На правах рукописи

САФИНА НАТАЛЬЯ ЮРЬЕВНА

ДНК-ТЕСТИРОВАНИЕ АЛЛЕЛЬНОГО ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ-МАРКЕРОВ ХОЗЯЙСТВЕННО-ПОЛЕЗНЫХ ПРИЗНАКОВ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

КАЗАНЬ – 2019

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

Научный руководитель: **Ахметов Тахир Мунавирович**
доктор биологических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Калашникова Любовь Александровна**
доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией ДНК-технологий федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела»

Валитов Фарит Равилович
доктор сельскохозяйственных наук, доцент, заведующий кафедрой пчеловодства, частной зоотехнии и разведения животных федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Башкирский государственный аграрный университет»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - МВА имени К.И. Скрябина»

Защита диссертации состоится «30» декабря 2019 г. в 10^{00} часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.02 при ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ по адресу: 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» и на сайте http://kazanveterinary.ru

Автореферат разослан « » _____ 2019 г., размещен на сайтах: http://www.vak.ed.gov.ru и http://kazanveterinary.ru

Ученый секретарь
диссертационного совета Резиля Ахметовна Асрутдинова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Сохранение генетического разнообразия сельскохозяйственных животных, его увеличение за счет разработки и внедрения новых методов биотехнологии, генной инженерии и т.п. являются очень важными на современном этапе развития человечества в связи с общим увеличением населения планеты и необходимостью обеспечения его продуктами питания (П.О. Харченко, В.И. Глазко, 2006). Первостепенной задачей, поставленной перед скотоводческими хозяйствами страны, является изучение генетической стороны животных, оценка их наследственных достоинств, с целью повышения их генетического потенциала по хозяйственно-полезным признакам, таким как интенсивность роста, молочная продуктивность, воспроизводительные качества, продуктивное долголетие и устойчивости к болезням, основой которых является целенаправленная селекция и создание широкой племенной базы.

Генетические маркеры детерминируют наследуемый отчетливо выраженный фенотипический признак, различимый у разных особей, который сопряжен с изменчивостью другого качественного или количественного признака (Г.В. Калько, 2015). Выбор с помощью генов, то есть использование функциональных мутаций, непосредственно ответственных за различия в фенотипах, в настоящее время является наиболее эффективным вариантом выбора маркеров.

В программах молочного скотоводства использование молекулярно-генетических маркеров позволяет идентифицировать генетически превосходных животных в гораздо более раннем возрасте. Фактически, животные, прошедшие ДНК-тестирование, могут получить прижизненную оценку племенной ценности прежде, чем достигнут половой зрелости (J.M. Schefers, K.A. Weigel, 2012).

Изучение аллельного полиморфизма генов-маркеров хозяйственно-полезных признаков крупного рогатого скота голштинской породы с применением методов молекулярной диагностики является актуальным направлением в условиях Республики Татарстан.

Степень разработанности темы. В настоящее время оценка животных традиционными методами, основанная на фенотипических и паратипических показателях родителей и потомков, не может являться залогом успешной селекции. На современном этапе все больше внимания уделяется изучению полиморфизму

ДНК-маркеров продуктивных качеств сельскохозяйственных животных. Их использование в качестве методов более объективной оценки племенных достоинств животных может ускорить и стабилизировать управление селекционными процессами (В.В. Лавровский, Л.В. Денисенко, 2001; Н.А. Зиновьева и соавт., 2005; Л.А. Танана и соавт., 2014).

Проведенные зарубежные исследования свидетельствуют о том, что маркерные гены лептин (LEP), стеарил-КоА десатураза (SCD1) и фактор транскрипции А митохондрий (TFAM) являются потенциальными молекулярно-генетическими маркерами хозяйственно-полезных признаков крупного рогатого скота, таких как интенсивность роста, живая массой, молочная продуктивность, качественный состав молока, лактационная деятельность и репродуктивная функция крупного рогатого скота (R.P. Fisher, D.A. Clayton, 1988; Y. Zhang et al., 1994; Yu. Pankov, 1996; Y.C. Kim, J.M. Ntambi, 1999; A. Yang, 1999; F.C. Buchanan et al., 2002; S.C. Liefers et al., 2002; L. Wilson-Fritch et al., 2004; Z. Jiang et al., 2005; J.D. Nkrumah et al., 2005; S. Bluher, C. Mantzoros, 2007; B. Moioli et at., 2007; M.T. Flowers, J.M. Ntambi, 2008; E. Milanesi et al., 2008; F. Rezende et al., 2008; K. Kaplanova et al., 2009; A. Schennink, 2009; I.S. Farooqi, S.O’Rahilly, 2009; J. Komisarek, 2010; F. Souza et al., 2010; M. Ekerljung, 2012; H. Kulig et al., 2013; L. Laubenthal, 2015; T. Kunej et al., 2016).

Несмотря на то, что геном крупного рогатого скота уже расшифрован, и ведется активный поиск ассоциаций полиморфизма генов со всеми экономически значимым показателями продуктивности, в научных трудах российских и татарстанских исследователей, данных по исследованиям генов-маркеров LEP и SCD1 и их ассоциациям с хозяйственно-полезными признаками недостаточно, а по гену TFAM они и вовсе отсутствуют (С.В. Тюлькин и соавт., 2009; 2013; А.А. Траспов, И.Ю. Долматова, 2010; Г.Е. Сулимова и соавт., 2014; Н.В. Титов, 2014; А.А. Шарипов и соавт., 2014; Л.А. Калашникова, 2015; Ф.Ф. Зиннатова и соавт., 2017; Е.В. Мачульская и соавт., 2017; T.A. Sedykh et al., 2016). Проведенный мониторинг показал, что полиморфизм гена-маркера TFAM и его ассоциации с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота голштинской породы ранее в нашей стране не изучались.

Направление наших исследований было ориентировано на изучение влияния полиморфных вариантов указанных генов-маркеров на динамику живой массы,

молочную продуктивность, качественный состав молока и лактационную деятельность коров-первотелок голштинской породы, что имеет как научную, так и практическую значимость.

Работа является частью научных исследований федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по теме АААА-А17-117033110119-2 «Безопасность растениеводческой и животноводческой продукции».

Цель и задачи исследования. Целью настоящей работы являлось изучение полиморфизма генов-маркеров лептин, стеарил-коэнзим А десатураза и фактор транскрипции А митохондрий в связи с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота голштинской породы.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

1) провести ДНК-тестирование крупного рогатого скота способами АС-ПЦР и ПЦР-ПДРФ по локусам генов лептин (LEP), стеарил-коэнзим А десатураза (SCD1) и фактор транскрипции А митохондрий (TFAM);

2) определить частоту встречаемости аллельных вариантов и генотипов генов LEP, SCD1 и TFAM в популяции голштинского скота;

3) оценить показатели динамики живой массы, молочной продуктивности, качественного состава молока и лактационной деятельности у голштинского скота с разными генотипами генов LEP, SCD1 и TFAM;

4) изучить взаимосвязь между хозяйственно-полезными признаками у коров голштинской породы с разными генотипами генов LEP, SCD1 и TFAM;

5) определить частоту встречаемости комплексных генотипов генов LEP, SCD1 и TFAM в популяции голштинского скота.

Научная новизна работы. Впервые в условиях Республики Татарстан изучен полиморфизм генов-маркеров LEP, SCD1 и TFAM у коров-первотелок голштинской породы. Исследована ассоциация полиморфизма исследуемых генов-кандидатов с показателями динамики живой массы, молочной продуктивности и качественного состава молока, лактационной деятельности коров-первотелок голштинской породы. Установлены желаемые генотипы генов-маркеров в ассоциации с хозяйственно-полезными признаками татарстанской популяции крупного рогатого скота

голштинской породы. Изучены взаимосвязи хозяйственно-полезных признаков у коров-первотелок голштинской породы в зависимости от генотипов LEP, SCD1 и TFAM.

Теоретическая и практическая значимость работы. В ходе исследования получены результаты, свидетельствующие о достоверном влиянии разных генотипов генов LEP, SCD1 и TFAM, оказываемом на различные продуктивные качества коров-первотелок. Новая информация дополняет и расширяет уже имеющиеся сведения о формах ассоциаций хозяйственно-полезных признаков с различными генотипами генов LEP, SCD1 и TFAM голштинского крупного рогатого скота. Полученные в результате исследований новые знания, касающиеся ассоциаций полиморфных вариантов генов LEP, SCD1 и TFAM с хозяйственно-полезными признаками, внедрены в программу селекционно-племенных мероприятий для улучшения генетического потенциала крупного рогатого скота голштинской породы СХПК «Племенной завод имени Ленина» Атнинского района Республики Татарстан.

Методология и методы исследования. Методологической основой данной работы является комплекс различных методов исследования в разведении, селекции и генетике сельскохозяйственных животных и обобщение полученных результатов. При научно-хозяйственных и лабораторных опытах использовались общенаучные и специальные методы анализа: биологические, биохимические, зоотехнические, молекулярно-генетические и др. При расчёте количественных показателей и обработки экспериментальных данных применяли математический и статистический методы, позволяющие получить объективные и достоверные результаты опыта.

Основные положения, выносимые на защиту:

– Апробированные способы ПЦР-анализа для генотипирования крупного рогатого скота по локусам генов LEP, SCD1 и TFAM позволяют точно идентифицировать аллели и генотипы, ассоциированные с хозяйственно-полезными признаками животных;

– Определены все возможные аллельные профили и генотипы по локусам генов LEP, SCD1 и TFAM в популяции голштинских коров;

– Животные голштинской породы с генотипами LEP^{TT}, $SCD1^{TT}$ и $TFAM^{AA}$ превосходили сверстниц с другими генотипами по росту и развитию, а также по молочной продуктивности и качеству молока;

– Выявлена достоверная ассоциативная связь в популяции голштинских коров между такими хозяйственно-полезными признаками, как живая масса при осеменении – возраст осеменения, СОМО – массовая доля белка в молоке;

– Определено, что для исследуемой популяции голштинских коров характерно разнообразие комплексных генотипов по генам LEP, SCD1 и TFAM.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность полученных результатов подтверждается практическим использованием современных и классических методов и методик исследований и всесторонней статистической обработкой данных, что, в конечном счете, проявляется в согласованности установленных результатов и выводов.

Основные положения диссертации доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных отчётах кафедры технологии животноводства кафедры биологической химии, физики и математики ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана» (Казань, 2016-2019 гг.); Международных научно-практических конференциях (Казанская ГАВМ, Казань, 2017 г.; СПб ГАВМ, Санкт-Петербург, 2017 г.; Казанский ГАУ, Казань, 2018 г., Казанская ГАВМ, Казань, 2019 г.); Всероссийских научно-практических конференциях (Ижевская ГСХА, Ижевск, 2017 г.; Казанская ГАВМ, Казань, 2018 г.; Белгородский ФАНЦ РАН, Белгород, 2018 г.).

Публикация результатов исследования. Основные положения диссертации изложены в 16 печатных работах, из которых 10 – в ведущих рецензируемых журналах, рекомендуемых ВАК Российской Федерации, и 2 – в журналах, индексированных на международных платформах Scopus и Web of Science.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 136 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка сокращений и списка литературы и приложения. Работа содержит 26 таблиц и 20 рисунков. Список литературы включает 242 источника, в том числе 138 – зарубежных авторов.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальная часть исследования проводилась в период 2016-2018 гг. на кафедре технологии животноводства, кафедре биологической химии, физики и математики, в межкафедральной лаборатории иммунологии и биотехнологии федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана», в отделе агробиологических исследований «Татарского научно-исследовательского института сельского хозяйства» – обособленного структурного подразделения федерального исследовательского центра «Казанский научный центр Российской академии наук». Научно-хозяйственный опыт проходил на базе СХПК «Племенной завод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан.

Общая схема исследования представлена на рисунке 1.

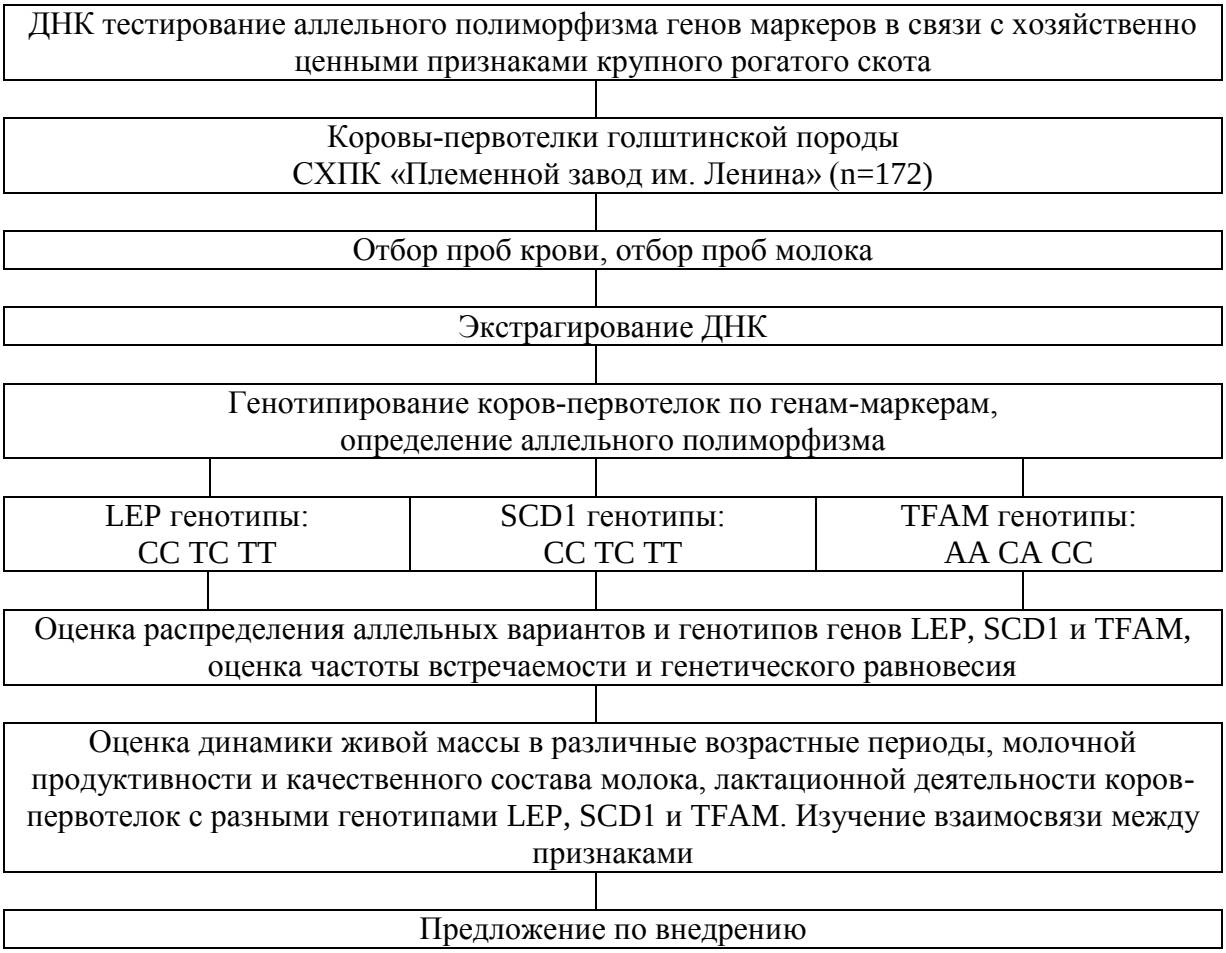

Рисунок 1 – Схема исследования

Анализ происхождения, физического развития, живой массы, молочной продуктивности и лактационной деятельности опытных животных производился по

данным, полученным из официальной электронной картотеки о стаде «СЕЛЭКС 5.63» (АРМ Плинор, Россия).

Анализ качественного состава молока исследуемой группы животных (массовая доля жира, массовая доля белка, СОМО) производили на приборе «Клевер-2М» (Бомер, Россия) в соответствии с инструкциями производителя.

Анализ жирнокислотного состава молочного жира проводили на основании данных, полученных путем исследования проб молока изучаемого поголовья голштинского скота на газовом хроматографе «Clarus 500GC» (PerkinElmer, США). Отбор проб молока для проведения этого анализа осуществлялся во время контрольных доек один раз в сезон (4 раза за лактацию) в пробирки объемом 50 мл (Axygen, США).

2.1.1 Порядок и условия проведения ДНК-тестирования крупного рогатого скота по генам LEP, SCD1 и TFAM

В ходе реакций использовались соответствующие комплекты олигонуклеотидных праймеров:

для гена LEP – F1: 5’ – GAC GAT GTG CCA CGT GTG GTT TCT TCT GT – 3’ (29 п.о.), R1: 5’ – CGG TTC TAC CTC GTC TCC CAG TCC CTC C – 3’ (28 п.о.), F2: 5’ – TGT CTT ACG TGG AGG CTG TGC CCA GCT – 3’ (27 п.о.), R2: 5’ – AGG GTT TGG GTG TCA TCC TGG ACC TTT CG – 3’ (29 п.о.);

для гена SCD1 – F: 5’ – ATG TAT GGA TAC CGC CCT TAT GAC – 3’ (27 п.о.), R: 5’ – TTC TGG CAC GTA ACC TAA TAC CCT AAG C – 3’ (28 п.о.);

для гена TFAM – F: 5’ – GTT GTT GCA GAA ATC AGC TAA AAT G – 3’ (25 п.о.), R: 5’ – CAT CCA CTG AGA CTA TCG CTG ACC T – 3’ (26 п.о.).

Амплификация фрагментов осуществлялась на программируемых термоциклерах «T 100 Thermal Cycler» и «My Cycler» (BIO RAD, США) при оптимальных температурно временных режимах, разработанных для каждого отдельно комплекта праймеров.

Расщепление полученных ПЦР-проб выполнялось реакционной смесью с эндонуклеазой рестрикции *Fsp4H I* для гена SCD1 (СибЭнзим, Россия), *Hae* III для гена TFAM (СибЭнзим, Россия), вносимой конечным объемом 5 мкл в пробирки с амплификатами. Гидролиз образцов осуществляли при температуре 37 °С в течение

16 ч. Полученные ПДРФ-фрагменты подвергли электрофоретическому разделению в агарозном 3% ном геле при напряженности поля 20 В/см в течение 25 минут в присутствии 1% го этидиума бромида в 1хТВЕ буфере. Визуализацию, видеофиксацию и документирование осуществляли при помощи УФ-трансиллюминатора и системы Gel&Doc (BIO RAD, США). Идентификацию генотипов определяли по выявляемому полиморфизму последовательностей ДНК.

Вариационно статистический анализ результатов исследований проводили биометрическим методом по Е.К. Меркурьевой (1977). Коэффициент корреляции, критерии достоверности разницы между группами рассчитывался по методикам Н.А. Плохинского (1969). Обработка данных совершалась в программе MS Excel, с использованием формул биометрического анализа и вариационной статистики. Достоверность проверялась согласно критерию *t*-Стьюдента.

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Оценка полиморфизма генов LEP, SCD1 и TFAM в татарстанской популяции крупного рогатого голштинской породы

По данным детекции ДНК 172 коров-первотелок было установлено, что исследуемое поголовье является полиморфным по генам лептин, стеарил-КоА десатураза и фактор транскрипции А митохондрий. Частота встречаемости аллелей и генотипов по указанным генам приведена в таблице 1. По гену SCD1 в ожидаемом распределении наблюдается незначительное нарастание гетерозиготности, по генам LEP и TFAM идет небольшое смещение в сторону гомозиготных генотипов.

Таблица 1 – Частота встречаемости аллелей и генотипов

Ген	N=172	Генотип						Частота аллелей		χ^2
		CC(AA)		*TC(CA)*		*TT(CC)*				
		n	%	n	%	n	%	*C*	*T*	
LEP	f_o	61	35,5	90	52,3	21	12,2	0,616	0,384	1,95
	f_e	65	38,0	82	47,3	25	14,7			
SCD1	f_o	67	39,0	73	42,4	32	18,6	0,602	0,398	2,25
	f_e	62	36,2	83	47,9	27	15,9			
TFAM	f_o	43	25,0	105	61,0	24	14,0	0,555	0,445	9,58**
	f_e	53	30,8	85	49,4	34	19,8			

** – $P \leq 0,01$

Дальнейшее исследование ассоциаций полиморфизма генов LEP, SCD1, TFAM проводилось с учетом выявленного того или иного генотипа.

2.2.2 Изучение полиморфизма гена LEP и его ассоциаций с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота голштинской породы

2.2.2.1 Ассоциация полиморфизма гена LEP динамикой живой массы коров-первотелок

Анализ динамики живой массы показал, что в одних и тех же условиях кормления, животные с генотипом CC превосходили своих сверстниц с другими генотипами по показателям, характеризующим живую массу. При рождении достоверное преобладание по живой массе этой группы над особями с генотипом TT составило 3,0 кг (или 9,3%; P ≤ 0,05). Во все последующие контрольные взвешивания характер влияния сохранился. В 6 месяцев тенденция составила между нетелями с генотипами TT и TC 6,1 кг (или 3,5%), а TT и CC – 10,6 кг (или 6,1%). Разница живой массы телок с генотипом LEP^{CC} в возрасте 12 месяцев над живой массой телок с генотипами LEP^{TC} и LEP^{TT} была 12,0 кг (3,8%; P ≤ 0,01) и 16,5 кг (5,2%; P ≤ 0,001) соответственно. В 18 месяцев эти животные также занимали первое место, отставание гетерозиготных животных находилось на уровне 15,7 кг (3,6%; P ≤ 0,01), а TT – 29,7 кг (6,9%; P ≤ 0,01) соответственно. К моменту первого отела разрыв по этому показателю уменьшился, но тенденция осталась.

2.2.2.2 Ассоциация полиморфизма гена LEP с молочной продуктивностью и лактационной деятельностью коров-первотелок

Исследования молочной продуктивности в разрезе полиморфизма гена LEP, представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Показатели молочной продуктивности коров-первотелок с различными генотипами гена лептин (LEP)

Показатель	Генотип		
	CC (n = 61)	*TC* (n = 90)	*TT* (n = 21)
Удой за 305 дней, кг	7073,5±117,4	6859,2±139,4	7532,6±235,7**
Массовая доля жира, %	3,92±0,09	3,79±0,07	3,96±0,11
Выход молочного жира, кг	277,3±7,1	260,0±6,8	298,3±11,1**
Массовая доля белка, %	3,39±0,04	3,34±0,02	3,35±0,14
Выход молочного белка, кг	239,8±5,5	229,1±5,3	252,3±9,8**
Суммарный выход мол. жир+мол. белок, кг	517,1±10,8	489,1±11,1	550,6±18,7**
Сухой обезжиренный молочной остаток, %	8,85±0,04	8,78±0,03	8,82±0,07
Индекс молочности, кг	1349,4±29,0	1326,2±28,9	1468,3±54,3***
Коэффициент устойчивости лактации, %	89,5±1,8	94,1±1,9	91,5±3,8
Коэффициент полноценности лактации, %	76,5±1,3*	75,5±1,0	79,9±1,7*
Коэффициент спадаемости лактации, %	5,26±0,02***	5,35±0,02***	4,65±0,02

* – P ≤ 0,05; ** – P ≤ 0,01; *** – P ≤ 0,001

Преимущество ТТ особей над животными с генотипом ТС составило по удою на 673,4 кг (8,9%; Р ≤ 0,01), по массовой доле жира на 0,17%, выходу молочного жира на 38,3 кг (12,8%; Р ≤ 0,05), по выходу молочного белка на 23,2 кг (9,2%; Р ≤ 0,05). По анализу суммарного выхода молочного жира и молочного белка первотелки с генотипом ТТ имели достоверно лучший результат над сверстницами с генотипом ТС на 61,5 кг (11,2% ; Р ≤ 0,01), а над группой с генотипом СС – 33,5 кг (6,1%).

Коровы-первотелки с генотипом ТТ обладают высоким индексом молочности, превышающим меньшее значение по опытному стаду на 142,1кг (Р ≤ 0,05).

Животные с генотипом LEP^{TT} демонстрируют высокий удой (рисунок 2) на протяжении пяти месяцев лактации (со 2 по 6-й), пик приходится на третий месяц после отела (815,8 кг). Похожая тенденция по этому показателю наблюдается у первотелок с генотипом LEP^{CC}, но протяженность высокой молочной продуктивности меньше – четыре месяца, пик их продуктивности отмечен во втором месяце лактации (772,9 кг). Невысокие показатели по стаду установлены у особей с гомозиготным генотипом LEP^{TC}.

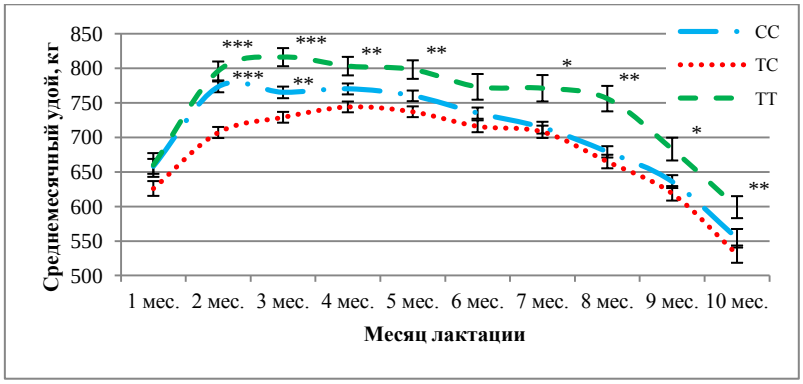

Рисунок 2 – Лактационные кривые молочной продуктивности коров-первотелок с разными генотипами гена LEP (* – Р ≤ 0,05; ** – Р ≤ 0,01; * – Р ≤ 0,001)**

Установлено, что на протяжении всей лактации стабильное превосходство по удою закрепилось за первотелками с генотипом ТТ, худшие показатели установлены у животных с генотипом ТС, особи с генотипом СС отличились средними результатами. О чем свидетельствует коэффициент спадаемости лактации, отраженный в таблице 13. У группы особей с генотипом LEP^{TT} этот показатель достоверно ниже значения у групп LEP^{TC} и LEP^{CC} на 0,70 и 0,61 % (Р ≤ 0,001) соответственно.

Наибольшая разница по количеству полученного среднемесячного молока во 2, 3 и 8 месяцах лактации отмечено у особей с генотипом LEP^{TT}. Достоверное преимущество между группами по удою составила: во второй месяц между ТТ и СС – 66,0 кг (8,3%; $P \leq 0,01$), ТТ и ТС 89,2 кг (11,2%; $P \leq 0,01$); в третий месяц между ТТ и ТС – 87,0 кг (10,7%; $P \leq 0,01$); в восьмой месяц между ТТ и ТС – 90,7 кг (12,0%; $P \leq 0,05$).

Значение коэффициента устойчивости лактации в нашей выборке находятся на высоком уровне у всех первотелок. Наиболее полноценная лактация наблюдается у особей с гомозиготным генотипом ТТ. Достоверное преимущество между группами составила: ТТ и СС – 3,4% ($P \leq 0,05$), а ТТ и ТС – 4,4%.

2.2.2.3 Взаимосвязь между хозяйственно-полезными признаками коров-первотелок с разными генотипами гена LEP

Все группы особей характеризуются очень слабой отрицательной корреляцией между такими показателями как удой и массовая доля жира (0,011…0,109). Положительная умеренная корреляция зафиксирована у представителей всех генотипов между удоем и массовой долей белка (0,235…0,316), имеющая статистическую значимость ($P \leq 0,01$) у животных с генотипом LEP^{TC}.

Коровы-первотелки с генотипами СС и ТС имеют умеренную достоверную взаимосвязь между уровнем удоя и живой массой в 18 месяцев – $r = 0,303$ ($P \leq 0,05$) и $r = 0,302$ ($P \leq 0,01$), а с генотипом ТТ этот показатель чуть выше (0,365), но без статистической значимости. У субпопуляции с генотипом СС живая масса при первом осеменении положительно связана с удоем за 305 дней первой лактации (0,243; $P \leq 0,05$). Однако показатель живой массы в это же время имеет достоверно отрицательное слабое влияние на сервис-период первотелок с генотипами ТС и ТТ – $r = 0,146$ ($P \leq 0,001$) и $r = 0,107$ ($P \leq 0,05$) соответственно.

Слабая отрицательная взаимосвязь между удоем в первую лактацию и сервис-периодом наблюдается у особей с гомозиготным генотипом ТТ (0,405; $P \leq 0,05$). Этот же коэффициент, но с положительным значением установлен у их сверстниц с гетерозиготным генотипом ТС (0,247; $P \leq 0,05$). Достоверный коэффициент корреляции, имеющий среднюю положительную взаимосвязь по всем исследуемым

генотипам, отмечен между живой массой при первом осеменением и возрастом первого осеменения 0,505 0,613 (P ≤ 0,01…0,001).

Наблюдается высокая положительная статистически значимая корреляция между содержанием в молоке СОМО и массовой долей белка (0,600 0,788; P ≤ 0,001). Так же положительно взаимосвязаны друг с другом и оказывают умеренное влияние показатели СОМО и суммарный выход молочного жира и белка. Коэффициент корреляции по изучаемому поголовью составил: у первотелок генотипом LEP^{TC} – r = 0,403 (P ≤ 0,001), с генотипом LEP^{CC} – r = 0,306 (P ≤ 0,05), с генотипом LEP^{CC} – r = 0,367. Сопряженность СОМО с другими показателями молочной продуктивности статистически значимое значение приобретает только у особей с гетерозиготным генотипом ТС r = 0,218 и r = 0,249 соответственно (P ≤ 0,05).

2.2.3 Изучение полиморфизма гена SCD1 и его ассоциаций хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота голштинской породы

2.2.3.1 Ассоциация полиморфизма гена SCD1 динамикой живой массы коров-первотелок

Животные с генотипом $SCD1^{TT}$ при рождении имели наименьшую живую массу – 29,9 кг, отставая от животных с генотипами $SCD1^{TC}$ и $SCD1^{CC}$ на 1,6 кг и 1,5 кг (P ≤ 0,05) соответственно, но на протяжении последующих контрольных измерений эта группа особей обладала наилучшими показателями живой массы. В первый отел преимущество по живой массе группы животных с генотипами ТТ и ТС над сверстницами с генотипом СС достоверно различалось на 14,8 кг (2,8%; P ≤ 0,05) и 13,4 кг (2,5%; P ≤ 0,05) соответственно.

2.2.3.2 Ассоциация полиморфизма гена SCD1 с молочной продуктивностью и лактационной деятельностью коров-первотелок

Достоверная разница между содержанием массовой доли жира в молоке (таблица 3) у особей по локусу SCD1 *Fsp4H* I составила: ТТ к СС – 0,32% (P ≤ 0,05) и ТТ к ТС – 0,40% (P ≤ 0,01). Эта же группа животных имела тенденцию в преимуществе по выходу молочного жира: ТТ к СС – 13,1 кг (4,6%) и ТТ к ТС – 23,8 кг (8,4%). По остальным показателям (удой, массовая доля белка, выход молочного белка) лучшие данные зафиксированы у коров-первотелок с гомозиготным генотипом СС, но без статистически значимой разницы.

Таблица 3 – Показатели молочной продуктивности коров-первотелок с различными генотипами гена стеарил-КоА десатуразы (SCD1)

Показатель	Генотип		
	CC (n = 67)	*TC* (n = 73)	*TT* (n = 32)
Удой за 305 дней, кг	7052,8±140,2	7027,1±133,6	6920,9±238,0
Массовая доля жира, %	3,78±0,08	3,70±0,06	4,10±0,13*,**
Выход молочного жира, кг	266,6±7,9	260,0±6,5	283,8±10,4
Массовая доля белка, %	3,40±0,03	3,35±0,03	3,30±0,04
Выход молочного белка, кг	239,8±5,5	235,4±5,6	228,4±9,2
Суммарный выход мол. жир+мол. белок, кг	506,4±12,4	495,4±11,1	512,2±18,3
Сухой обезжиренный молочный остаток, %	8,84±0,04	8,82±0,03	8,73±0,05
Индекс молочности, кг	1382,2±31,2	1332,2±27,7	1318,9±53,2
Коэффициент устойчивости лактации, %	92,9±1,8	93,1±2,2	88,5±2,8
Коэффициент полноценности лактации, %	78,4±1,1**	74,7±0,9	75,9±2,1
Коэффициент спадаемости лактации, %	6,38±0,03***	4,00±0,01	6,37±0,03**

* – P ≤ 0,05; ** – P ≤ 0,01; *** – P ≤ 0,001

Из графиков лактационных кривых на рисунке 3 видно, что наивысший удой, зафиксирован в 4-й месяц у коров-первотелок с генотипом стеарил-КоА десатуразы СС, а так же сравнительно высокий удои в 5 и 6-й месяц.

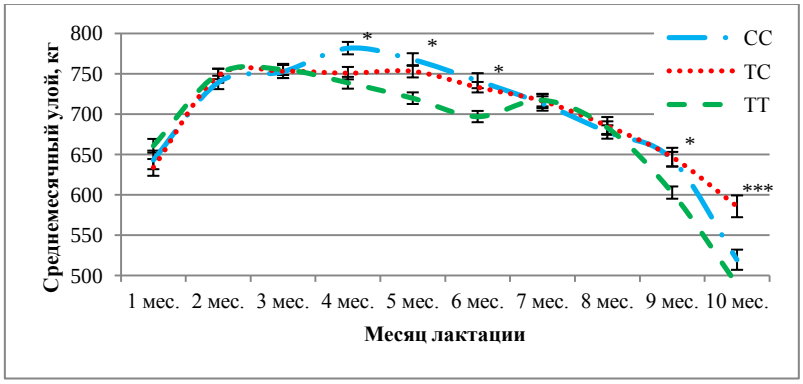

Рисунок 3 – Лактационные кривые молочной продуктивности коров-первотелок с разными генотипами гена SCD1 (* – P ≤ 0,05; * – P ≤ 0,001)**

На основании данных о наивысшем суточном удое за каждый месяц лактации, был рассчитан коэффициент полноценности лактации для каждого из выявленных генотипов: СС – 78,4%, ТС – 74,7% и ТТ – 75,9%. Достоверная разница по этому показателю между оцениваемыми субпопуляциями СС и ТС составила 3,7% (P ≤ 0,01), а между группами СС и ТТ – 2,5%. Особи с генотипом ТС отличаются низким коэффициентом спадаемости лактации, достоверное преимущество относительно групп $SCD1^{TT}$ и $SCD1^{CC}$ составило 2,37% (P ≤ 0,01) и 2,38% (P ≤ 0,001).

2.2.3.3 Ассоциация полиморфизма гена SCD1 с жирнокислотным составом молока

По нашим данным, достоверная разница в содержании лауриновой (С12:0) насыщенной жирной кислоты в молоке животных с генотипом ТС и молоком групп особей, имеющих гомозиготные генотипы СС и ТТ, составила 0,20% (Р ≤ 0,05) и 0,23% (Р ≤ 0,05) соответственно (Таблица 4).

Таблица 4 – Содержание жирных кислот в молочном жире молока коров-первотелок с разными генотипами SCD1

Жирная кислота (ЖК)	Генотип			Допустимое содержание ЖК, %
	CC (n = 67)	*TC* (n = 73)	*TT* (n = 32)	
Лауриновая С12:0	3,34±0,06	3,54±0,05*	3,31±0,08	2,0-4,4
Миристиновая С14:0	12,85±0,09*	12,61±0,09	12,53±0,12	8,0-13,0
Миристолеиновая С14:1	1,14±0,01	1,15±0,01	1,19±0,02*	0,6-1,5
Пальмитиновая С16:0	27,52±0,16**	27,43±0,15*	26,88±0,18	21,0-33,0
Пальмитолеиновая С16:1	1,79±0,01	1,81±0,01	1,84±0,02*	1,5-2,4
Стеариновая С18:0	8,50±0,16	8,75±0,14	8,63±0,17	8,0-13,5
Олеиновая С18:1	21,00±0,23	21,81±0,23	23,06±0,24***	20,0-32,0
Линолевая С18:2 (CLA)	2,84±0,04	2,88±0,03	2,99±0,05*	2,2-5,5
Линоленовая С18:3 (CLA)	0,40±0,01	0,41±0,01	0,41±0,02	0-1,5

* – Р ≤ 0,05; ** – Р ≤ 0,01; *** – Р ≤ 0,001

Животные с генотипом СС гена SCD1 отличались более высоким содержанием миристиновой (С14:0) насыщенной жирной кислоты, различие по этому показателю между СС особями и первотелками с генотипом ТТ зафиксировано на уровне 0,32% (Р ≤ 0,05). Большое содержание пальмитиновой (С16:0) насыщенной жирной кислоты так же наблюдается в молочном жире особей с генотипами СС и ТС. Разрыв по этому признаку составил 0,64% (Р ≤ 0,01) между животными с генотипами СС и ТТ, и 0,55% (Р ≤ 0,05) между животными с генотипами ТС и ТТ.

Массовая доля от общего числа жирных кислот в молочном жире коровьего молока ТТ особей достоверно превышала показатели, полученные при исследовании молока первотелок с генотипом СС на 0,05% (Р ≤ 0,05) по миристолеиновой, 0,05% (Р ≤ 0,05) по пальмитолеиновой, 2,06% (Р ≤ 0,001) по олеиновой и 0,15% (Р ≤ 0,001) по конъюгированной линолевой жирным кислотам. По содержанию олеиновой полиненасыщенной жирной кислоты существенное различие отмечено так же между группами животных с генотипами ТТ и ТС – 1,25% (Р ≤ 0,001).

Соотношение жирных кислот олеиновая/миристиновая между животными с генотипами ТТ и СС составило 0,21 (Р ≤ 0,001), между животными с генотипами ТТ и ТС 0,11 (Р ≤ 0,05); соотношение кислот пальмитиновая/лауриновая и стеариновая/лауриновая у особей с генотипами ТТ и ТС составило 0,37 (Р ≤ 0,01) и 0,14 (Р ≤ 0,05) соответственно. Преимущество по индексу десатурации группы животных ТТ-типа и особей с генотипом СС составило 0,05 (Р ≤ 0,05), а с первотелками, имеющими гетерозиготный генотип ТС – 0,04.

2.2.3.4 Взаимосвязь между хозяйственно-полезными признаками коров-первотелок с разными генотипами гена SCD1

Корреляция для показателей молочной продуктивности (удой и массовая доля белка, удой и содержание обезжиренного молочного остатка) имеют очень слабую, но положительную взаимосвязь между собой (0,212…0,353; Р ≤ 0,05) в анализируемой популяции. А удой и массовая доля жира показали отрицательный результат у животных с генотипами $SCD1^{TC}$ (0,048) и $SCD1^{TT}$ (0,385; Р ≤ 0,05) и сравнительно невысокий, но положительный у $SCD1^{CC}$ r = 0,113.

Для животных с различными генотипами коэффициент корреляции между возрастом и живой массой при первом плодотворном осеменении варьировал от r = 0,412 (Р ≤ 0,01) у $SCD1^{TT}$до r = 0,583 и r = 0,674 (Р ≤ 0,001) у $SCD1^{CC}$ и $SCD1^{TC}$ соответственно.

Протяженность сервис-периода и живая масса при первом отеле оцениваемого поголовья также находятся в положительной слабой (0,212) и умеренной взаимосвязи (0,331…0,358; Р ≤ 0,01) во всех группах особей. Статистически значимые результаты отмечены у животных с гомозиготными СС и ТТ генотипами соответственно. Значение для показателей живой массы в 18 месяцев и удоем в 1-ю лактацию у животных разных генотипов варьировало от r = 0,206 до r = 0,423 (Р ≤ 0,01).

Характер среднего по степени влияния между содержанием СОМО и массовой долей белка наблюдается у гетерозиготных особей (0,519; Р ≤ 0,001), высокого у первотелок с генотипами $SCD1^{CC}$ – r = 0,853 (Р ≤ 0,001), $SCD1^{TT}$ – r = 0,783 (Р ≤ 0,001). Полученные данные по взаимосвязи суммарного выхода молочного жира и белка с СОМО приобрели следующие значения для различных генотипов гена SCD1: СС – r = 0,463 (Р ≤ 0,001), ТС – r = 0,258 (Р ≤ 0,01), ТТ – 0,392 (Р ≤ 0,01).

2.2.4 Изучение полиморфизма гена TFAM и его ассоциаций с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота голштинской породы

2.2.4.1 Ассоциация полиморфизма гена TFAM динамикой живой массы коров-первотелок

По анализу динамики живой массы в различные возрастные периоды (6, 12 и 18 месяцев), за исключением момента первого отела, выгодно отличались первотелки с генотипом АА. Во время взвешивания после отела статистически значимое преимущество закрепилось за группой особей с генотипом СС. Разница между этими животными и сверстницами с другими генотипами составила: СС и АА – 16,9 кг (3,2%; Р ≤ 0,05), СС и СА – 3,8 кг (0,7%), а СА и АА – 13,1 кг (2,5%).

2.2.4.2 Ассоциация полиморфизма гена TFAM с молочной продуктивностью и лактационной деятельностью коров-первотелок

Наибольший удой за первую лактацию получен от коров-первотелок с генотипом $TFAM^{AA}$ (Таблица 5). Незначительное преимущество по отношению к другим группам составило: АА и СА – 314,1 кг (4,3%), АА и СС – 188 кг (2,3%).

Таблица 5 – Показатели молочной продуктивности коров-первотелок с различными генотипами гена TFAM

Показатель	Генотип		
	AA (n=43)	*AC* (n=105)	*CC* (n=24)
Удой за лактацию (305 дней), кг	7235,3±164,0	6921,2±111,2	7047,3±303,2
Массовая доля жира, %	3,72±0,10	3,86±0,06	4,02±0,20
Выход молочного жира, кг	269,2±9,7	267,2±5,8	283,3±13,8
Массовая дола белка, %	3,46±0,03**	3,34±0,03	3,30±0,04
Выход молочного белка, кг	250,3±6,6*	231,2±4,6	232,7±11,1
Суммарный выход мол. жир+мол. белок, кг	519,5±14,4	498,4±9,6	516,0±21,8
Сухой обезжиренный молочный остаток, %	8,87±0,03*	8,78±0,03	8,81±0,06
Индекс молочности, кг	1426,6±41,7*	1321,8±23,3	1335,7±59,6
Коэффициент устойчивости лактации, %	95,3±2,4**	91,9±1,8	87,5±1,9
Коэффициент полноценности лактации, %	74,8±1,6	77,4±0,8	74,9±2,2
Коэффициент спадаемости лактации, %	6,27±0,03***	5,39±0,02**	3,99±0,02

* – Р ≤ 0,05; ** – Р ≤ 0,01; *** – Р ≤ 0,001

Разница АА-животных с первотелками генотипа СС, имеющими наименьшие показатели, зафиксирована на уровне: 0,16% (Р ≤ 0,01) по массовой доле белка и 17,6 кг (7,0%; Р ≤ 0,05) по выходу молочного белка. По индексу молочности различие между группами особей $TFAM^{AA}$ и $TFAM^{CA}$ достигло 104,8 кг (Р ≤ 0,05). Содержание в молоке СОМО достоверно преобладает у группы животных с генотипом $TFAM^{AA}$, разница с субпопуляцией, имеющей генотип СА составила 0,09% (Р ≤ 0,05).

Существенное преимущество по устойчивости лактации на протяжении всего периода закрепилось за первотелками с генотипом АА (95,3%). Разница по этому показателю между особями с генотипами АА и СС составила 7,8% (Р ≤ 0,01), АА и СА – 3,4% (Рисунок 3).

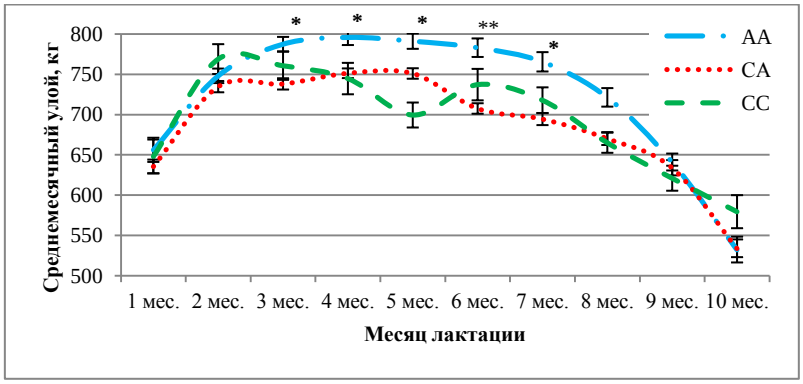

Рисунок 4 – Лактационные кривые молочной продуктивности коров-первотелок с разными генотипами гена TFAM (* – Р ≤ 0,05; ** – Р ≤ 0,01)

Превосходство между группами особей с различными генотипами TFAM по среднемесячному удою составило: в третьем месяце между АА и СА – 49,3 кг (6,5%; Р ≤ 0,05); в четвертом месяце между АА и СА 44,5 кг (5,6%; Р ≤ 0,05), АА и СС – 51,1 кг (6,4%); в пятом месяце между АА и СС – 91,6 кг (11,6%; Р ≤ 0,01); в шестом месяце между АА и СА – 75,4 кг (9,6%; Р ≤ 0,05); в седьмом между АА и СА – 71,0 кг (9,3%; Р ≤ 0,05).

2.2.4.3 Взаимосвязь между хозяйственно ценными признаками коров-первотелок с разными генотипами гена TFAM

Между удоем и массовой долей жира наблюдается обратная взаимосвязь у коров-первотелок с генотипами $TFAM^{CC}$ (0,392; Р ≤ 0,05), имеющая умеренную силу влияния и АА (0,029) существенно не отличающаяся от нуля. Удой и массовая доля белка, напротив, продемонстрировали достоверную слабую корреляцию по всем генотипированным животным.

Удой и живая масса в 18 месяцев особей различных генотипов гена TFAM, характеризуется положительным коэффициентом корреляции у всех групп, но максимальное значение и статистическая значимость результатов получена лишь в субпопуляции с генотип0м СС r = 0,540 (Р ≤ 0,01). Живая масса при первом отеле и последующий сервис-период так же имеют корреляцию со знаком плюс и (0,265 0,301; Р ≤ 0,05…0,01) у всего стада. Положительная достоверная взаимосвязь

показателей возраста и живой массы первого плодотворного осеменения у первотелок с генотипами АА, СА и СС составила: r = 0,657, r = 0,544 и r = 0,707 (P ≤ 0,001) соответственно.

Анализ показал, что коэффициент корреляции при положительном значении и высокой степенью влияния между содержанием массовой доли белка и сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО) (0,865; P ≤ 0,001) установлен у особей с генотипом $TFAM^{AA}$. Следующими по этому показателю были животные с генотипом $TFAM^{CC}$, а минимальное значение получено их сверстницами с генотипом $TFAM^{CA}$ – равное соответственно 0,717 и 0,650 (P ≤ 0,001).

Все предполагаемые взаимосвязи сопряженных признаков продуктивности у коров-первотелок с гетерозиготным генотипом СА, приобрели положительные значения. Эта же группа продемонстрировала достоверную зависимость СОМО с удоем (0,197; P ≤ 0,05), массовой долей жира (0,337; P ≤ 0,01), суммарным выходом молочного жира и белка (0,427; P ≤ 0,001).

2.2.5 Оценка частоты встречаемости комплексных генотипов генов LEP, SCD1 и TFAM

Исследование показало, что наше поголовье (n = 172) представлено особями 25 комплексными вариантами генотипов изучаемых генов LEP/SCD1/TFAM из 27 возможных. Анализ структуры популяции показал, что из 172 опытных животных, наиболее часта встречаемая комбинация генотипов – ТС/ТС/СА (25 гол. или 14,4%), что является ожидаемым результатом, так как в исследуемом поголовье максимальное количество особей по каждому отдельно взятому гену являются обладателями гетерозиготного генотипа – LEP^{TC}, $SCD1^{TC}$ и $TFAM^{CA}$. На втором месте по количеству (21 гол. или 12,1%) зафиксированы особи, имеющие комплексный генотип ТС/СС/СА. Следующие по численности группы животных насчитывают по 15 гол. (8,7%) – СС/СС/СА и СС/ТС/СА.

Остальные комбинации генотипов генов LEP/SCD1/TFAM получили следующее распределение: ТС/СС/АА – 14 гол. (8,0%), СС/ТТ/СА – 10 гол. (5,8%), ТС/ТС/АА – 8 гол. (4,6%), ТС/ТТ/СА – 7 гол. (4,0%), ТТ/ТС/СА и ТС/СС/СС – 6 гол. (3,6%), СС/ТС/АА и СС/ТС/СС – 5 гол. (2,9%), СС/СС/АА и ТС/ТТ/АА – 4 гол.

(2,3%), CC/TT/CC, TC/TC/CC, TT/CC/CA, TT/TC/CC и TT/TT/CA – 3 гол. (1,8%) соответственно.

Наименьшее количество животных отмечается среди обладателей гомозиготных комплексных генотипов генов LEP/SCD1/TFAM. По результатам анализа минимальный процент встречаемости (менее 1%) наблюдается у особей с комплексным генотипом TT/TT/AA – 1 гол., а так же по 2 гол. (1,2%) в субпопуляциях с сочетаниями CC/CC/CC, CC/TT/AA, TT/CC/AA и TC/TT/CC. Не встречаются в изучаемой популяции первотелки с сочетаниями генотипов TT/CC/CC и TT/TT/CC.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании вышеизложенного и обобщения данных, полученных в ходе исследования, можно сделать следующие выводы:

1. Апробированные способы ПЦР-диагностики для генотипирования крупного рогатого скота по локусам генов LEP, SCD1 и TFAM являются приемлемыми для правильной идентификации аллелей и генотипов исследуемых генов.

2. В популяции первотёлок голштинской породы частота встречаемости аллельных вариантов и генотипов по генам-маркерам составила: LEP^{C} – 0,616, LEP^{T} – 0,384, LEP^{CC} – 35,5%, LEP^{TC} – 52,3%, LEP^{TT} – 12,2%; $SCD1^{C}$ – 0,602, $SCD1^{T}$ – 0,398, $SCD1^{CC}$ – 39,0%, $SCD1^{TC}$ – 42,4%, $SCD1^{TT}$ – 18,6%; $TFAM^{A}$ – 0,555, $TFAM^{C}$ – 0,445, $TFAM^{AA}$ – 25,0%, $TFAM^{CA}$ – 61,0%, $TFAM^{CC}$ – 14,0%, соответственно.

3. Наибольшую живую массу в разные возрастные периоды имели тёлки голштинской породы с генотипами LEP^{CC}, $SCD1^{TT}$ и $TFAM^{AA}$ по сравнению с аналогами других генотипов. Голштинские первотелки с генотипом LEP^{TT} имели более высокие удои 7532,6 кг суммарный выход молочного жира и белка 550,6 кг; особи с генотипами $SCD1^{TT}$ и $TFAM^{AA}$ выгодно отличались по массовой доле жира в молоке – 4,10%, и по массовой доле белка в молоке – 3,46% по сравнению со сверстницами других генотипов. Наибольшие коэффициенты полноценности лактации были у животных с генотипами LEP^{TT} – 79,9%, $SCD1^{CC}$ – 78,4%, соответственно наименьшие коэффициенты спадаемости лактации имелись у коров с генотипами LEP^{TT} – 4,65%, $SCD1^{TC}$ – 4,00%, $TFAM^{CC}$ – 3,99%.

4. У первотёлок голштинской породы независимо от генотипа по генам LEP, SCD1 и TFAM выявлена средняя и высокая положительная корреляция между живой массой при осеменении – возрастом осеменения, СОМО – массовой долей белка в молоке. Взаимосвязь между другими хозяйственно-полезными признаками была слабой и разной направленности.

5. В популяции голштинских коров из 27 возможных комплексных генотипов генов LEP/SCD1/TFAM встречалось 25 генотипов. Среди данного поголовья наиболее часто встречались комбинации генотипов TC/TC/CA и TC/CC/AA (12,1…14,4 %), при этом встречаемость других генотипов генов LEP/SCD1/TFAM составила 0,6…8,7 %.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПО ПРОИЗВОДСТВУ

На основании проведенных исследований и полученных конечных результатов предлагаем:

для повышения молочной продуктивности, улучшения качественного состава молока и стабилизации лактационной деятельности при отборе и подборе животных использовать особей имеющих желательные генотипы LEP^{TT}, $SCD1^{TT}$ и $TFAM^{AA}$ в популяциях голштинского скота.

СПИСОК НАУЧНЫХ СТАТЕЙ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Сафина, Н.Ю. Влияние генотипов стеарил-КоА десатуразы на энергию роста коров-первотелок голштинской породы / Н.Ю. Сафина, Ю.Р. Юльметьева, Т.М. Ахметов, Ш.К. Шакиров, Ф.Ф. Зиннатова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2017. – Т 231(III). – С. 119-123.*

2. Сафина, Н.Ю. Мониторинг вариабельности аллелей гена лептина (LEP) крупного рогатого скота в зависимости от направления продуктивности / Н.Ю. Сафина // Вестник Казанского ГАУ. – 2017. – № 4(46). – С. 32-36.*

3. Сафина, Н.Ю. Ассоциация полиморфизма гена кандидата лептин с энергией роста и физическим развитием голштинского крупного рогатого скота / Н.Ю. Сафина, Ю.Р. Юльметьева, Т.М. Ахметов, Ш.К. Шакиров, Ф.Ф. Зиннатова // Ветеринарный врач. – 2017. – № 6. – С. 52-56.*

4. Сафина, Н.Ю. Мониторинг полиморфных вариантов гена стеарил-КоА десатуразы (SCD1) крупного рогатого скота в зависимости от направления продуктивности / Н.Ю. Сафина, Ю.Р. Юльметьева, Ш.К. Шакиров, Т.М. Ахметов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2018. – Т 233(I). – С. 136-141.*

5. Сафина, Н.Ю. Характеристика биологической эффективности и полноценности молочной продуктивности голштинских коров-первотелок с разными генотипами лептина (LEP) / Н.Ю. Сафина // Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии. – 2018. – №4 – С. 131-133.*

6. Сафина, Н.Ю. Влияние аллельного полиморфизма гена стеарил-КоА десатуразы (SCD1) на показатели молочной продуктивности голштинского скота / Н.Ю. Сафина, Т.М. Ахметов, Ю.Р. Юльметьева // Материалы Всероссийской научно практической конференции «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК». – Казань: Казанская ГАВМ, 2018. – С. 145-147.

7. Сафина, Н.Ю. Оценка генетического потенциала молочной продуктивности коров-первотелок голштинской породы в ассоциации с разными генотипами лептина (LEP) / Н.Ю. Сафина, Т.М. Ахметов // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Современные научные исследования: актуальные вопросы, достижения и инновации в АПК». – Казань: Казанская ГАВМ, 2018. – С. 148-152.

8. Балакирев, А.Н. Ассоциация полиморфизма гена лептин (LEP) с динамикой роста и молочной продуктивностью коров-первотелок голштинской породы / А.Н. Балакирев, Н.Ю. Сафина, Ю.Р. Юльметьева, Ш.К. Шакиров, Ф.Ф. Зиннатова // Российская сельскохозяйственная Наука. – 2018. – № 4. – С. 46-49.*

9. Balakirev, A.N. Association of leptin gene (LEP) polymorphism with growth rates and milk production in Holstein first calf heifers) / A.N. Balakirev, N.Yu. Safina, Yu.R. Yulmeteva, Sh.K. Shakirov, F.F. Zinnatova // Russian Agricultural Sciences. – 2018. – V. 44(5). – P. 460-464.*

10. Сафина, Н.Ю. Влияние стеарил-КоА десатуразы (SCD1) на динамику роста и молочную продуктивность коров-первотелок голштинской породы / Н.Ю. Сафина, Т.М. Ахметов // Селекция на современных популяциях отечественного

молочного скота как основа импортозамещения животноводческой продукции: материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Белгород: КОНСТАНТА, 2018. – С.132-137.

11. Сафина, Н.Ю. Молочная продуктивность коров-первотелок голштинской породы с разными генотипами лептина (LEP) в зависимости от периода лактации и сезона года / Н.Ю. Сафина, Ш.К. Шакиров, Ю.Р. Юльметьева // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2018. – № 5. – С. 58-64.*

12. Safina, N. Combination of Polymorphism of the TFAM Gene With Growth Dynamics, Milk Productivity and Reproductive Characteristics of Cow Heifers / N. Safina, T. Akhmetov, Sh. Shakirov, R. Khaertdinov, R. Shaidullin, V. Sofronov, N. Danilova // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – 9(6). – P. 1528-1537.**

13. Safina, N. Dynamics of dairy production of heifers of different genotypes of Stearoyl-CoA Desaturase (SCD1) / N. Safina, Sh. Shakirov, F. Zinnatova, Z. Fattakhova, E. Gaynutdinova, L. Shayakhmetova // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – 9(6). – P. 2028 2031.**

14. Юльметьева, Ю.Р. Полиморфизм гена стеарил-КоА десатуразы (SCD1) для локусов количественных признаков молочной продуктивности / Ю.Р. Юльметьева, Н.Ю. Сафина, Г.С. Шарафутдинов, Ш.К. Шакиров // Аграрный научный журнал. – 2018. – №11. – С. 43-45.*

15. Сафина, Н.Ю. Совместимость высокой молочной продуктивности и воспроизводительной способности коров-первотелок голштинской породы в разрезе полиморфизма гена лептин (LEP) / Н.Ю. Сафина, Ш.К. Шакиров, Ю.Р. Юльметьева, Т.М. Ахметов // Ветеринарный врач. – 2018. – № 6. – С. 57-61.*

16. Сафина, Н.Ю. Влияние генетических факторов на молочную продуктивность коров-первотелок голштинской породы / Н.Ю. Сафина, Т.М. Ахметов // «Молодежные разработки и инновации в решении приоритетных задач АПК». Материалы Международной научной конференции студентов, аспирантов и учащейся молодежи. – Казань: Казанская ГАВМ, 2018. – С. 349-352.

* Публикации в изданиях, включенных в перечень рекомендованных ВАК РФ.

** Публикации в изданиях, индексированных в международных базах Web of Science и Scopus.