, P. Horn, C. Bendixen, U. Holmskov // *Anim. Genet.* – 2004. – V. 35. – N. 4. – P. 333-337.

187. Goodman, R.E. Bovine lactoferrin mRNA: Sequence, analysis, and expression in the mammary gland / R.E. Goodman, F.L. Schanbacher // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1991. – V. 180. – P. 75-84.

188. Guariglia, B.A.D. Effect of the somatic cell count on physicochemical components of milk from crossbred cows / B.A.D. Guariglia, A.D. Santos, P.A. Araujo, [et.al] // *African Journal Biotechnology*. – 2015. – V. 14. – N. 17. – P. 1519-1524.

189. Guidry, A.J. Mastitis and the immune system of the mammary gland. In: Lactation. Larson, B.L. (eds). / A.J. Guidry // The Iowa State University Press. – Ames, Iowa, USA. – 2007. – P. 229-262.
190. Gürsel, F.E. EcoRI Polymorphism in Intron 6 of the Bovine Lactoferrin Gene in South Anatolian Red and East Anatolian Red Cattle Breeds / F.E. Gürsel, I.A. Atila, H.Y. Ateş, G.T. Hoştürk1, K. Öztabak // J. Fac. Vet. Med. Istanbul Univ. – 2013. – V. 39. – N. 2. – P. 183-188.
191. Halasa, T. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review / T. Halasa, K. Huijps, O. Osteras, H. Hogeveen // Veterinary Questions and Answers. – 2007. – Vol. 29. – P. 18–31.
192. Halasa, T. Production loss due to new subclinical mastitis in Dutch dairy cows estimated with a test–day model / T. Halasa, M. Nielen, A.P. W. de Roos, R. van Hoorne, G. de Jong, T. Lam, T. van Werven, H. Hogeveen // Journal of Dairy Science. – 2009. – Vol. 92. – P. 599–606.
193. Hand, K.J. Bulk milk comatic cell penalties in herds enrolled in Dairy Herd Improvement programs / K.J. Hand // Journal Dairy Science. – 2012. – V. 95. – P. 1343-1348.
194. Harmon, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts / R.J. Harmon / Journal of Dairy Science. – 1994. – V. 77. – N. 7. – P. 2103-2112.
195. Harmsen, M.C. Antiviral effects of plasma and milk proteins: Lactoferrin shows potent activity against both human immunodeficiency virus and human cytomegalovirus replication in vitro / M.C. Harmsen, P.J. Swart, M.P. de Bethune, R. Pauwels, E. De Clercq, T.H. The, D.K. Meijer // J. Infect. Dis. – 1995. – V. 172. – P. 380-388.
196. Heringstad, B. Selection for mastitis resistance in dairy cattle: a review with focus on the situation in the Nordic countries / B. Heringstad, G. Klemetsdal, J. Ruane // Livestock Production Science. – 2000. – V. 64. – P. 95-106.
197. Heeschen, W. Cell count and milk quality / W. Heeschen // Intern. dairy federation. Annu. sessions in the Hague. – 1986. - P. 1.

198. Hirvonen, J. Acute phase response in dairy cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis / J. Hirvonen, K. Eklund, A.M. Teppo, G. Huszenicza, M. Kulcsar, H. Saloniemi, S. Pyorala // *Acta Veterinaria Scandinavia*. – 1999. – V. 40. – P. 35-46.
199. Holdaway, R.J. A comparison of methods for the diagnosis of bovine subclinical mastitis within New Zealand dairy herds / R.J. Holdaway // Thesis (Ph. D.). – Massey University. – 1990.
200. Holmskov, U. Collectins and ficolins: Humoral lectins of the innate immune defense / U. Holmskov, S. Thiel, J.C. Jensenius // *Annu. Rev. Immunol.* – 2003. – V. 21. – P. 547-578.
201. Ip, W.K. Serum mannose-binding lectin levels and *mb12* gene polymorphisms in different age and gender groups of southern Chinese adults / W.K. Ip, Y.F. To, S.K. Cheng, Y.L. Lau // *Scand. J. Immunol.* – 2004. – V. 59. – P. 310.
202. Jánosi, S. Review of the microbiological, pathological, and clinical aspects of bovine mastitis caused by the alga *Prototheca zopfii* / S. Jánosi, F. Rátz, G. Szigeti // *Veterinary Journal*. – 2001. – Vol. 23. – P. 58–61.
203. Javanmard, A. The allele and genotype frequencies of bovine pituitary-specific transcription factor and leptin genes in Iranian cattle and buffalo populations using PCR-RFLP / A. Javanmard, N. Asadazadeh., M.H. Banabazi, J. Tavakolian // *Irianian. J. Biotechnol.* – 2005. – V. 3. – P. 104-108.
204. Karakolev, R. Experiments on immune prevention of mastitis in cows. Pt 1. Cytological studies / R. Karakolev, F. Filev // *Med.weter.* – 2008. – V. 12. – N. 3-4. – P. 28-31.
205. Kawai, K. Lactoferrin concentration in milk of bovine clinical mastitis / K. Kawai, S. Hagiwara, A. Anri, H. Nagahata // *Veterinary Research Communications*. – 1999. – V. 23. – P. 391-398.
206. Kawasaki, N. Isolation and characterization of a mannan-binding protein from human serum / N. Kawasaki, T. Kawasaki, I. Yamashina // *J. Biochem.* – 1983. – V. 94. – P. 937-947.

207. Kanyshkova, T.G. Lactoferrin and its biological functions / T.G. Kanyshkova, V.N. Buneva, G.A. Nevinsky // *Biochemistry*. – 2001. – V. 66. – P. 1-7.
208. Kehrli, M.E.Jr. Factors Affecting Milk Somatic Cells and Their Role in Health of the Bovine Mammary Gland / M.E.Jr. Kehrli, D.E. Shuster, D.E // *Journal of Dairy Science*. – 1994. – V. 77. – N. 2. – P. 619-627.
209. Kelm, S.C. Genetic control of disease resistance and immunoresponsiveness / S.C. Kelm, A.E. Freeman, M.E.Jr. Kehrli // *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* – 2001. – V. 17. – P. 477-493.
210. Kilpatrick, D.C. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity / D.C. Kilpatrick // *Transfus Med.* – 2002. – V. 12. – P. 335-352.
211. Klastrup, N. Bovine mastitis. Definition and guidelines for diagnosis / N. Klastrup // *Kiel. Mitchwirt. Forschungsber.* – 2002. – V. 37. – N. 3. – P. 254-260.
212. Klungland, H. Quantitative trait loci affecting clinical mastitis and somatic cell count in dairy cattle / H. Klungland, A. Sabry, B. Heringstad, H.G. Olsen, L. Gomez Raya, D.I. Vage, I. Olsaker, J. Odegard, G. Klemetsdal, N. Schulman, J. Vilkki, J. Ruane, M. Aasland, K. Ronningen, S. Lien // *Mammalian Genome*. – 2001. – V. 12. – P. 837-842.
213. Kivaria, F.M. Epidemiological studies on bovine mastitis in smallholder dairy herds in the Dar es Salaam Region, Tanzania / F.M. Kivaria // *Doctoral thesis, Utrecht University, The Netherlands, 2006.* – 163 p.
214. Kuiper, D. Social factors related to mastitis control practices: The role of dairy farmers' knowledge, attitude, values, behaviour and networks / D. Kuiper, J. Jansen, R.J. Renes, C. Leeuwis, H.G. van der Zwaag // *4th IDF Int. Mastitis Conference.* – Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, 2005. – P. 576–582.
215. Kutila, T. Role of lactoferrin in treatment of bovine mastitis / T. Kutila // *Published Doctoral Dissertation, University of Helsinki, Finland, 2004.* – 57 p.
216. Legrand, D. Lactoferrin and host defence: an overview of its immunomodulating and anti-inflammatory properties / D. Legrand, E. Ellass, A. Pierce, J. Mazurier // *Biometals*. – 2004. – V. 17. – P. 225-229.

217. Lillie, B.N. Comparative genetics and innate immune functions of collagenous lectins in animals / B.N. Lillie, A.S. Brooks, N.D. Keirstead, M.A. Hayes // *Vet. Immunol. Immunopathol.* – 2005. – V. 108. – P. 97-110.

218. Lillie, B.N. Single-nucleotide polymorphisms in porcine mannan-binding lectin A / B.N. Lillie, N.D. Keirstead, E.J. Squires, M.A. Hayes // *Immunogenetics.* – 2006. – V. 58. – P. 983-993.

219. Lillie, B.N. Gene polymorphisms associated with reduced hepatic expression of porcine mannan-binding lectin C / B.N. Lillie, N.D. Keirstead, E.J. Squires, M.A. Hayes // *Dev. Comp. Immunol.* – 2007. – V. 31. – P. 830-846.

220. Liu, J. Mannose-binding lectin 1 haplotypes influence serum MBL-A concentration, complement activity, and milk production traits in Chinese Holstein cattle / J. Liu, Z. Ju, Q. Li, J. Huang [et.al.] // *Immunogenetics.* – 2011. – V. 63. – N. 11. – P. 727-742.

221. Lohuis, J.A.C.M. Effect of lactoferrin and cephalosporin, alone and in combination on growth of *E. coli* strains from mastitis / J.A.C.M. Lohuis, S.M. Hensen, H. Beers // *3rd Int. Mast. Sem. Proc.* – 1995. – V. 2. – P. 110-111.

222. Lonnerdal, B. Lactoferrin: molecular structure and biological function / B. Lonnerdal, S. Lyer // *Ann. Rev. Nutr.* – 1995. – V. 15. – P. 93-110.

223. Lopez-Villalobos, N. Estimation of genetic and crossbreeding parameters for clinical mastitis, somatic cell score and daily yields of milk, fat and protein in New Zealand dairy cattle / N. Lopez-Villalobos, R.J. Spelman // *Proceedings of the 9th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Leipzig, Germany, 1-6 Aug 2010, Communication № 0534.*

224. Lupetti, A. Candidacidal activities of human lactoferrin peptides derived from the N terminus / A. Lupetti, A. Paulusma-Annema, M.M. Welling, S. Senesi, J.T. van Dissel, P.H. Nibbering // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2000. – V. 44. – P. 3257-3263.

225. Madsen, H.O. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein / H.O. Madsen, P. Garred, J.A.

Kurtzhals, L.U. Lamm, L.P. Ryder, S. Thiel, A. Svejgaard // *Immunogenetics*. – 1994. – V. 40. – N. 1. – P. 37-44.

226. Maletić M. Analysis of lactoferrin gene polymorphism and its association to milk quality and mammary gland health in holstein-friesian cows / M. Maletić, V. Slobodanka, N. Djelić, N. Lakić, M. Pavlović // *Acta veterinaria (Beograd)*. – 2013. – V. 63. – N. 5-6. – P. 487-498.

227. Ma, Y. Antitumor activity of mannan-binding protein in vivo as revealed by a virus expression system: mannan-binding protein dependent cell-mediated cytotoxicity / Y. Ma, K. Uemura, S. Oka, Y. Kozutsumi // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 1999. – V. 96. – P. 371-376.

228. Mao, Y.-J. Effects of Mastitis on Test-day Milk Performance and the Variation of SCC of Chinese Holstein / Y.-J. Mao, Y. Chen, R.-J. Chen, L.-L. Chang, X.-K. Shi, Z.-P. Yang, X.-H. Liang, S.-H. Yin // *Acta Veter. Zootechn. Sinica*. – 2011. – V. 42. – N. 12. – P. 1787-1794.

229. Martin-Burriel, I. New polymorphism and linkage mapping of the bovine lactotransferrin gene / I. Martin-Burriel, R. Osta, W. Baredse, P. Zaragoza // *Mammalian Genome*. – 1997. – V. 8. – P. 704-705.

230. Mason, P.L. An iron-binding protein common to many external secretions / P.L. Mason, J.F. Heremans, C. Dive // *Clin. Chim. Acta*. – 1996. – V. 14. – P. 735-739.

231. McDougall, S. Bovine mastitis: epidemiology, treatment and control / S. McDougall // *New Zealand Veterinary Journal*. – 2002. – V. 50. – P. 81-84.

232. Mellenberger, R. Dept. of Animal Sciences / R. Mellenberger // *Michigan State University*. – 2001.

233. Metz-Boutigue, M.H. Human lactotransferrin: Amino acid sequence and structural comparisons with other transferrins / M.H. Metz-Boutigue, J. Jolles, J. Mazurier, F. Schoentgen, D. Legrand, G. Spik, J. Montreuil, P. Jolles // *Eur. J. Biochem*. – 1984. – V. 145. – P.659-676.

234. Moges, N. Bovine mastitis and associated risk factors in smallholder lactating dairy farms in Hawassa, Southern Ethiopia / N. Moges, T. Hailemariam, T.

Fentahun, M. Chaine, A. Melaku // *Global Veterinarian*. – 2012. – V. 9. – N. 4. – P. 441-446.

235. Motwani, K.T. Mastitis in dairy cattle in India / K.T. Motwani // *SSRN*. – 2011. – 11 p. Available at SSRN: <http://ssrn.com/abstract=1798382>

236. Muhasin Asaf V.N. Association study of genetic variants at single nucleotide polymorphism rs109231409 of mannose-binding lectins 1 gene with mastitis susceptibility in Vrindavani crossbred cattle / V.N. Muhasin Asaf, B. Bhushan, M. Panigrahi, P. Dewangan [et.al.] // *Veterinary World*. – 2014. – V. 7. – N. 10. – P. 807-810.

237. Nanaei, H.A. Lactoferrin gene polymorphism of Holstein cows in Isfahan province / H.A. Nanaei, M.A. Edriss, S.A. Mahyari, H.R. Rahmani, B.E.S. Tabatabaei // *Annals of Biological Research*. – 2012. – V. 3. – P. 2365-2367.

238. Neville, M.C. Lactoferrin secretion into mouse milk. Development of secretory activity, the localization of lactoferrin in the secretory pathway, and interactions of lactoferrin with milk iron / M.C. Neville, K. Chatfield, L. Hansen, A. Lewis, J. Monks, J. Nuijens, M. Ollivier-Bousquet, F. Schanbacher, V. Sawicki, P. Zhang // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. – 1998. – V. 443. – P. 141–153.

239. Nibbering, P.H. Human lactoferrin and peptides derived from its N terminus are highly effective against infections with antibiotic-resistant bacteria / P.H. Nibbering, E. Ravensbergen, M.M. Welling, L.A. van Berkel, P.H. van Berkel, E.K. Pauwels, J.H. Nuijens // *Infection and Immunity*. – 2001. – V. 69. – P. 1469-1476.

240. Nickerson, S.C. Effects of a recombinant granulocyte colony stimulating factor in lactating dairy cows / S.C. Nickerson, W.E. Owens, J.L. Watts // *Journal Dairy Science*. – 1989. – V. 72. – P. 3286-3294.

241. Nicholas, R. Bovine mycoplasmosis: silent and deadly / R. Nicholas // *Veterinary Record*. – 2011. – V. 168. – P. 459-462.

242. Nobrega, D.B. Breed and season influence on milk quality parameters and in mastitis occurrence / D.B. Nobrega, H. Langoni // *Pesquisa Veterinaria Brasileira*. – 2011. – V. 31. – N. 12 – P. 1045-1052.

243. Nuijens, J.H. Structure and biological actions of lactoferrin / J.H. Nuijens, P.H. van Berkel, F.L. Schanbacher // *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*. – 1996. – V. 1. – P. 285-295.
244. Ogola, H. Effect of mastitis on raw milk compositional quality / H. Ogola, A. Shitandi, J. Nanua // *Journal Veterinary Science*. – 2007. – V. 8. – N. 3. – P. 237-242.
245. Ogorevc, J. An integrated map of cattle candidate genes for mastitis: A step forward to new genetic markers / J. Ogorevc, T. Kunej, P. Dovc // *Acta agriculturae Slovenica*. – 2009. – V. 2. – P. 85-91.
246. Östensson, K. Differential Cell Counting in Fraction-Collected Milk from Dary Cows // K. Östensson, M. Hageltorn, G. Åström // *Acta Veterinaria Scandinavica*. – 1988. – V. 29. – N. 3-4. – P. 493-500.
247. Pawlik, A. Bovine lactoferrin gene polymorphism and expresion in relation to mastitis resistance. A. review / A. Pawlik, G. Sender, A. Korwin-Kosakowska // *Anim. Sci. Pat. Rep.* – 2009. – V. 27. – P. 263-271.
248. Peeler, E.J. Study of clinical mastitis in British dairy herds with bulk milk somatic cell counts less than 150, 000 cells / ml / E.J. Peeler, M.J. Green, J.L. Fitzpatrick // *Veter. Rec.* – 2002. – V. 151. – N. 6. – P. 170-176.
249. Persson, K. Immunoglobulins, lysozyme and lactoferrin in the teat and udder of the dry cow during endotoxininduced inflammation / K. Persson, A. Carlsson, C. Hambleton, A.J. Guidry // *Journal of Veterinary Medicine. Series B. (Zentralblatt fur Veterinarmedizin. Reihe B.* – 1992. – V. 39. – P. 165-174.
250. Podolsky, M.J. Characterization of an equine mannan-binding lectin and its roles in disease / M.J. Podolsky, A. Lasker, M.J.B.F. Flaminio, L.D. Gowda, R.A.B.E. Ezekowitz, K. Takahashi // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2006. – V. 343. – P. 928-936.
251. Pyorala, S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis / S. Pyorala // *Veterinary Research*. – 2003. – V. 34. – N. 5. – P. 565-578.

252. Radostis, O.M. *Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses* / O.M. Radostis, C.C. Gay, D.C. Blood, K.W. Hinchkliff // 9th ed. ELBS & Baillier Tindall. – P. 563–660.

253. Rainard, P. Bacteriostatic activity of bovine milk lactoferrin against mastitic bacteria / P. Rainard // *Veterinary Microbiology*. – 1986. – V. 11. – P. 387-392.

254. Rainard, P. Bacteriostatic activity of bovine lactoferrin in mastitic milk / P. Rainard // *Veterinary Microbiology*. – 1987. – V. 13. – P. 159-166.

255. Ronda, R. Influencia del semental sobre la prevalencia de mastitis en vacas Holstein Friesian / R. Ronda, E. Martinez, O. Perez-Beato, A. Granado // *Rev. Salud anim.* – 1985. – V. 7. – N. 3. – P. 339-346.

256. Rupp, R. Genetic resistance to mastitis in dairy cattle / R. Rupp, D. Boichard // *D. Vet. Res.* – 2003. – V. 34. – P. 671-688.

257. Sarikaya, H. Leukocyte Populations and mRNA Expression of Inflammatory Factors in Quarter Milk Fractions at Different Somatic Cell Score Levels in Dairy Cows / H. Sarikaya, G. Schlamberger, H.D. Meyer, R.M. Bruckmaier // *Journal of Dairy Science*. – 2006. – Vol. 89. – P. 2479–2486.

258. Schukken, Y.H. Effects of repeated gram-positive and gram-negative clinical mastitis episodes on milk yield loss in Hostein dairy cows / Y.H. Schukken, J.A. Hertl, D. Bar, G.J. Bennett, R.N. González, B.J. Rauch, C. Santisteban, H.F. Schulte, L. Tauer, F.L. Welcome, Y.T. Gröhn // *Journal of Dairy Science*. – 2009. – Vol 92. – P. 3091–3105.

259. Schutz, M.M. Genetic variation in lactation means of somatic cell scores for six breeds of dairy cattle / M.M. Schutz, P.M. Vanraden, G.R. Wiggans // *Journal of Dairy Science*. – 1994. – V. 77. – P. 284-293.

260. Schwerin, M. The bovine lactoferrin gene (LTF) maps to chromosome 22 and syntenic group U12 / M. Schwerin, S.S. Toldo, A. Eggen, R.M. Brunner, H.M. Seyfert, R. Fries // *Mammalin Genome*. – 1994. – V. 5. – P. 486-489.

261. Sender, G. Association of the polymorphism of some genes with the occurrence of mastitis in cattle / G. Sender, A. Korwin-Kossakowska, R. Galal-Abdel Hamed, R. Prusak // *Med. Wet.* – 2006. – V. 62. – P. 563-565.

262. Sender, G. Association of bovine lactoferrin gene polymorphism with occurrence of mastitis / G. Sender, A. Pawlik, A. Korwin-Kossakowska, K. Galal Abdel Hameed, M. Soszczynska et al. // *Milchwissenschaft.* – 2010. – V. 65. – P. 242-245.

263. Senft, B. Defense mechanisms of the bovine mammary gland / B. Senft, J. Neudecker // *Tierärztliche Praxis.* – 1991. – V. 19. – P. 357-363.

264. Seyfert, H.M. Defining candidate genes for mastitis resistance in cattle: the role of lactoferrin and lysozyme / H.M. Seyfert, M. Henke, H. Interthal, U. Klussmann, D. Koczan, S. Natour, W. Pusch, B. Senft, U.M. Steinhoff, A. Tuckoricz, G. Hobom // *Journal of Animal Breeding and Genetics (Zeitschrift für Tierzucht und Zuchtungsbiologie).* – 1996. – V. 113. – P. 269-276.

265. Seyfert, H.M. Variants and biotechnological use of the bovine lactoferrin-encoding gene. In: Hutchens T.W., Lonnerdal B. (ed.): *Lactoferrin Structure and Function* / H.M. Seyfert, U. Klußmann, U.M. Steinhoff, J. Vanselow, D. Koczan, G. Hobom // Humana Press, Totowa, NJ, 1997. – P. 61-79.

266. Seyfert, H.M. Structure of the bovine lactoferrin encoding gene and its promoter / H.M. Seyfert, A. Tuckoricz, H. Interthal, D. Koczan, G. Hobom // *Gene.* – 1994. – V. 143. – P. 265-269.

267. Shashidharan, A. Physicochemical characterization and functional site analysis of lactoferrin gene of Vechur cow / A. Shashidharan, R. Singh, S. Bhasker, C. Mohankumar // *Bioinformation.* – 2011. – V. 6. – N. 7. – P. 275-278.

268. Shergojry, Sh.A. Identification of genetic polymorphism in immunity related genes and their association with clinical mastitis in murrah buffaloes / Sh.A. Shergojry // Thesis submitted to the ICAR-National Dairy Research Institute (Deemed University) in partial fulfilment of the requirement for the degree of Doctor of philosophy in animal genetics and breeding. – 2014. – P. 161.

269. Shi, L. Mannan-binding lectin-deficient mice are susceptible to infection with *Staphylococcus aureus* / L. Shi, K. Takahashi, J. Dundee, S. Shahroor-kami, S.

Thiel, J.C. Jensenius, F. Gad, M.R. Hamblin, K.N. Sastry, R.A. Ezekowitz // *J. Exp. Med.* – 2004. – V. 199. – P. 1379-1390.

270. Shuster, D.E. Suppression of Milk Production During Endotoxin-Induced Mastitis / D.E. Shuster, R.J. Harmon, J.A. Jackson, R.W. Hemken // *J. Dairy Sci.* – 1991. – V. 74. – N. 11. – P. 3763-3774.

271. Smith, K.L. Lactoferrin: a component of nonspecific defense of the involuting bovine mammary gland / K.L. Smith, S.P. Oliver // In: Butler J.E. (ed.): *The Ruminant Immune System*. Plenum Press, New York, NY, 1981. – P. 535.

272. Sordillo, L.M. Immunobiology of the mammary gland / L.M. Sordillo, K. Shafer-Weaver, D. DeRosa // *Journal of Dairy Science.* – 1997. – V. 80. – P. 1851-1865.

273. Sorensen, R. Mannanbinding lectin associated serine proteases, characteristics and disease associations / R. Sorensen, S. Thiel, J.C. Jensenius // *Springer Semin. Immunopathol.* – 2005. – V. 27. – N. 3. – P. 299-319.

274. Sprong, T. Mannose-binding lectin: ancient molecule, interesting future / T. Sprong, M. van Deuren // *Clin. Infect. Dis.* – 2008. – V. 47. – P. 517.

275. Šrubařová, P. / P. Šrubařová, J. Dvořák // *International Ph.D. Students Conference, 2009, Czech Republic, Brno, (MZLU v Brně, Brno, 2009).* – P. 148.

276. Super, M. Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonization / M. Super, S. Thiel, J. Lu, R.J. Levinsky, M.W. Turner // *Lancet.* – 1989. – V. 2. – P. 1236–1239.

277. Takahashi, R. Association of mannan binding lectin (MBL) gene polymorphism and serum MBL concentration with characteristics and progression of systemic lupus erythematosus / R. Takahashi, A. Tsutsumi, K. Ohtani, Y. Muraki et al. // *Ann. Rheum. Dis.* – 2005. – V. 64. – P. 311-314.

278. Tanaka, T. The detection of bovine lactoferrin binding protein on *Toxoplasma gondii* / T. Tanaka, Y. Abe, W.S. Kim, X. Xuan, H. Nagasawa, I. Igarashi, H. Kumura, K. Shimazaki // *J. Vet. Med. Sci.* – 2003. – V. 65. – P. 1377-1380.

279. Tenhagen, B.A. Prevalence of pathogens in milk samples of dairy cows with clinical mastitis and in heifers at first parturition / B.A. Tenhagen, A. Reinecke, W. Heuwieser // *Journal of Dairy Reserch.* – 2009. – V. 76. – N. 2. – P. 179-187.
280. Teng, C.T. Lactoferrin gene expression and regulation: an overview / C.T. Teng // *Biochemistry and Cell Biology.* – 2002. – V. 80. – P. 7-16.
281. Tomasinsig, L. Comparative activity and mechanism of action of three types of bovine antimicrobial peptides against pathogenic *Prototheca* spp. / L. Tomasinsig, B. Skerlavaj, M. Scarsini, F. Guida, R. Piccinini, A. Tossi, M. Zanetti // *Journal of Peptide Science.* – 2012. – V. 18. – P. 105-113.
282. Turner, M.W. Restricted polymorphism of the mannose-binding lectin gene of indigenous Australians / M.W. Turner, L. Dinan, S. Heatley et al. // *Hum. Mol. Genet.* – 2000. – V. 9. – P. 1481.
283. Van de Wetering, J.K. Collectins: Players of the innate immune system / J.K. Van de Wetering, L.M. Golde, J.J. Batenburg // *Eur. J. Biochem.* – 2004. – V. 271. – P. 1229-1249.
284. Vasil, M. The reduction of the occurrence of mastitis in dairy herd using the innovation of housing conditions, sanitary of milk storage and applying the therapy of mastitis during the lactation / M. Vasil M. [et all.] // *Folia veterinarian: Univ. of veterinary medicine. Kosice, 2009.* – V. 53. – N. 1 (2). – P. 186-189.
285. Wang, X. The relationship between the variants of the bovine MBL2 gene and milk production traits, mastitis, serum MBL-C levels and complement activity / X. Wang, Z. Ju, J. Huang, M. Hou, L. Zhou, C. Qi, Y. Zhang. Q. Gao, Q. Pan, G. Li, J. Zhong, C. Wang // *Veterinary Immunology and Immunopathology.* – 2012. – V. 148. – P. 311-319.
286. Ward, P.P. Multifunctional roles of lactoferrin: A critical overview / P.P. Ward, E. Paz, O.M. Conneely // *Cell Mol. Life Sci.* – 2005. – V. 62. – N. 22. – P. 2540-2548.
287. Wellenberg, G.J. Viral infections and bovine mastitis: a review / G.J. Wellenberg, W.H.M. van der Poel, J.T. Van Oirschot // *Veterinary Microbiology.* – 2002. – V. 88. – P. 27-45.

288. Wojdak-Maksymiec, K. Associations between bovine lactoferrin gene polymorphism and somatic cell count in milk / K. Wojdak-Maksymiec, M. Kmiec, J. Ziemak // *Veterinarni Medicina*. – 2006. – V. 51. – P. 14-20.

289. Yuan, Z. SNPs identification and its correlation analysis with milk somatic cell score in bovine MBL1 gene / Z. Yuan, J. Li, J. Li, X. Gao, S. Xu // *Mol. Biol. Rep.*, - 2013. – V. 40. – N. 1. – P. 7-12.

290. Zaini, F. Identification of *Prototheca zopfii* from Bovine Mastitis / F. Zaini, A. Kanani, M. Falahati, R. Fateh, M. Salimi-Asl, N. Saemi, S. Farahyar, A.K. Kheirabad, M. Nazeri // *Iranian Journal of Public Health*. – 2012. – V. 41. – P. 84-88.

291. Zhang, Q. Mapping quantitative trait loci for milk production and health in dairy cattle in a large outbred pedigree / Q. Zhang, D. Boichard, I. Hoeschele., C. Ernst, A. Eggen, B. Murkve, M. Pfister-Genskow, L.A. Witte, F.E. Groggola, P. Uimari, G. Thaller, M.D. Bishop // *Genetics*. – 1998. – V. 149. – P. 1959-1973.

292. Zhao, Z. Novel SNPs of the mannan-binding lectin 2 gene and their association with production traits in Chinese Holsteins / Z.L. Zhao, C.F. Wang, Q.L. Li, Z.H. Ju, J.M. Huand, J.B. Li, J.F. Zhong, J.B. Zhang // *Genet. Mol. Res.* – 2012. –V. 11. – N. 4. – P. 3744-3754.

293. Zhao, F. Polymorphisms in mannose-binding lectin (MBL) gene and their association with MBL protein levels in serum in the Hu sheep / F. Zhao, Z. Zhao, G. Yan, D. Wang, Q. Ban, P. Yu, W. Zhang, Y. Luo // *Immunol. Immunopathol.* – 2001. – V. 140. – P. 297-302.

ПРИЛОЖЕНИЕ

УТВЕРЖДАЮ

Председатель СХПК племенной
завод им. Ленина Атнинского
района Республики Татарстан
И.В. Хайруллин
2016 г.




АКТ

**результатов научно-хозяйственного опыта аспиранта ФГБОУ ВО
Казанская ГАВМ Шамсиевой Лейсан Варисовны**

Мы, нижеподписавшиеся, руководитель НТЦ животноводства ФГБНУ «ТатНИИСХ», доктор сельскохозяйственных наук, профессор Шакиров Ш.К., главный ветеринарный врач Гилязов И.М., аспирант кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы Шамсиева Л.В. 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 и резистентностью к маститу.

В ходе исследований установили, что на формирование признаков молочной продуктивности и устойчивости к маститам оказывают влияние исследованные гены. В связи с этим рекомендуется проводить молекулярно-генетическое тестирование молочных пород скота по генам LTF, MBL1. 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.

Руководитель НТЦ животноводства
ФГБНУ «ТатНИИСХ», д.с.-х.н., профессор  Ш.К. Шакиров

Главный зоотехник
СХПК племенной завод им. Ленина
Атнинского района РТ  Р.Н. Файзрахманов

Аспирант кафедры ВСЭ
ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ  Л.В. Шамсиева

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования "Казанская государственная академия ветеринарной
медицины имени Н.Э.Баумана"



УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО Казанская
ГАВМ

Р.Х.Рапилов

"25" декабря 2017г.

Методические рекомендации
Тестирование крупного рогатого скота по генам устойчивости
к маститу коров

Казань-2017

Авторы: руководитель научно-технологического центра животноводства ФГБНУ "ТатНИИСХ", доктор сельскохозяйственных наук, профессор Шакиров Ш. К.; аспирант ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Шамсиева Л.В.; кандидат биологических наук, зав.лабораторией молекулярно-генетических и биохимических исследований ФГБНУ "ТатНИИСХ" Юльметьева Ю.Р. , кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заместитель руководителя ТатНИИСХ Зиннатова Ф. Ф.; доктор биологических наук, профессор кафедры ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Юсупова Г.Р.

В методических рекомендациях даны принципы полимеразной цепной реакции (ПЦР), приведены требования, которым должна отвечать ПЦР-лаборатория, а также перечень необходимого оборудования и материалов. Дана характеристика основным этапам ПЦР, начиная от забора проб и кончая интерпретацией получаемых результатов.

Методические рекомендации предназначены для студентов факультета ветеринарной медицины, ветеринарных врачей, врачей-лаборантов и других специалистов лаборатории.

Методические рекомендации рассмотрены на научно-техническом совете ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ протокол № 9 от 21 декабря 2017 г.

Рецензенты:

Доктор ветеринарных наук, профессор,
профессор кафедры биологической и
Неорганической химии ФГБОУ ВО
Казанская ГАВМ

А.М.Алимов

Доктор ветеринарных наук, профессор,
зав.кафедрой микробиологии
ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ

А.К.Галиуллин

I. Основные правила отбора, хранения, транспортировки биоматериалов для проведения молекулярно – генетических исследований.

При выполнении лабораторных исследований, особенно с использованием новейших высокочувствительных методов диагностики, в том числе и ПЦР, нельзя исключить возможность получения неадекватных данных, искажающих истинное состояние организма животного или фактическое значение определяемого параметра. Повышение достоверности результатов лабораторных исследований, проводимых с использованием метода ПЦР, зависит от соблюдения ряда биологических, физиологических и физических факторов:

- свойств биологического материала (стабильность при хранении и возможный метаболизм *in vitro*);
- порядка и условий отбора, хранения, транспортировки материала (требования к температурному режиму, времени доставки, первичной пробоподготовки и т.д.).

Основным биоматериалом для молекулярно – генетических исследований методом ПЦР является цельная кровь.

Кровь берут из яремной вены или хвостовой вены в одноразовые шприцы – контейнеры с антикоагулянтом ЭДТА.

Предварительная подготовка. Цельную кровь используют для выделения нуклеиновых кислот без предварительной подготовки.

Условия хранения. Образцы цельной крови хранят при температуре 4 – 25⁰ С в течение 12 часов; при температуре 2-8⁰ С – в течение 1 дня, при температуре минус 70⁰С – длительно.

При отсутствии шприцов – контейнеров кровь берут одноразовыми шприцами или индивидуальными стерильными иглами для взятия крови в стерильные пробирки консервантом ЭДТА в расчете 1-3% от объема крови и тщательно перемешивают.

Материал от каждого животного или другого объекта ветеринарного надзора отбирают отдельным стерильным инструментарием в одноразовые контейнеры, флаконы, пробирки, пакеты и т.д. Контейнеры должны обеспечивать герметичность, стерильность, целостность образцов, а также исключать при открывании образование аэрозоля. Кроме того, контейнеры должны быть удобны для транспортировки.

Инструментарий (ножницы, пинцеты, шпатели) фламбируют над пламенем горелки, предварительно погрузив их на 96 градусный спирт.

При использовании для отбора материала стеклянных многоразовых пробирок, флаконов необходима уверенность, что они свободны от клеток живых или убитых объектов и их фрагментов. При этом следует учитывать, что обычно применяемые методы стерилизации (кипячение, автоклавирование и т.д.) недостаточны для разрушения ДНК. После автоклавирования лабораторную посуду дополнительно выдерживают в течение 2 ч в сухожаровом шкафу, при температуре не ниже 180С или обрабатывают в течение 1-2 ч 1N раствором соляной кислоты и т.д. промывают проточной, а затем дистиллированной водой.

Материал упаковывают в отдельные пакеты с номерами, составляют направление, в котором указывают дату взятия и условия хранения материала до момента доставки в лабораторию. Транспортировку биологического материала осуществляют в термоконтейнерах с замороженными охлаждающими элементами или в термосе со льдом.

Предварительная подготовка.

При отборе материала, а также при подготовке проб для исследований необходимо соблюдать меры, предупреждающие заражение людей и животных, а также контаминирование объектов внешней среды.

II. Устройство и оснащение ПЦР-лаборатории

ПЦР – лаборатория должна быть разделена на три зоны – по числу технологических операций:

- зона подготовки реакционной смеси («чистая» зона),
- зона пробоподготовки и проведения ПЦР,
- зона электрофоретической детекции.

Все три зоны должны быть изолированными комнатами, снабженными предбоксниками. Полезно иметь устройство фильтрации воздуха.

Если первую и вторую зоны в крайнем случае допускается объединить (при наличии специальных боксов), то зона детекции должна размещаться как можно дальше от двух других зон (другой этаж, другое здание) и иметь несвязанную с другими зонами систему вентиляции.

Все производственные комнаты должны быть снабжены коротковолновыми ультрафиолетовыми лампами.

Перемещение пробирок, штативов и предметов должно производиться только в направлении из «чистой» зоны в зоны пробоподготовки и детекции.

Биоматериал, поступивший в лабораторию, должен быть как можно быстрее обработан в комнате пробоподготовки. В ту же комнату должны поступать пробирки с реакционной смесью из «чистой» зоны для внесения в

них препаратов ДНК. После этого пробирки помещают в амплификатор и по окончании термоциклирования, не открывая крышек, переносят в зону детекции.

Все операции (пробоподготовка, подготовка реакционной смеси, электрофорез) должны выполнять разные люди.

Запрещается внесение пробирок с положительными контролями или биологическими образцами как до, так и после обработки, в комнату подготовки реакционной смеси.

Все производственные комнаты должны быть снабжены необходимым оборудованием и расходными материалами.

Таблица 1 – Перечень оборудования

Приборы и расходный материал	Изготовитель
Автоматические дозаторы переменного объема	Одноканальные электронные дозаторы переменного объема PipetmanUltra, Gilson, Франция: - 2-10 мкл - 2 - 20 мкл - 20 - 100 мкл - 20 - 200 мкл - 200 - 1000 мкл
Микроцентрифуга	MiniSpinplus, Германия
Твердотельный термостат	«Гном», ДНК-технология, Россия
Планшеты для пробирок	объемом: - 1,5 - 2 мл - 0,2 - 0,5 мл
Вортекс (шейкер)	Biosan V – 1
Амплификатор с подложкой на 96 лунок	MyCycler Bio -Rad (США)
Пробирки микроцентрифужные Eppendorf,	на: - 1,5 мл - 2 мл
Пробирки для ПЦР Axugen, США	на: - 0,2 мл - 0,5 мл
ПЦР-бокс	DNA/RNA UV – CLEA NER, Biosan
Электронные весы	Scout Pro, OhausComporation, Pine Brook, NJ USA
Гель-документирующая система	GelDocBio-Rad (США)
Источник питания для электрофорезной камеры	Bio-Rad (США)
Электрофорезная камера	Bio-Rad (США)
Подложка для заливки геля	Bio-Rad (США)
Гребенки для заливки геля	Bio-Rad (США)
Микроволновая печь	LG MS-1724 W
Лактан-1.4	Россия, Новосибирск
Соматос В	Россия, Новосибирск

Таблица 2 – Перечень реактивов

Реактивы	Изготовитель
Для выделения ДНК	
ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота)	Хеликон, г. Москва, Россия
Комплект реагентов для выделения ДНК из клинического материала «ДНК-сорб-В»	ФГБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Россия
ПЦР – ПДРФ	
Дионизированная вода 10× Таq ДНК полимеразы	СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия 1. СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия 2. MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Германия.
Смесь dNTP 2,5 мМ каждого	1. СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия 2. MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Германия.
25 мМ MgCl ₂ ПЦР-праймеры различной концентрации (пмоль/мкл) Эндонуклеазы рестрикции различной концентрации (ед./мл)	MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Германия СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия
10× SE-буфер	СибЭнзим, г. Новосибирск, Россия
Электрофорез	
Агароза 1% Этидиум бромид Бромфеноловый синий 10× Трис-боратный буфер (10× TBE буфер) Глицерол	Хеликон, г. Москва, Россия Хеликон, г. Москва, Россия Sigma, Германия MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Германия Хеликон, г. Москва, Россия
Анализ молока на содержание в нем соматических клеток	
Мастоприм	БиоКомпас-С, г. Углич, Россия
Дистиллированная вода	

III. Тестирование крупного рогатого скота по генам устойчивости к маститам коров.

Анализ локуса гена *LTF* и *MBL1*. Кровь, полученную утром до кормления из яремной вены животных, вносят в пробирки с 100 мМ ЭДТА до конечной концентрации 10 мМ.

Выделение ДНК из цельной крови крупного рогатого скота проводят с использованием комплекта реагентов «ДНК-Сорб-В» согласно инструкции изготовителя по применению (ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия).

Фрагменты ДНК амплифицируют на программируемом термоциклере MyCycler и T-100 (Bio-Rad, США). Для ПЦР используют *Taq* ДНК полимеразу (5 ед./мкл) (MBIFermentas, Германия) с поставляемым буфером - 10× *Taq* буфер. Смесь дезоксинуклеозидтрифосфатов (2,5 мМ каждого из dNTP) (MBIFermentas, Германия) добавляют в реакционную смесь в конечной концентрации 0,25 мМ. Праймеры синтезированы фирмой СибЭнзим (г. Новосибирск, Россия). Праймеры применяют в концентрации 1 мкМ. Матричную ДНК добавляют в количестве 10-100 нг на одну реакцию.

Гидролиз ПЦР-проб проводят эндонуклеазами рестрикции *EcoRI* для гена лактоферрина (*LTF*) и *HaeIII* для гена манноза-связывающего лектина (*MBL1*) фирмы СибЭнзим (г. Новосибирск, Россия) в соответствии с рекомендациями изготовителя. ПЦР-смесь с амплифицированными фрагментами составляет 3/5 общего объема реакционной смеси.

Таблица 1 – Протокол ПЦР-ПДРФ-анализа полиморфизма гена *LTF*

Протокол ПЦР				
Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)	10 проб (мкл)
dH ₂ O			12,39	123,9
dNTPs	2,5 мМ	0,25 мМ	2	20
Буфер	10×	1×	2	20
Тақ ДНК полимераза	5 ед	1 ед	0,2	2
LTF-f	35,5 мкМ	1 мкМ	0,56	5,6
LTF-r	23,5 мкМ	1 мкМ	0,85	8,5
ДНК			2	
ВСЕГО			20	

Праймеры:
 LTF-f: 5'-GCSTCATGACAACSTCCACAC-3' (21 н.)
 LTF-r: 5'-CAGGTTGACACATCGGTTGAC-3' (21 н.)

Режим амплификации:
 ×1: 94 °С – 5 мин
 ×35: 94 °С – 30 сек, 61 °С – 45 сек, 72 °С – 45 сек.
 ×1: 72 °С – 5 мин
 ХРАНЕНИЕ +10 °С
 ПЦР-продукт = 300 п.н.

Протокол ПДРФ				
Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)	10 проб (мкл)
dH ₂ O			2,5	25
SE буфер Y	10×	1×	2,0	20
EcoRI	20 ед	10 ед	0,5	5
ПЦР проба			20	
ВСЕГО			25	

Режим гидролиза:
 37 °С – 16 ч.
 65 °С – 20 сек

Электрофорез в агарозном геле 2,5 %

ПЦР-ПДРФ-фрагменты:
 AA = 300 п.н.
 BB = 200/100 п.н.
 AB = 300/200/100 п.н.

Таблица 2 – Протокол ПЦР-ПДРФ-анализа полиморфизма гена *MBL1*

<u>Протокол ПЦР</u>				
Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)	10 проб (мкл)
dH ₂ O			12,85	128,5
dNTPs	2,5 мМ	0,25 мМ	2	20
Буфер	10×	1×	2	20
Taq ДНК полимеразы	5 ед	1 ед	0,2	2
MBL1f	35,0 мкМ	1 мкМ	0,57	5,7
MBL1r	52,0 мкМ	1 мкМ	0,38	3,8
ДНК			2	
ВСЕГО			20	

Праймеры:
 MBL1f: 5'-GTGGTGGCAAATGTTGGCTAAAC-3' (23 н.)
 MBL1r: 5'-TGGCTCTCCSTTTTCTCCSTT-3' (21 н.)

Режим амплификации:
 ×1: 94 °С – 3 мин
 ×35: 94 °С – 30 сек, 63 °С – 45 сек, 72 °С – 45 сек.
 ×1: 72 °С – 5 мин
 ХРАНЕНИЕ +10 °С

ПЦР-продукт = 255 п.н.

<u>Протокол ПДРФ</u>				
Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)	10 проб (мкл)
dH ₂ O			2	20
SE буфер Y	10×	1×	2	20
HaeIII	10 ед	10 ед	1	10
ПЦР проба			20	
ВСЕГО			25	

Режим гидролиза:
 37 °С – 16 ч.
 65 °С – 20 сек

Электрофорез в агарозном геле 2,5 %

ПЦР-ПДРФ-фрагменты:
 TT = 255 п.н.
 CC = 178/77 п.н.
 TC = 255/178/77 п.н.

Для определения полиморфизма генов амплифицированные фрагменты, обработанные соответствующими рестриктазами разделить в 2,5 % агарозном геле с добавлением 5 мкл 1 %-го бромистого этидия в 1× ТВЕ-буфере (Sambrook&Russel, 2001) в камере Bio-Rad при напряженности электрического поля в 15 В/см в течение 35 мин. Визуализацию и фиксирование результатов ПЦР-ПДРФ-анализа проводить с помощью системы GelDoc (Bio-Rad, США).

После электрофореза гель просматривают в УФ – трансиллюминаторе при длине волны 310нм. Идентификацию генотипов определяют по количественным и качественным признакам ПЦР – ПДРФ (рисунок 1).

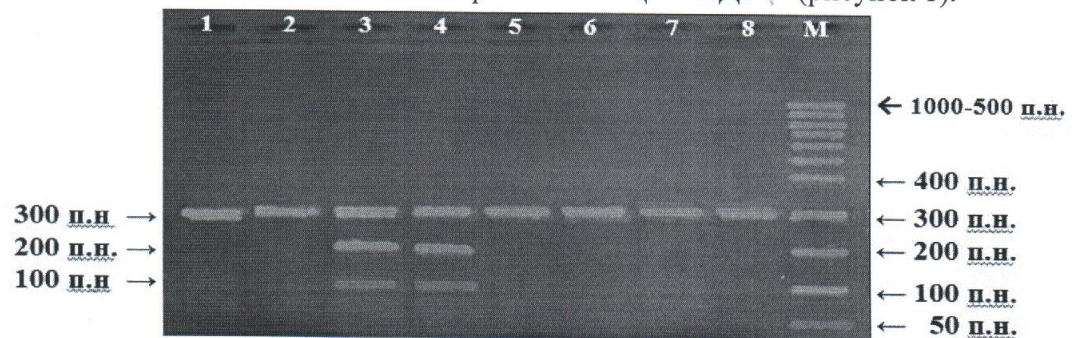


Рисунок 1 – Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ-анализа гена лактоферрина крупного рогатого скота с праймерами LTFf+LTFr и эндонуклеазным расщеплением ферментом *EcoRI*
Обозначения: М) ДНК-маркеры 1000-50 п.н. (СибЭнзим); 1, 2, 5, 6, 7, 8 – генотип AA (300 п.н.); 3, 4 – генотип AB (300/200/100 п.н.)

После электрофореза гель просматривают в УФ – трансиллюминаторе при длине волны 310нм. Идентификацию генотипов определяют по количественным и качественным признакам ПЦР – ПДРФ (рисунок 2).

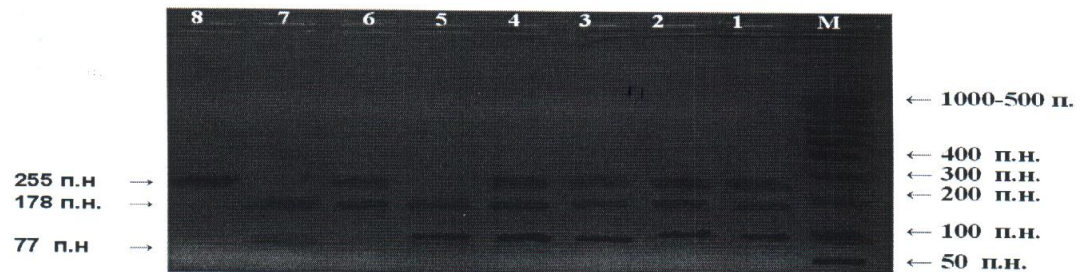


Рисунок 2 – Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ-анализа гена манноза-связывающего лектина крупного рогатого скота с праймерами MBL1f+MBL1r и эндонуклеазным расщеплением ферментом *HaeIII*
Обозначения: М) ДНК-маркеры 1000-50 п.н. (СибЭнзим); 1, 2, 3, 4, 6 – генотип CC (255/178/77 п.н.); 5, 7 – генотип TC (178/77 п.н.); 8 – генотип TT (255 п.н.).