

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

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

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук,
профессор
Ахметов Тахир Мунавирович

КАЗАНЬ – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

	ВВЕДЕНИЕ.....	5
1	Обзор литературы.....	11
1.1	Применение методов генодиагностики (ДНК-тестирования) в скотоводстве.....	11
1.2	Хозяйственно-полезные признаки крупного рогатого скота, направленные на повышение экономической эффективности молочного скотоводства.....	22
1.3	Ген лептин (LEP) крупного рогатого скота и его влияние на хозяйственно-полезные признаки.....	29
1.4	Ген стеарил-КоА десатураза (SCD1) крупного рогатого скота и его влияние на хозяйственно-полезные признаки.....	35
1.5	Ген фактор транскрипции А митохондрий (TFAM) крупного рогатого скота и его влияние на хозяйственно-полезные признаки...	43
2	ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	49
2.1	Материалы и методы исследований.....	49
2.1.1	Материально-техническое оснащение.....	51
2.1.2	Порядок и условия проведения ДНК-тестирования крупного рогатого скота по генам-маркерам LEP, SCD1 и TFAM.....	52
2.2	РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	59
2.2.1	Оценка полиморфизма гена LEP в татарстанской популяции крупного рогатого скота голштинской породы.....	59
2.2.2	Оценка полиморфизма гена SCD1 в татарстанской популяции крупного рогатого скота голштинской породы.....	61
2.2.3	Оценка полиморфизма гена TFAM в татарстанской популяции крупного рогатого скота голштинской породы.....	63
2.2.4	Изучение полиморфизма гена LEP и его ассоциаций с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота голштинской породы.....	65

2.2.4.1	Ассоциация полиморфизма гена LEP с динамикой живой массы коров-первотелок.....	65
2.2.4.2	Ассоциация полиморфизма гена LEP с молочной продуктивностью и лактационной деятельностью коров-первотелок.....	67
2.2.4.3	Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами гена LEP в разрезе трех лактаций.....	70
2.2.4.4	Взаимосвязь между хозяйственно-полезными признаками коров-первотелок с разными генотипами гена LEP.....	74
2.2.5	Изучение полиморфизма гена SCD1 и его ассоциаций с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота голштинской породы.....	76
2.2.5.1	Ассоциация полиморфизма гена SCD1 с динамикой живой массы коров-первотелок.....	76
2.2.5.2	Ассоциация полиморфизма гена SCD1 с молочной продуктивностью и лактационной деятельностью коров-первотелок	78
2.2.5.3	Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами SCD1 в разрезе трех лактаций.....	81
2.2.5.4	Ассоциация полиморфизма гена SCD1 с жирнокислотным составом молока коров-первотелок.....	83
2.2.5.5	Взаимосвязь между хозяйственно-полезными признаками коров-первотелок с разными генотипами гена SCD1.....	86
2.2.6	Изучение полиморфизма гена TFAM и его ассоциаций с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота голштинской породы.....	88
2.2.6.1	Ассоциация полиморфизма гена TFAM с динамикой живой массы коров-первотелок.....	88
2.2.6.2	Ассоциация полиморфизма гена TFAM с молочной продуктивностью и лактационной деятельностью коров-первотелок	90
2.2.6.3	Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами	

	гена TFAM в разрезе трех лактаций.....	94
2.2.6.4	Взаимосвязь между хозяйственно-полезными признаками коров-первотелок с разными генотипами гена TFAM.....	97
2.2.7	Оценка частоты встречаемости комплексных генотипов генов LEP, SCD1 и TFAM в татарстанской популяции крупного рогатого скота голштинской породы.....	99
3	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	101
	РЕКОМЕНДАЦИИ К ВНЕДРЕНИЮ.....	104
	ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	105
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	106
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107
	ПРИЛОЖЕНИЯ.....	135

ВВЕДЕНИЕ

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 [93]. 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 [40]. 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 [218].

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 [33, 51, 82].

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 [116, 121, 138, 140, 144, 145, 167, 171, 173, 176, 181, 182, 184, 187, 193, 194, 202, 206, 210, 219, 224, 234, 238, 240].

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 [30, 39, 55, 80, 84, 85, 87, 102, 222]. 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 и их ассоциаций 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-первотёлок 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;
- В целом 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;
- Для изученной 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 биологической химии, физики и математики ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ (Казань, 2016-2019 гг.); Международных научно-практических конференциях (Казанская ГАВМ, Казань, 2017 г.; СПб ГАВМ, Санкт-Петербург, 2017 г.; Пенза, 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 Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, и 2 – в журналах, индексируемых 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.

1.1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1.2 Применение методов генодиагностики (ДНК-тестирования) в скотоводстве

Разведение человеком любого вида животных в итоге преследует одну цель – получение и размножение особей с заданными свойствами [34]. Что бы наилучшим образом использовать генетические данные, их необходимо сочетать с традиционными источниками информации.

Ученые давно поняли, что каждый индивид (за исключением идентичных близнецов) генетически уникален. Это относится и к людям, и к животным, и к любому другому живому существу. После того, как в 1953 г. ДНК была идентифицирована, как молекулярная основа генов, стало возможным более подробно проанализировать различие между отдельными экземплярами [41, 233]. Хотя вариации внутри генов между особями одного и того же вида мала, маркеры ДНК, лежащие между генами, имеют гораздо более высокую степень устойчивости.

В 20-40-х гг. XX века С. Райт и Дж. Лаш разработали основы теории селекции, позволяющие проводить анализ наследования количественных признаков, давать прогноз генетическим качествам животных и эффективности селекционных процессов [188, 235]. Использование ДНК-информации в генетической оценке начали применять в конце 90-х – начале 2000-х гг., когда были выпущены первые ген-тесты для крупного рогатого скота [19]. Это сделало возможным повысить точность прогнозирования генетических достоинств потенциальных пар животных. Любые две особи различаются по многим из этих ДНК-маркеров, и, сделав их анализ, можно создать уникальный профиль для каждого отдельного животного.

ДНК-маркеры – это нуклеотидные последовательности ДНК, отличающиеся полиморфизмом и хорошо сцепленные с геном, отвечающим за нужный признак [78]. Роль молекулярных маркеров в современной генетике трудно переоценить. С их помощью составлены подробные молекулярные карты генома человека и

многих видов растений и животных, на которых картированы важнейшие гены, определяющие рост и развитие организмов, морфологические признаки, устойчивость к заболеваниям и другие свойства. Молекулярные маркеры широко используются в популяционной генетике, сравнительной генетике и геномике, в филогенетических исследованиях [94, 95].

Благодаря молекулярным маркерам расширяются возможности генетической диагностики, появляются новые более точные методы паспортизации пород животных и сортов растений [4; 54, 77, 78]. Использование молекулярных маркеров позволяет значительно ускорять процесс селекции, выявлять дефектные гены, ответственные за развитие наследственных болезней и мутаций, диагностирование инфекций [104].

Генодиагностика может использоваться для достижения ряда целей, в т.ч.:

- определение происхождения и создание генетического паспорта животного;
- прижизненная оценка хозяйственно-полезных признаков;
- содействие при отборе животных в группы по направлениям;
- тестирование генетической аномалии на ранней стадии развития;
- выявление инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных;
- проведение эпизоотического мониторинга;
- помощь в подборе пар производителей;
- контроль качества материала, получаемого в ходе селекции;
- отслеживание генетической эволюции пород.

То есть ДНК-тестирование может быть использовано для определения того, является ли животное «носителем» определенного признака, который развивается под влиянием многих генов, взаимодействующих на уровне организма [34]. Большинство признаков экономического значения для молочного скота (удой, содержание массовой доли жира и белка и др.) ограничены по половому признаку и могут быть оценены только у особей женского пола.

Для выявления полиморфизма ДНК на уровне последовательности изначально было предложено три метода:

- 1) рестрикционный анализ (1968 г.);
- 2) секвенирование (1977 г.);
- 3) полимеразная цепная реакция (1983 г.).

В 1962 г. В. Арбером была предложена модель, согласно которой ограничение (рестрикция) осуществляется эндонуклеазами, которые расщепляют молекулы ДНК, не защищенные специфической модификацией [108]. В последствие в 1978 г. В. Арбер Получил Нобелевскую премию за обнаружение рестрикционных ферментов и их применение в молекулярной генетике. Эндонуклеазы рестрикции расщепляют ДНК в специфических участках, обычно в полиндромных последовательностях (Рисунок 1).

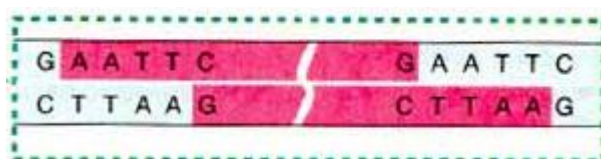


Рисунок 1 – Изолированный участок ДНК

В то же время мутации могут приводить к образованию новых участков, чувствительных к рестриктазе [44]. В результате расщепления фрагменты ДНК, которые были получены от двух генетически различных индивидов, как правило, создают рестрикционные фрагменты разной длины. Описанное действие называется полиморфизм длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) ДНК.

В конце 60-х г. Ф. Сэнгером был разработан способ секвенирования РНК, выделяемой с матрицы ДНК посредством РНК-полимеразы. Секвенированием (от слова *sequence* – последовательность) называют определение порядка элементарных единиц мономеров в полимере, т.е. определение нуклеотидной последовательности. Используя данный метод, в к 1976 г. ученые Ш. Вейсман и У. Фирс определили нуклеотидную последовательность более чем половины молекулы ДНК, длина которой превышает 5200 пар оснований [142, 209]

Следующими этапами становления секвенирования, как метода, были разработки, связанные с усовершенствованиями использования способа прямого

секвенирования ДНК. Первым методом прямого ферментативного секвенирования ДНК стал метод, предложенный Ф. Сэнгером и Д. Коулсоном в 1975 г. В качестве матрицы в реакции полимеразного копирования использовался одноцепочечный фрагмент ДНК, в качестве праймеров – синтетические олигонуклеотиды или природные субфрагменты, получаемые при гидролизе рестрицирующими эндонуклеазами, а в качестве фермента – фрагмент Кленова ДНК полимеразы *I* (*PolI*) из *E.coli* [216]. В 1977 г. автор этого же метода предложил еще один способ ферментативного секвенирования, получивший название метода терминирующих аналогов трифосфатов. Более мощный и более технологичный, этот способ, несколько модифицированный, применяется до сих пор [217]. В 1976 г. А. Максам и У. Гилберт разработали метод секвенирования, основанный на специфической химической деградации фрагмента ДНК, радиоактивно меченного с одного конца [192]. В современном генетическом анализе применяют автоматизированный метод секвенирования, на основе метода ферментативного секвенирования с использованием терминирующих солей. Как и классический вариант Сэнгера, автоматическое секвенирование включает две стадии: проведение терминирующих реакций и разделение продуктов этих реакций с помощью электрофореза [14].

Большое количество инновационных разработок в области молекулярной генетики, направленные на использование крупного рогатого скота, связаны с SNP (single nucleotide polymorphism – однонуклеотидный полиморфизм, или ОНП). Это тестирование основано на изучении мутаций в последовательности ДНК, и представляет возможным идентифицировать уникальный генетический код животного. Однонуклеотидный полиморфизм представляет собой мутацию одной пары основания («точковая мутация»), найденную в ДНК в определенном месте. Если две последовательности ДНК — AAGC(C)TA и AAGC(T)TA — отличаются на один нуклеотид, в таком случае говорят о существовании двух аллелей: С и Т. Хотя это тестирование ищет конкретные изменения в конкретных парах оснований, SNP не могут быть привязаны к определенным генам. Вместо этого SNP-анализ рассматривает области, которые могут быть

связаны или с сегментом ДНК, который кодирует определенный белок, или находится близко к нему.

Полимеразная цепная реакция (ПЦР) на сегодняшний день является самым перспективным методом идентификации маркеров различных генов. Она была изобретена американским ученым Кэри Муллисом в 1983 г., за которую спустя 7 лет он получил Нобелевскую премию. Этот метод позволяет проверить генетический материал, на наличие в его составе участка чужеродной или измененной генетической информации, что используется для получения копий непротяженных участков ДНК исследуемого генетически обусловленного признака, а так же визуализировать (в случае присутствия) такие специфические участки, что и является целью генодиагностики [4]. Это открытие метода полимеразной цепной реакции послужило толчком к активному развитию разнообразных технологий амплификации нуклеиновых кислот. По сути, все методы амплификации имитируют природную возможность репликации ДНК. При этом *in vitro* происходит изолированное умножение гена или его фрагментов (амплификация) в миллионы раз [9, 15]. Широкие возможности, сравнительная дешевизна и простота позволили использовать этот метод генетического анализа в разных областях научных исследований.

На современном этапе развития сельского хозяйства в целом, и отрасли животноводства в частности, целенаправленная селекция на улучшение продуктивности сельскохозяйственных животных невозможна без молекулярно-генетической оценки хозяйственно-полезных признаков, базирующихся на наследственной информации. Применение в селекционно-племенных мероприятиях методов с использованием маркерных генов-кандидатов локусов количественных признаков (ЛКП или QTL – quantitative trait loci) дает возможность выявить их независимо от пола, возраста и физиологического состояния животного. Ген-кандидат – любой ген, который реально может вызывать отличия в наблюдаемых характеристиках животного (например, удое, продукции молочных белков или росте). Кандидатными генами для конкретного признака являются последовательности генов известного биологического

действия, которые участвуют в развитии или в физиологических процессах, ответственных за выражение признака. Такой ген может быть кандидатом, поскольку локализован в определенном хромосомном районе, который предположительно участвует в контроле признака, или считается, что его белковый продукт может прямо принимать участие в формировании признака [67]. Локусы количественных признаков – это генетические локусы, вариация которых на базе разных аллелей ведет к статистически значимым изменениям фенотипического проявления признаков [31], определяемые некоторыми аллелями входящих в них генов, влияющих на ряд признаков, с помощью которых они выявляются [76]. Использование знаний о них позволит ускорить процесс и повысить эффективность работы племенных предприятий по увеличению продуктивности сельскохозяйственных животных. 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 [218].

Генетические маркеры, впервые обозначенные А.С. Серебровским в 1970 г. как «сигнальные гены», детерминируют наследуемый отчетливо выраженный фенотипический признак, различимый у разных особей, который сопряжен с изменчивостью другого качественного или количественного признака [40]. Прогресс в выявлении локусов и хромосомных областей, затрагивающих черты экономического интереса, открывает привлекательные перспективы для улучшения характеристик производства молока в молочном скотоводстве. Выбор с помощью генов, то есть использование функциональных мутаций, непосредственно ответственных за различия в фенотипах, в настоящее время является наиболее эффективным вариантом выбора маркеров. Количество генетических маркеров постоянно растет и насчитывает несколько сотен типов. Применение маркерной технологии в селекции позволяет выявлять генетические

дефекты и прогнозировать генетический потенциал продуктивности животных сразу после рождения [20].

Генетические маркеры ведут себя как менделирующие признаки; другими словами, они подчиняются законам сегрегации и независимого наследования, впервые описанные Менделем [67]. Они могут использоваться не только для оценки генетического разнообразия как внутри породы, так и между видами, но и для изучения географического распределения крупного рогатого скота по всему миру [150].

ДНК-маркеры разделяют на три группы по основному методу анализа: маркеры, исследуемые с помощью блот-гибридизации, ПЦР и ДНК-чипов. Данная классификация, приведенная в таблице 1, отражает процесс «эволюции» маркеров [95]. К классическим методам селекции животных необходимо добавить новые подходы, связанные с достижениями генетики и биотехнологии.

Методы детекции полиморфизма ДНК и типы маркеров:

а) RLFP (restriction fragment length polymorphism) – метод анализа полиморфизма ДНК по длине фрагментов рестрикции (ПДРФ). Он позволяет получить полную генотипическую информацию, то есть определяет в гетерозиготных локусах оба аллеля (явление так называемой «кодминантности»), обеспечивает надежными воспроизводимыми маркерами и используется для локализации важных генов [105]. Однако в сфере идентификации, различения генотипов его почти заменили методы ПЦР-анализа, более простые, быстрые и безопасные в использовании и недорогие, без особых требований к качеству выделенной ДНК [198], а так же комбинированный ПЦР-ПДРФ (PCR-RLFP) метод;

б) AS-PCR (allele-specific polymerase chain reaction) – аллель-специфическая полимеразная цепная реакция [201] представляет собой метод с амплификацией фрагмента, содержащего «точковую мутацию», с использованием специфических для каждого из аллелей праймеров [34];

Таблица 1 – Типы ДНК-маркеров и год их первого упоминания в публикациях
(Е.К. Хлесткина, 2015)

Метод, используемый для анализа	Тип ДНК-маркеров	
	Монолокусные	Мультилокусные
Блот-гибридизация	RFLP (1980) полиморфизм длин рестрикционных фрагментов	Минисателлиты (1985)
Полимеразная цепная реакция	SSR (1989) простые повторяющиеся последовательности (микросателлиты)	RAPD (1990) случайная амплифицированная полиморфная ДНК
	STR (1989) сайт/локус, маркированный нуклеотидной последовательностью	ISSR (1994) межсателлитный полиморфизм
	SSCR (1989) полиморфизм конформации одноцепочечной ДНК	AFLP (1995) полиморфизм длин амплифицированных фрагментов
	CAPS (1993) расщепленные амплифицированные полиморфные последовательности	SSAP (1997) полиморфизм секвенс-специфичной амплификации
	SCAR (1993) амплифицированная область, охарактеризованная нуклеотидной последовательностью	IRAP (2006) полиморфизм амплифицированных последовательностей между ретротранспозонами
ДНК-чипы	SNP (1989) однонуклеотидный полиморфизм	DArT (2001) ДНК-чип технология для изучения разнообразия

в) RAPD (random amplified polymorphic DNA) – метод анализа полиморфизма произвольно амплифицированной ДНК был одним из первых, который позволил проводить филогенетические наблюдения по молекулярно-генетическим данным. Его преимуществом является одновременная детекция полиморфизма нескольких десятков локусов генома, но амплифицированные фрагменты наследуются по доминантному типу, их трудно идентифицировать и локализовать [25]. Поэтому сейчас метод используется преимущественно на предварительных этапах анализа с целью выявления отличительных фрагментов, которые потом конвертируются в специфичные последовательности (sequence characterized amplified region – SCAR) [123];

г) ISSR (inter-simple sequence repeat) – метод анализа полиморфизма ДНК в участках между микросателлитными повторами объединяет полезные качества произвольной амплификации ДНК, в частности многолокусность и специфичной амплификации - стабильность воспроизведения фрагментов. В этом методе, также как и в RAPD, используется один или несколько праймеров длиной 15–24 нуклеотида [60]. Широко используется для различения генотипов, маркирования генов устойчивости и QTL, совместно с методами направленной ПЦР - для развития отбора с помощью маркеров [25];

д) AFLP (amplified fragment length polymorphism) - метод анализа полиморфизма ДНК по длине фрагментов амплификации, несмотря на большую трудоемкость, получил широкое распространение благодаря надёжности и высокой информативности. Эта технология позволяет определять генетические изменения, вызванные точечными мутациями в сайтах рестрикции или в участках посадки праймеров (присутствие или отсутствие в спектре) и небольшими вставками-делециями внутри рестрикционного фрагмента (изменение полосы в спектре) [91]. AFLP-маркеры успешно применяют как для генотипирования, так и для картирования генов и локусов количественных признаков (QTL), а также в молекулярной селекции [231];

е) Маркеры митохондриальной ДНК (мтДНК) особенно подходят для филогенетических анализов. Митохондриальная ДНК передается потомству без изменений, и поэтому число нуклеотидных различий в митохондриальном геноме напрямую определяет генетическое расстояние. Кроме того, он мутирует в 5-10 раз чаще, чем ядерная ДНК, что позволяет изучать различия между домашними и дикими популяциями в течение короткого периода одомашнивания [127].

Все перечисленные маркеры имеют свои преимущества и недостатки. При выборе маркера для исследования стоит обращать внимание на полиморфность, воспроизводимость, кодоминантность (в некоторых случаях важно, чтобы в фенотипе проявлялись все аллели), трудоемкость маркирования и стоимость.

Молекулярно-генетическими методами можно определить различия между животными по многим участками генома (сайтам). Тем самым становится

возможным картирование QTL и генотипирование животных, а так же отбор непосредственно по генотипам, т.е. в рамках традиционной селекции проводить содействующий (дополнительный) отбор по генетическим маркерам – Marker Assisted Selection (MAS – маркер-вспомогательная селекция) [50]. Маркер-вспомогательная селекция опирается на молекулярно-генетические методы анализа, а именно ПЦР-ПДРФ анализ [8]. Развитие биотехнологии в селекционно-племенной работе предполагает контроль и использование генетической изменчивости во всем геноме, применяя методы ПЦР-диагностики.

Геномная селекция (Genomic Selection, GS) – это форма маркерно-вспомогательной селекции, в которой генетические маркеры рассеяны по всему геному и хотя бы один из них сцеплен с QTL [151], позволяющая проводить отбор по генотипу в отсутствие данных о генах, влияющих на признак. Внедрение методов высокопроизводительного генотипирования сельскохозяйственных объектов открыло путь для применения нового метода селекции, основанного на анализе большого числа ДНК-маркеров, равномерно распределенных по геному, – геномной селекции [77].

Наиболее удобным и малобюджетным для идентификации полиморфных вариаций аллелей и генотипов выступает метод ПЦР с последующей рестрикцией продуктов амплификации (ПДРФ). Метод разработан R.K. Saiki с соавт. (1985), а затем вследствие применения термостабильной *Taq*-полимеразы был упрощен и автоматизирован [213, 214]. ПЦР-анализ основан на 3-х этапном циклическом процессе, в результате которого многократно увеличивается количество специфического фрагмента ДНК [22]. При амплификации с помощью ПЦР используют два олигонуклеотидных праймера, фланкирующие интересующий нас участок ДНК. Процесс амплификации заключается в повторяющихся циклах температурной денатурации ДНК, отжига праймеров с комплементарными последовательностями и последующей достройки полинуклеотидных цепей с этих праймеров ДНК-полимеразой [68]. Как правило, полимеразная цепная реакция состоит из 25-40 повторяющихся циклов, каждый из которых состоит из

трех этапов: денатурации ДНК, отжига праймеров и элонгации цепи ДНК (Рисунок 2).

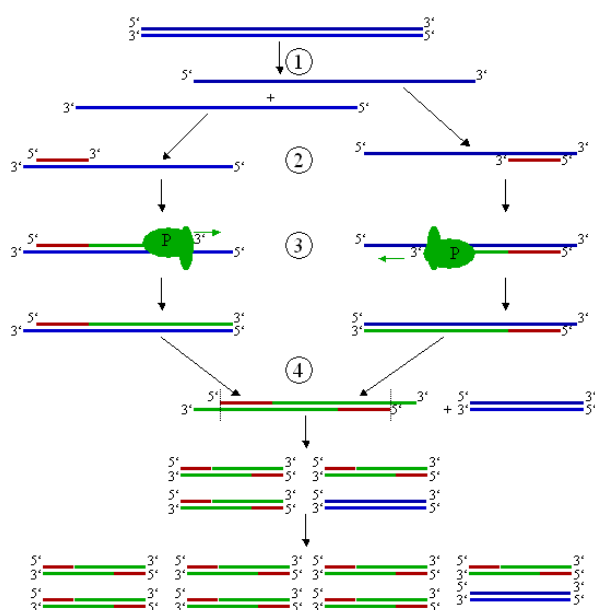


Рисунок 2 – Схематическое изображение первого цикла ПЦР

(1) Денатурация при 94-96°C. (2) Отжиг при 58-68 °C (например). (3) Элонгация при 72 °C (Р – полимеразы). (4) Закончен первый цикл. Две получившиеся ДНК-цепи служат матрицей для следующего цикла, поэтому количество матричной ДНК в ходе каждого цикла удваивается

Серия повторяющихся циклов позволяет получить экспоненциальное накопление фрагмента ДНК. В идеальном случае, наработка специфического фрагмента подчиняется закону 2^n - $2n$ раз, где n – число циклов, а $2n$ – продукт неопределенной длины, полученный в каждом цикле с исходной матрицы ДНК. После проведения 25-30 циклов происходит увеличение фрагмента в 10^6 - 10^8 раз [22].

В дальнейшем полученная ПЦР-проба «разрезается» эндонуклеазой рестрикции на определенное количество фрагментов установленного размера, последующее воздействие электрического тока в агарозном геле на рестрикционные фрагменты разделяет их по молекулярной массе. Молекулярная

масса фрагмента пропорциональна его длине, выраженной в количестве пар нуклеотидов [38].

Исходя из рисунка в визуализированном в УФ-излучении электрофоретического разделения продуктов ПЦР-ПДРФ, можно судить о наличии или отсутствии исследуемого аллеля (генотипа) у особи.

Такое применение результатов исследований на практике и постоянное развитие новых молекулярно-генетических методов тестирования генетических маркеров повышают интенсивность и эффективность отбора.

Таким образом, определение генотипов генов ассоциированных с хозяйственно-полезными признаками и использование их в качестве генетических маркеров позволит прогнозировать интенсивность роста и физического развития молодняка, молочную продуктивность, получать молоко с лучшими технологическими свойствами и успешно вести селекционную работу по улучшению генетического потенциала крупного рогатого скота.

1.1.2 Хозяйственно-полезные признаки крупного рогатого скота, направленные на повышение экономической эффективности молочного скотоводства

У крупного рогатого скота известно около 300 генов, отвечающих за хозяйственно-полезные признаки или врожденные аномалии [34, 38]. На основе достижений молекулярной генетики разработаны эффективные методы идентификации генов-маркеров, которые определяют связь локусов количественных признаков с продуктивностью и заболеваниями животных.

Молочная продуктивность оценивается количеством и качеством молока, получаемого от коровы за определенный промежуток времени. Она зависит от целого комплекса внутренних и внешних факторов. Внешние факторы обуславливаются условиями кормления, содержания и зоной разведения животных, а внутренние факторы – породными особенностями животных и их наследственностью [101]. Среди внутренних факторов, обуславливающих уровень

молочной продуктивности и свойства молока, наряду с биохимическими процессами, протекающими в организме животного, имеют значение наследственные особенности и генетический потенциал животных [83]. Высокопродуктивные животные, от которых можно получить молоко с большим содержанием жира и белка, обладающие хорошими технологическими свойствами – важная задача в селекции молочного животноводства [7, 92].

Состав, технологические и биологические свойства молока находятся в зависимости от породы, условий кормления, стадии лактации и т.д. [3, 6, 18]. Молоко, получаемое от коров разного генотипа, отличается не только составом, но и технологическими и физико-химическими свойствами. Молочные белки – основа для приготовления сыров, производства концентрированных молочных продуктов и сухого молока, поэтому оценка молока по их содержанию очень актуальна [36]. Все белки молока характеризуются наличием генетически обусловленных полиморфных вариантов, отличающихся одной или несколькими аминокислотами. Полиморфизм молочных белков был обнаружен на белковом уровне, а затем, по мере развития молекулярно-генетических методов, на уровне последовательности ДНК соответствующих генов. Генотип животного служит пожизненным маркером, не зависящим от изменения внешних условий и состояния организма [10]. Содержание массовой доли белка в молоке является наследственным признаком, поэтому при оценке крупного рогатого скота по данному показателю придается большое значение. Между удоем и количеством белка в молоке корреляция отрицательная, а между содержанием белка и жира – положительная [48].

Молоко представляет собой сложную дисперсионную систему, при этом молочный жир присутствует в молоке в форме эмульсии (типа масло в воде). Состояние дисперсии молочного жира влияет на оптические, реологические и технологические параметры молока, такие как цвет, вязкость, проводимость, скорость разделения, стабильность эмульсии и пригодность для производства различных молочных продуктов [113]. Жирномолочность коров – первоочередной признак оценки животных по молочной продуктивности. С увеличением

содержания жира в молоке повышается питательная ценность продукта, снижается себестоимость, удешевляется производство молочных продуктов. Жирность молока у различных коров может колебаться в значительных пределах (от 2,5 до 10,5 %). Но жирномолочность в отличие от обильномолочности изменяется в меньшей степени под влиянием внешних условий. Главные факторы, обуславливающие величину жирномолочности, — наследственные породные и индивидуальные особенности животных, и в то же время — уровень и полноценность кормления коров. Важно помнить, чем выше продуктивность животного, тем шире диапазон изменения содержания жира в его молоке [49]. Жирность молока наиболее низкой бывает на 2-3 месяце лактации, затем она повышается, а перед запуском достигает максимума. Содержание белка в течение лактации меняется в той же последовательности, что и содержание жира [47].

По сравнению с другими компонентами молока, состав жирных кислот наиболее подвержен изменениям. Особый интерес представляют взаимосвязи, относящиеся к выработке молока и содержанию массовой доли жира (%), выходу молочного жира (кг) и корреляционные связи удой-жир, а так же соотношение некоторых жирных кислот между собой [215].

Одним из важнейших хозяйственно-биологических показателей, тесно связанным с производительностью сельскохозяйственных животных и оплатой корма, является живая масса. Она характеризует, прежде всего, рост и развитие организма. Процесс роста — увеличение общей массы клеток организма, его тканей и органов. Необходимо что бы молочный скот обладал не только высокой молочной продуктивностью, но и превосходными показателями живой массы. Динамика живой массы за определенные возрастные периоды позволяет оценить скорость роста и развития, являющимися важнейшими хозяйственными признаками.

По данным, полученным более чем 10 лет назад, считалось, что оптимальная живая масса взрослых молочных коров — 600...650 кг. Она обеспечивалась в том случае, если ремонтные телки к возрасту 6 месяцев достигнут живой массы не менее 170 кг, 9 месяцев 230 кг, 12 месяцев — 290 кг, а к

18 месяцам – 400 кг при интенсивности прироста живой массы 600-700 г в сутки [61]. Согласно современным источникам, высокие приросты обоснованно получать в первые месяцы жизни (0-7 мес.), когда идет максимальное развитие всех внутренних органов и систем. Таким образом, оптимальная масса телки в возрасте 6 месяцев – 210 кг (или 30% от живой массы взрослой коровы). Среднесуточные приросты телочек в среднем за период выращивания до периода продуктивности в этом случае должны составлять 750...850 г [101]. Чем больше живая масса коров, тем, как правило, она имеет и более высокий молочный потенциал при прочих равных условиях, поскольку она имеет и большую обменную массу, что определяет уровень обмена веществ и продуктивность животных [52]. В высокопродуктивных стадах с годовым удоем 7 тыс. кг молока и более необходимо иметь коров с живой массой 650...750 кг, что может достигаться с соответствующей системой выращивания ремонтных телок и одновременным отбором коров по удою. Разведение крупных молочных коров позволит решить такие задачи как продуктивное долголетие, улучшение показателей воспроизводства в стадах, сохранение удовлетворительных мясных качеств [101].

Голштинская порода крупного рогатого скота характеризуется большой живой массой с хорошо выраженным молочным типом и крепкой конституцией. Оптимальная живая масса, которую достигают взрослые племенные коровы, составляет 700 кг, а быки-производители – 1200 кг [23]. Удой у голштинских коров при хороших условиях кормления и содержания составляет 8000...10000 кг молока (а иногда и более 15000 кг), при массовой доле жира 3,6...4,0% и белка 3,2% [75, 98, 161].

По интенсивности формирования животного от рождения до полового созревания, он может быть отнесен к быстро, умеренно или медленно формирующемуся типу. У мясного скота процесс формирования во взрослую особь проходит быстро или умеренно, а у молочного медленно [5]. Закладка уровня молочной продуктивности проходит в молочный период и период полового созревания телок, в процессе их роста и развития. Признаки,

характеризующие молочную продуктивность, формируются под влиянием генотипа и факторов внешней среды. Генотип животного при этом определяет норму его реакции на условия внешней среды.

Потребление обменной энергии в начале лактации, как правило, недостаточно для того, чтобы удовлетворить утечку ресурсов организма, затрачиваемых на выработку молока, поэтому мобилизуются внутренние резервы, что приводит к снижению упитанности [16, 35]. В молочном скотоводстве выявлена связь живой массы и возраста первого осеменения с уровнем продуктивности [152, 232]. Живая масса при отеле значительно больше влияет на продуктивность животного во время первой лактации, чем ее возраст. Тяжеловесные животные производят больше молока, потому что они тратят меньше энергии на достижение зрелости, и поэтому питательные вещества могут быть использованы на продуцирование молока вместо роста [53]. В среднем по лучшим стадам крупного рогатого скота коэффициент наследуемости таких показателей как интенсивность роста и накопление живой массы равен 0,37...0,44 [74], но он может варьировать в зависимости от породы, направления продуктивности и ареала распространения животных.

Общая цель большинства сельхозпроизводителей заключается в том, чтобы достичь интервала отела крупного рогатого скота, близкого к 365 дням. Однако, в действительности, типичные интервалы отела во многих странах составляют более 400 дней, так как высокопродуктивные животные не всегда осеменяются в оптимальные сроки [119]. Так же существует мнение, что вместе с ростом молочной продуктивности происходит сокращение продуктивной жизни коров до 2-3 лактаций, снижение зачатий с первого осеменения до 40% [45]. Без сомнения, период полового созревания соотносится с живой массой. Низкий среднесуточный прирост живой массы перед осеменением является очевидной проблемой, ведь это задерживает наступление половой зрелости, оплодотворения и отела. Однако слишком раннее осеменение приводит к замедлению развития и отодвигает срок максимального раздоя [101].

Персистентность – важный показатель, характеризующий лактационную деятельность коров, величина которого указывает на способность животного как можно дольше поддерживать молочную продуктивность на высоком уровне после достижения пика лактации [163]. Животные с устойчивой лактационной кривой раздаиваются с меньшим напряжением организма, они более стрессустойчивы, отличаются длительностью хозяйственного использования и высокой оплатой корма продукцией [2]. Согласно классификации, по характеру лактационной деятельности существует 4 типа:

- сильная устойчивая лактационная деятельность с высокими удоями;
- сильная неустойчивая лактационная деятельность, спадающая после получения высших суточных удоев и вновь поднимающаяся во второй половине лактации (двухвершинная лактационная кривая);
- высокая, но неустойчивая, быстроспадающая лактационная деятельность;
- устойчивая низкая лактационная деятельность [29].

Значительная равномерность удоев в течение всей лактации предоставляет возможность применения машинного доения, а так же получение стабильного количества молока-сырья для перерабатывающей отрасли, и как следствие бесперебойное обеспечение населения молочной продукцией и повышение финансовой результативности молочного производства. Наращивание удоев в первые месяцы лактации после того, как усвоенная с кормом обменная энергия еще не покрывает затраты на молочную продуктивность, влечет за собой отрицательный энергетический баланс, восстанавливающийся за счет внутренних резервов, и, как следствие, потеря живой массы, упитанности, нарушение обмена веществ [70, 122]. Высокопродуктивному животному может потребоваться много недель, чтобы вернуться к состоянию положительного энергетического баланса после отела [152, 232].

Реализация животным генетического потенциала по продуктивным качествам требует нормального функционирования всего организма, что в свою очередь находится в тесной взаимосвязи с характером протекания метаболических процессов. Лактирующие коровы мобилизуют ткани организма

для поддержания выработки молока, и, поскольку запасы глюкозы ограничены, для выработки энергии преимущественно используются липиды. Липогенная активность переключается на увеличение липолитических механизмов в жировой ткани за счет изменения экспрессии нескольких ключевых ферментов. Это приводит к потере организмом энергии, а также к высокой циркулирующей концентрации неэтерифицированных жирных кислот. На различных ступенях филогенеза реализация каждой биологической функции и биологической реакции требует затрат энергии, расхода АТФ. Потребности экспоненциально возрастают при совершенствовании биологических функций и биологических реакций [84]. Начало лактации является наиболее сложным периодом с точки зрения энергетического статуса, а также управления здоровьем стада. Повышенное использование энергетических резервов в этот период отражается на содержании жира в молоке, а именно на составе жирных кислот и корреляций между их отдельными группами [154].

Экспрессия генов, участвующих в резистентности к инсулину, может вызывать апоптоз транскрипционного фактора через митохондриальный путь. Положительно, что в регуляции активности фермента стеарил-КоА десатуразы (SCD) задействован лептин (LEP), как пептид обратной связи в регуляции функции висцеральных жировых клеток на уровне организма. Под действием инсулина в клетках живого организма экспрессия фермента стеарил-коэнзим А десатуразы превращает образованную из глюкозы C16:0 пальмитиновую в C18:0 стеариновую ненасыщенную жирную кислоту. Далее стеариновая кислота превращается в C18:1 ω -9 олеиновую мононенасыщенную жирную кислоту. Олеиновый метаболизм эффективнее пальмитинового. Это обеспечивает максимальную производительность митохондрий в синтезе АТФ и снабжение субстратами энергии всех биологических функций [44, 84]. Высокая зависимость от жирных кислот в качестве источника энергии в перипартальный период вызывает окислительное повреждение митохондрий в метаболически активных тканях, включая печень и репродуктивную функцию. Избыточное накопление липидов в ооцитах и регенерирующем эндометрии снижает фертильность за счет

снижения выживаемости эмбрионов и увеличения воспалительных изменений, соответственно [49].

В связи с этим исследование различных хозяйственно-биологических особенностей и продуктивных качеств крупного рогатого скота с применением современных методов ДНК-диагностики является актуальной задачей современного молочного скотоводства, а использование маркерной селекции в программах животноводства носит научный и практический характер.

1.1.3 Ген лептин (LEP) крупного рогатого скота и его влияние на хозяйственно-полезные признаки

Для устойчивого генетического улучшения и удовлетворения потребностей населения страны в различных областях необходимо генетическое разнообразие сельскохозяйственных животных. Основные вопросы управления биоразнообразием включают в себя распределение потенциально полезных качественных и количественных признаков продуктивности среди пород и популяций. А интенсивное выращивание телок позволяет осуществлять их осеменение в молодом возрасте и, соответственно, раньше выявлять потенциал продуктивности, дает возможность повысить экономическую эффективность производства молока, ускорить процесс генетического совершенствования скота [17]. Идентификация генов, влияющих на энергетический баланс, мясную и молочную продуктивность скота – интересная и перспективная область в животноводстве. Отбор животных с помощью молекулярно-генетических маркеров может способствовать улучшению генетического потенциала поголовья крупного рогатого скота. Использование в селекционных программах достижений в области биотехнологий значительно упрощают оценку биологического разнообразия и генетической изменчивости, влияющей на характеристики хозяйственно-полезных признаков [69]. Преимущество ДНК-анализа заключается в том, что можно определить генотипы животного независимо от пола, возраста и

физиологического состояния, что является важнейшим фактором в селекционном разведении [86].

Одним из потенциальных маркеров молочной и мясной продуктивности крупного рогатого скота может рассматриваться ген лептин и его полиморфные варианты аллелей и генотипов [55]. Лептин модулирует аппетит, затраты энергии и репродуктивную ось, сигнализируя через свой рецептор состояние энергии тела, хранящейся в мозге. Лептин интересен для селекции тем, что во многом определяет молочную продуктивность скота, содержание компонентов в молоке (белка и жира), и, что не менее важно, он связан с продуктивным долголетием сельскохозяйственных животных [97]. В литературе описано около 60 SNP полиморфизмов гена лептин.

Пептидный гормон белой жировой ткани – лептин (LEP) – был открыт в 1994 году [206, 240] у крыс. Он, в основном, секретируется клетками жировой ткани – адипоцитами (инсулинозависимыми клетками), и приводит к изменениям в потреблении корма [155, 178]. Лептин играет важную роль в метаболизме, в частности, в накоплении жира в организме, вовлечен в регуляцию пищевого поведения, влияет на функционирование иммунной системы и репродуктивную функцию, а так же на рост и конституцию животных. Он представляет собой негликолизированный полипептид размером 16 кДа, который сигнализирует о запасах жировых отложений и энергетическом статусе гипоталамуса [132]. Лептин связывается с его рецептором, главным образом, локализованным на нейропептидных Y-нейронах, что приводит к увеличению выхода энергии и гипофагии [140, 146]. Лептин действует как барометр тела, обеспечивающий критическую связь между энергетическим гомеостазом, аппетитом и репродуктивной функцией [116, 140, 241]. В начале лактации дойные коровы находятся в состоянии отрицательного энергетического баланса, когда запасы жира и потребление корма направлены на энергетически дорогостоящий процесс лактогенеза [126]. Лептин предположительно необходим для роста, развития и функционирования молочной железы, не смотря на то, что для этого требуется

экспрессия пролактина, который затем взаимодействует с лептином, чтобы влиять на ее активность [141].

У крупного рогатого скота ген LEP расположен на 4 хромосоме [121]. Он состоит из 3 экзонов и 2 интронов, из которых только 2 экзона транслируются в белок [39]. Структурно ген лептин представляет собой протеин, состоящий из 167 аминокислот и включающий 21 аминокислотную сигнальную последовательность [176]. Полиморфизм, связанный с мутацией LEP (T→C) приводит к замене цистеина на аргинин в α -спирали лептинового полипептида [224], идентифицирован в кодирующей области в позиции 73 [121]. Предполагается, что плеiotропное воздействие благоприятного аллеля на такие признаки, как иммунитет, фертильность и молочная продуктивность в более поздние периоды лактации, могут привести к высоким удоям без отрицательного влияния на энергетический баланс и плодовитость [187].

На сегодняшний день полиморфизмы локуса гена LEP были связаны с концентрациями лептина в сыворотке крови [186, 202, 207], потреблением корма и аппетитом [112, 183, 187, 202], молочной продуктивностью [229], содержанием жира в молоке [30, 66, 87] и энергетическим балансом [133, 187]. Плеiotропные эффекты лептина [149] дополнительно подтверждаются ассоциациями между полиморфизмом гена LEP и иммунной функцией [58], функциональным долголетием [42, 224], перинатальной смертностью телят [120], продолжительностью межотельного периода [107], репродуктивной функцией [107, 241], телосложением [125, 169, 202], отложением жировой ткани в организме и мясной продуктивностью [80, 165], мраморностью [102, 222] и убойным выходом мяса [224], а так же скоростью роста [169, 202].

Проведенный мониторинг данных среди ранее опубликованных работ отечественных и зарубежных исследователей о распределении аллелей и генотипов гена лептин, представленный в таблице 2, демонстрирует перевес (0,52...0,59) в сторону аллеля LEP^C у голштинской и черно-пестрой пород [30, 87, 102, 170, 176].

Таблица 2 – Вариабельность аллелей и генотипов гена LEP у скота разного направления продуктивности

Порода	Генотипы			Аллели		Автор, год	Страна
	СС	ТС	ТТ	С	Т		
молочное направление продуктивности							
Голштинская	0,28	0,62	0,10	0,59	0,41	Ф.Ф. Зиннатова и соавт., 2017	Россия (РТ)
Голштинская	0,33	0,53	0,14	0,59	0,41	С.В. Тюлькин и соавт., 2013	Россия (РТ)
Голштинская	0,28	0,55	0,17	0,56	0,44	J. Komisarek et al., 2010	Польша
Голштинская	0,23	0,54	0,23	0,50	0,50	Е.Н. Рачкова и соавт., 2016	Россия (РТ)
Голштинская	0,38	0,40	0,22	0,58	0,42	V. Kadlecová et al., 2014	Чехия
Симментальская	0,42	0,48	0,10	0,66	0,34	Р.Б. Абельдинов и соавт., 2017	Казахстан
Черно-пестрая	0,26	0,54	0,20	0,52	0,48	Юльметьева Ю.Р. и др., 2015	Россия (РТ)
В среднем по направлению	0,31	0,52	0,17	0,57	0,43		
мясное направление продуктивности							
Ангусская	0,77	0,23	0,00	0,89	0,11	J.D. Nkrumah et al., 2005	Канада
Ангусская	0,33	0,53	0,14	0,60	0,40	А.А. Шарипов и соавт., 2014	Россия (РТ)
Брахман	0,75	0,19	0,06	0,85	0,15	N. Hernandez et al., 2016	Мексика
Герефордская	0,58	0,33	0,09	0,74	0,26	J.D. Nkrumah et al., 2005	Канада
Герефордская	0,22	0,67	0,11	0,56	0,44	А.А. Шарипов и соавт., 2014	Россия (РТ)
Казахская белоголовая	0,35	0,55	0,10	0,63	0,37	А. Молдакаримов и соавт., 2015	Казахстан
Лимузинская	0,70	0,27	0,03	0,83	0,17	J.D. Nkrumah et al., 2005	Канада
Лимузинская	0,13	0,77	0,10	0,52	0,48	А.А. Шарипов и соавт., 2014	Россия (РТ)
Нелоре	0,77	0,21	0,02	0,88	0,12	F. Souza et al., 2014	Бразилия
Чешский пестрый скот	0,48	0,36	0,16	0,66	0,34	А. Pavlik et al., 2014	Чехия
Шароле́зская	0,50	0,50	0,00	0,75	0,25	J.D. Nkrumah et al., 2005	Канада
Шароле́зская	0,47	0,44	0,09	0,69	0,31	А.А. Шарипов и соавт., 2014	Россия (РТ)
Японский черный скот	0,17	0,82	0,01	0,58	0,42	F.N. Jomane et al., 2015	Япония
В среднем по направлению	0,48	0,45	0,07	0,71	0,39		
В среднем по популяциям	0,39	0,49	0,12	0,64	0,36		

У поголовья симментальского скота отмечено значительное преобладание аллеля С над Т [1]. Имеются так же результаты о равном распределении частот С

и Т (по 0,50) среди первотелок голштинской породы [66]. В среднем же по молочным породам крупного рогатого скота частота встречаемости аллельных вариантов лептина составила: С – 0,57 и Т – 0,43, с разницей 24,6%.

У пород мясного направления продуктивности средняя частота встречаемости аллелей по локусу лептина, по итогам рассмотренных работ других исследователей, составила: С – 0,71 и Т – 0,29.

Высокая встречаемость аллеля С (0,83...0,89) была зафиксирована в таких породах, как Нелоре [224], и Брахман [156], которые относятся к аборигенным (автохорным) породам крупного рогатого скота, а так же у канадских Лимузин и Ангус [202].

Наименьшая встречаемость LEP^C (0,52) идентифицирована у лимузинской породы в Республике Татарстан [102]. По всему оцененному поголовью распределение генотипов происходит следующим образом: СС – 39%; ТС – 49%; ТТ – 12%. Стоит отметить, что у групп скота молочного направления продуктивности во всех исследуемых стадах преобладает гетерозиготный генотип ТС (40...62%). Далее с небольшой разницей следуют представители гомозиготного генотипа СС (23...42%), а отстающую позицию занимают животные с генотипом ТТ (10...23%).

Средняя частота встречаемости генотипов СС, ТС и ТТ по молочным породам составила 31, 52 и 17 % соответственно.

По породам мясного направления продуктивности наблюдается довольно противоречивая ситуация. В странах Южной и Северной Америки, а так же Европы преобладают особи с гомозиготным генотипом СС (47...77%), а в Японии, Казахстане и России животные с гетерозиготным ТС-генотипом (55...82%). Как и у молочного скота, генотип ТТ имеет наименьшую частоту встречаемости (1...16%), а у некоторых популяций Шароле и Ангус вовсе не идентифицирован [202]. Средняя частота встречаемости генотипов СС, ТС и ТТ по мясным породам крупного рогатого скота составила 48, 45 и 7 % соответственно. Исходя из анализа, можно заметить, что встречаемость С-аллеля

у скота мясного направления продуктивности выше, чем у молочных пород на 18,6%.

Полиморфизм гена лептин, а так же его взаимосвязь с признаками роста, были исследованы в 2010 году у овец Кермани. Дана характеристика генотипов, которые по сравнению с другими, имели большую живую массу в разном возрасте. Так же указано, что в этой популяции овец ген лептин может использоваться в качестве избирательного критерия для улучшения массы животных генетически [223]. Ученые, изучавшие ген LEP у бразильского крупного рогатого скота Нелор, сообщали о значительном влиянии его полиморфизма на живую массу. Гомозиготные животные СС имели массу при взвешиваниях выше остальных [224].

Аллель Т некоторые авторы связывают с увеличением убойного выхода туши [121]. Было достоверно установлено влияние гетерозиготного генотипа на долю жировой ткани в композиции морфологии телосложения у телят породы Герефорд и содержание внутримышечного жира в длиннейшей мышце спины у телят породы Лимузин [222]. Так же исследователями была выявлена ассоциация генотипов ТТ и ТС с содержанием и уровнем незаменимых жирных кислот во внутримышечном жире чешского крупного рогатого скота пород Галлоуэй и Шароле [143].

Исследования, направленные на выявление ассоциаций полиморфных форм гена лептин с удоем и содержанием жира в молоке, имеют подтверждение в ряде работ ученых по всему миру. В них сообщается о том, что животные, несущие по локусу гена лептин гомозиготный аллель Т, продуцируют больше молока с повышенным содержанием белка [227, 228, 90, 34, 177, 180, 205]. Низкие удои, а так же недостаточное содержание массовой доли белка и жира было зафиксировано у особей с гетерозиготным генотипом ТС [128]. Так же было отмечено, что группа ТС-животных потребляет больше пищи, хотя суточный удой находится ниже уровня молока получаемого от других групп [186].

На основании вышеизложенного, изучение аллельного полиморфизма гена LEP и форм его ассоциаций с хозяйственно-полезными признаками крупного

рогатого скота является теоретически и практически значимым направлением исследований в разведении, селекции и генетике сельскохозяйственных животных Республики Татарстан.

1.1.4 Ген стеарил-коэнзим А десатураза (SCD1) крупного рогатого скота и его влияние на хозяйственно-полезные признаки

Воздействие продуктов на здоровье человека и его организм в целом связано с потреблением количества жира, их жирнокислотного состава, содержания полиненасыщенных (PUFA) и мононенасыщенных (MUFA) жирных кислот. Молочный жир жвачных животных, а, следовательно, и дойных коров по своей природе является насыщенным жиром. Это связано с более высоким содержанием доли насыщенных жирных кислот, которые негативно оцениваются с точки зрения влияния на здоровье человека. С другой стороны, ненасыщенные жирные кислоты оцениваются как благоприятные. Данные, полученные С. Нап и соавт., свидетельствуют о том, что жирнокислотный состав оказывает более глубокое воздействие на здоровье человека, чем количество жира в рационе [153].

Стеарил-КоА десатураза (SCD) представляет собой эндоплазматический ретикулярный фермент, ответственный за Δ^9 -десaturацию жирных кислот в молочной железе, жировой и других тканях, путем введения двойной связи в положении дельта-9 в ацил-коэнзим А субстратах [148, 181]. Состав жирных кислот, хранящихся в жировых запасах, отражает действие стеарил-коэнзим А десатуразы на такие субстраты, как стеариновая и пальмитиновая кислоты [173]. Функциональная роль экспрессии SCD и превращение пальмитиновой насыщенной жирной кислоты в олеиновую мононенасыщенную жирную кислоту признана во всем мире. Этот процесс необходим для физиологического метаболизма липидов и жирных кислот, формирования субстратов для выработки клетками энергии, образования олеиновых триглицеридов и физиологической мобилизации синтеза АТФ. Это происходит независимо от того, что физиологическая, разнообразная растительная пища млекопитающих содержит

достаточное количество олеиновой кислоты. Существует корреляция величины индекса десатурации, которая является отношением кислот насыщенных и моно- и полиненасыщенных жирных кислот [84].

Липиды, включающие триглицериды, холестерин и фосфолипиды, а также их производные, обеспечивают организм энергией и играют значительную роль в функционировании эндокринной системы и некоторых внутриклеточных сигнальных путей (Рисунок 3).

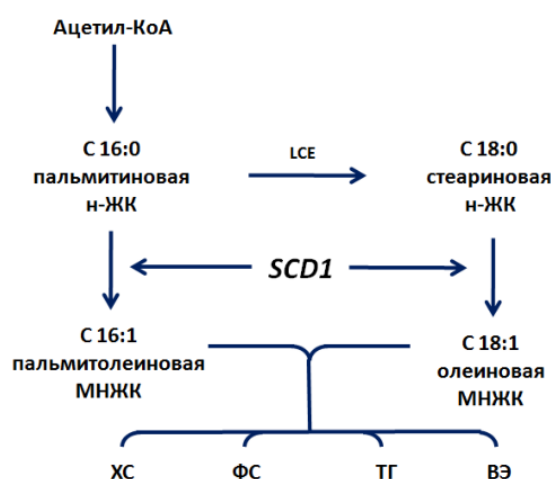


Рисунок 3 – Роль SCD1 в синтезе липидов

н-ЖК – насыщенная жирная кислота; МНЖК – мононенасыщенная жирная кислота; ХС – холестерин; ФС – фосфолипиды; ТГ – триглицериды; ВЭ – восковые эфиры (J.M. Ntambi at al., 2004)

Ген SCD1 локализован на 26 бычьей хромосоме [124], где также были идентифицированы некоторые QTL, отвечающие за фертильность, содержание жира, удой и другие количественные признаки [158, 197]. Он состоит из 6 экзонов и 5 интронов, имеет 1080 нуклеотидов, кодирующих 359 аминокислот. Нуклеотидные замены в кодирующем белке, идентифицированные в области 878 в 5 экзоне, вызывают замещение аминокислотного валина на аланин (V→A) в пептиде SCD [172].

Молочные жирные кислоты оказывают существенное влияние на здоровье человека, а также на производственно-технические признаки продукции при производстве масла и сыра. Так, например, ненасыщенные жирные кислоты

(C18:2) повышают способность масла к намазыванию, улучшают способность молока сбиваться в масло и снижают уровень холестерина.

Напротив, C16:0 повышает уровень холестерина и риск сердечных заболеваний. Подобное действие оказывают также C14:0 и C18:0, причём C14:0 кроме этого также имеет негативное влияние на сердечно-сосудистую систему. Ряд исследований подтверждают гипотезу о том, что активность гена SCD1 и его полиморфные варианты могут значительно влиять на смеси геометрических и позиционных изомеров линолевой кислоты (C18:2), оказывающих положительные (антиканцерогенные, антиатерогенные и иммуномодулирующие) эффекты на здоровье человека [159, 193, 194]. Имеются подтвержденные данные об ассоциации форм этой мутации с составом жирных кислот. В исследовании ученых C878T-полиморфизм гена SCD1 имел значительное влияние ($P \leq 0,05$) на содержание миристиновой, линолевой, γ -линоленовой, α -линоленовой кислоты, конъюгированной линолевой кислоты (CLA) и общего содержания ω -6 жирных кислот [204].

Кроме того, было показано, что ген SCD1 участвует в некоторых аспектах энергетического гомеостаза, таких как липогенез, окисление липидов и термогенез [136, 145]. Возраст, вид и порода животного влияют на экспрессию и активность гена SCD1, который специфически влияет на концентрацию мононенасыщенных жирных кислот.

Высокая экспрессия гена (высокий уровень содержания олеатов) способствует накоплению жира, что приводит к ожирению, в то время как снижение уровня SCD1 (низкий уровень олеатов) способствует сжиганию жира и худобе [203]. Он экспрессируется в клетках печени, особенно в гепатоцитах [147, 193, 219], и адипоцитах (клетках жировой ткани), и является ключевым ферментом в клеточном биосинтезе мононенасыщенных жирных кислот из ненасыщенных жирных кислот в адипоцитах млекопитающих. Регуляция SCD очень разнообразна, и ее экспрессия может влиять на ряд ключевых физиологических переменных, включая чувствительность к инсулину, скорость метаболизма, ожирение, атеросклероз и рак.

По данным Н.А. Nanaei и др. (2014) SNP полиморфизм гена SCD1 в положении T878C оказывает влияние на репродуктивные показатели голштинских коров. В разрезе генотипов гена SCD существует достоверная разница в продолжительности сухостойного и межотельного периодов [199].

Согласно анализу данных, полученных исследователями, проводивших ДНК-тестирование крупного рогатого скота разного направления продуктивности по гену стеарил-коэнзим А десатураза (Таблица 3), свидетельствует информация о значительном перевесе в сторону аллеля С по частоте встречаемости.

Максимальная встречаемость С – 0,91 отмечена у анатолийского скота в Турции [208]. И только в одном случае зафиксировано преобладание аллеля Т на 64,9% (0,74 против 0,26) в популяции индонезийского скота [157]. В среднем по молочным (0,66), мясным (0,65) и комбинированным (0,54) породам крупного рогатого скота преимущество аллеля С над аллелем Т составило 38,7%. Среди пород комбинированного направления продуктивности частота встречаемости SCD1^C (0,53...0,57), а SCD1^T (0,43...0,47), что говорит о незначительной разнице [114, 138, 147].

Распределение генотипов SCD1 среди крупного рогатого скота различного направления продуктивности, по итогам опубликованных ранее работ, составило: СС – 39%; ТС – 45%; ТТ – 16%.

По всем опытным группам результат, свидетельствующий об отсутствии гомозиготного генотипа ТТ гена стеарил-КоА десатураза в популяции особей, отмечен Е.Г. Сулимовой (2011) у голштинской породы [79]. По молочным породам крупного рогатого скота, единичный случай доминирования генотипа ТТ – 52% представляет в своей работе N. Hilmia и соавт., исследовавшие индонезийский местный скот [157]. У этого же поголовья зафиксировано наименьшее значение генотипа СС – 3%.

В среднем по крупному рогатому скоту молочного направления продуктивности распределение аллелей оказалось следующим: С – 0,66 и Т – 0,34; СС – 44%, ТС – 44%, ТТ – 12%.

Таблица 3 – Вариабельность аллелей и генотипов по локусу гена SCD1 у скота
разного направления продуктивности

Порода	Генотипы			Аллели		Автор, год	Страна
	СС	ТС	ТТ	С	Т		
молочное направление продуктивности							
Анатолийский южный скот	0,86	0,10	0,04	0,91	0,09	İ. Paya et al., 2015	Турция
Анатолийский западный скот	0,58	0,38	0,04	0,77	0,23	İ. Paya et al., 2015	Турция
Голштинская	0,60	0,32	0,08	0,76	0,24	М.Н. Mashhandi et al., 2013	Иран
Голштинская	0,27	0,60	0,13	0,57	0,43	G. Counte et al., 2007	Италия
Голштинская	0,26	0,65	0,05	0,58	0,42	Н.А. Nanaei et al., 2013	Иран
Голштинская	0,54	0,40	0,06	0,74	0,26	Н. Kulig, 2013	Польша
Голштинская	0,47	0,45	0,08	0,69	0,31	Р.М. Kgwatalala et al., 2009	Канада
Голштинская	0,49	0,43	0,08	0,71	0,29	J. Komisarek et al., 2009	Польша
Голштинская	0,38	0,62	0,00	0,69	0,31	Е.Г. Сулимова, 2011	Россия
Джерсейская	0,47	0,38	0,08	0,66	0,32	Н. Kulig et al., 2010	Польша
Индонезийский скот	0,03	0,45	0,52	0,26	0,74	N. Hilmia et al., 2017	Индонезия
Калмыцкая	0,33	0,45	0,22	0,56	0,34	Е.Г. Сулимова, 2011	Россия
Черная фризская	0,38	0,47	0,15	0,62	0,38	K. Inostroza et al., 2012	Чили
В среднем по направлению	0,44	0,44	0,12	0,66	0,34		
мясное направление продуктивности							
Ангусская	0,51	0,47	0,02	0,74	0,26	M. Ekerljung, 2012	Швеция
Герефордская	0,60	0,34	0,06	0,77	0,23	M. Ekerljung, 2012	Швеция
Лимузинская	0,31	0,54	0,14	0,59	0,41	M. Ekerljung, 2012	Швеция
Лимузинская	0,30	0,56	0,14	0,58	0,42	C. Avilés et al., 2013	Испания
Шароле́зская	0,39	0,50	0,11	0,64	0,36	M. Ekerljung, 2012	Швеция
Шароле́зская	0,39	0,44	0,17	0,61	0,39	C. Avilés et al., 2013	Испания
В среднем по направлению	0,41	0,48	0,11	0,65	0,35		
комбинированное направление продуктивности							
Пинцгау	0,31	0,42	0,27	0,52	0,48	M. Gabor et al., 2009	Словакия
Симментальская	0,38	0,38	0,24	0,57	0,43	M. Ekerljung, 2012	Швеция
Флекви	0,28	0,49	0,23	0,53	0,47	L. Barton et al., 2011	Чехия
В среднем по направлению	0,32	0,43	0,25	0,54	0,46		
В среднем по популяциям	0,39	0,45	0,16	0,62	0,38		

Преобладание СС-генотипа (86%) идентифицировано у поголовья южного анатолийского скота [208]. По голштинской породе значительное преимущество гомозиготных животных (54 и 60 %) наблюдалось в Польше и Иране соответственно [181, 191]. Большое количество особей с гетерозиготным

генотипом ТС (60...65%) было описано в популяциях итальянского, российского и иранского крупного рогатого скота голштинской породы [79, 131, 200] и у мясного скота породы Герефорд – 60% [138]. Среди пород мясного направления продуктивности преобладание генотипа СС гена SCD1 так же отмечено у животных породы Ангус (51%) [138]. Хотя в целом по этой группе превалировали особи с гетерозиготным ТС-типом (50...56 %). Генотип ТТ имел наименьшую встречаемость (2...17%). В среднем по крупному рогатому скоту мясного направления продуктивности распределение аллелей и генотипов оказалось следующим: С – 0,65 и Т – 0,35; СС – 41%, ТС – 48%, ТТ – 11%.

Среди пород комбинированного направления продуктивности зафиксированы достаточно высокие результаты частоты встречаемости аллеля Т – 0,46 гена стеарил-КоА десатураза, и генотипа ТТ соответственно (23...27 %), относительно животных, порода которых отнесена к мясному или молочному направлению продуктивности. Авторами, изучавшими эти группы, идентифицирована встречаемость аллеля С – 0,54 и генотипа СС (28...38 %), что ниже значений, отмеченных у пород молочного и мясного направления продуктивности, и по крупному рогатому скоту в целом [114, 138, 147]. По анализируемым породам комбинированного направления зафиксирована следующая вариабельность аллелей и генотипов: С – 0,54 и Т – 0,46; СС – 32%, ТС – 43%, ТТ – 25%.

Вероятно, что такая разница между частотой встречаемости желаемого аллеля в породах различного направления продуктивности связана с направленной селекцией крупного рогатого скота по таким хозяйственно полезным признакам, как мраморность, содержание жира и жирнокислотный состав молока и мяса.

Однонуклеотидный полиморфизм (SNP) уровня активности гена SCD1 связывался с высоким уровнем концентрации мононенасыщенных жирных кислот молоке, жирностью молока, а также с жирнокислотным составом говядины и мраморностью мяса у крупного рогатого скота [131]. Ранее отмечалось, что на экспрессию гена стеарил-коэнзим А десатураза влияет синтез ацидопоцитов в

жировой ткани животных. Внутримышечная жировая ткань, также известная как межфаскулярная или, мраморная жировая ткань представляет собой уникальное жировое депо. Ее можно отличить от других по ее расположению в периметрических соединительных тканях наряду с мышечными волокнами. По этой причине, мраморные адипоциты (марблинг), как полагают, возникают из-за дифференцировки и липидного наполнения фибробластов в периметрических соединительных тканях между мышечными пучками [167].

Мраморная жировая ткань состоит из кластеров отдельных клеток (адипоцитов), а внутримышечные адипоциты у крупного рогатого скота увеличиваются как по количеству, так и по размеру [195, 221], поскольку говядина прогрессирует от постной до говядины с высоким показателем мраморности. Из этого и исходит корреляция полиморфных вариантов стеарил-КоА десатуразы с содержанием жира в мышечной ткани у скота мясного направления продуктивности.

Черный японский скот был высоко оценен по мраморности мяса и низкой температуры плавления жира [131]. Коллектив авторов М. Taniguchi и соавт. (2004) сообщают, что животные с генотипом SCD1^{CC} имеют мясо, благоприятное по количеству внутримышечной жировой ткани, содержащейся в нем [226].

С. Avilés и соавт. (2010) указывают на отсутствие влияния различных генотипов SCD1 878 T→C на толщину слоя жира и содержание мышечного жира в поголовье помесного коммерческого скота Испании [110]. Х.-Х. Wu и соавт. (2011) не обнаружили положительной связи аллелей С и Т с признаками мясной продуктивности в поголовье симментальского скота Китая [237]. Эти результаты противоречат данным, опубликованным Е. Milanesi и соавт. (2008), установивших взаимосвязь генотипа ТТ с мраморностью мяса в популяции итальянского голштинского скота [193].

Молочный жир обычно состоит из 50-70% насыщенных жирных кислот, от 20 до 40% мононенасыщенных жирных кислот и от 1 до 5% полиненасыщенных жирных кислот (Рисунок 4). В коровьем молоке из суммы всех ненасыщенных жирных кислот наибольший удельный вес имеет пальмитиновая (21...33 %) и

стеариновая (8...13 %) кислоты. Из моновенасыщенных жирных кислот – олеиновая (20...32 %) и в несколько меньшем объеме пальмитолеиновая (1,5...2,4 %) кислота. Есть основания полагать, что экспрессия гена SCD1 оказывает влияние не только на жирнокислотный состав, но и на количественное содержание жира в молоке.

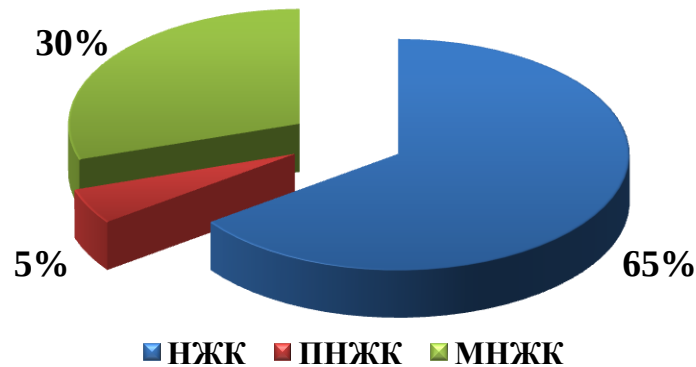


Рисунок 4 – Распределение жирных кислот в коровьем молоке

НЖК – насыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; МНЖК – моновенасыщенные жирные кислоты

Исследователи, изучавшие ген SCD1, описывали значительное влияние на процентное содержание жира, но не подтверждали оказываемое влияние на другие признаки молочной продуктивности у голштинского скота [175]. В исследованиях итальянской популяции голштинского скота N. Macciotta и соавт. (2008) установлено, что полиморфизм гена SCD1 оказывает влияние на удой и выход молочного белка [189]. У коров с генотипом ТТ было больше молока и молочного белка по сравнению с коровами с генотипом СС. М. Позовникова и соавт. (2017) в своей работе отмечали достоверное превосходство по удою ($P \leq 0,01$) и выходу молочного белка ($P \leq 0,001$) животных с генотипом СС над сверстницами с генотипами ТС и ТТ [65]. Р.М. Kgwatalala и соавт. (2009) обнаружили, что удой за лактацию и выход белка у коров с генотипом СС выше, чем у коров с генотипом ТТ [172]. Однако, существует ряд опытов, в которых не

были установлены эффекты влияния генотипов SCD1 на удой и качественный состав молока [129, 220].

V. Van Hoesk и соавт. (2011) отмечают, что воздействие высоких концентраций насыщенных жирных кислот, в частности олеиновой кислоты, пальмитиновой кислоты и стеариновой кислоты, во время созревания ооцитов снижало качество эмбрионов, измеряемое по количеству клеток и экспрессии генов, и соотношение апоптотических клеток [230]. Сходные побочные эффекты были получены при культивировании зигот крупного рогатого скота с сывороткой, полученной от телок, которых кормили рационом с высоким содержанием жиров и добавлением пальмового масла [185]. Вместе с тем, эти эксперименты сами по себе предполагают, что в период экстремального отрицательного энергетического баланса, испытываемого после отела, который неизбежно будет сопровождаться повышенными концентрациями насыщенных жирных кислот в циркулирующей крови, вероятно, ухудшит качество ооцитов. Это, в свою очередь, снизит уровень зачатия за счет чрезмерного накопления липидов [232].

В Республике Татарстан ДНК-тестирование аллельного полиморфизма гена стеарил-коэнзим А десатураза голштинского крупного рогатого скота ранее не проводилось. Различные формы ассоциаций генотипов SCD1 с хозяйственно-полезными признаками в работах татарстанских ученых не выявлены. Что подтверждает необходимость изучения этого полиморфизма в популяциях крупного рогатого скота Республики Татарстан с теоретической и практической точки зрения.

1.1.5 Ген фактора транскрипции А митохондрий (TFAM) крупного рогатого скота и его влияние на хозяйственно-полезные признаки

Живая масса, молочная продуктивность и воспроизводительные качества являются очень важными взаимосвязанными количественными генетическими признаками, которые являются потенциальными целями для селекции с

использованием маркеров для повышения эффективности молочного скотоводства. Замедленное развитие и недостаточная живая масса для первого осеменения, вследствие которых увеличивается возраст первого отела, ведут к экономическим потерям на содержание животных [118, 119], являются основными причинами выбраковки телок [179]. Неправильное, неравномерное развитие или чрезмерное ожирение первотелок является фактором риска для дистоции (трудные роды) и может оказывать негативное влияние на репродуктивную функцию и удои в первую лактацию [139]. Кроме того, такие признаки, как рост и живая масса, сильно коррелируют с продолжительностью хозяйственного использования, что в конечном итоге влияет на продуктивность, фертильность и здоровье коровы [174].

В последние годы в качестве генетического маркера все шире стала использоваться митохондриальная ДНК (мтДНК), представляющая собой небольшую кольцевую молекулу размером около 16500 пар нуклеотидов. МтДНК имеет уникальные качества: строгое наследование по материнскому типу, высокую скорость накопления мутаций, отсутствие рекомбинаций, большое количество копий молекул ДНК в клетках, что позволяет использовать данные о полиморфизме мтДНК для маркирования породных и внутрипородных особенностей животных, а также находить связи с хозяйственно-полезными признаками [85]. Митохондрии, которые являются материнскими наследственными органеллами, выполняют несколько сотовых функций, например, энергетический метаболизм, гомеостаз кальция и железа, трансдукции сигнала, и апоптоз, а так же играют роль в метаболических путях, участвующих в биосинтезе гема, липидов, аминокислот и нуклеотидов [135].

Физическое развитие, динамика роста, признаки молочной продуктивности и воспроизводительные качества зависят от эффективного функционирования митохондриальной системы, что отражает важность метаболического гомеостаза. В этом процессе наблюдается спад после отела, когда мобилизация жировых запасов необходима для обеспечения дополнительной энергии в начале лактации.

Это приводит к периоду отрицательного энергетического баланса и потере живой массы животными [211].

Фактор транскрипции А митохондрий (TFAM) играет ключевую роль в регуляции жиросжигания и энергетическом метаболизме. L. Wilson-Fritch и соавт. (2004) обнаружили повышенную экспрессию генов митохондрий, кодируемых ядрами, во время адипогенеза и, напротив, 50%-ное снижение экспрессии факторов транскрипции этих генов у мышей с ожирением [234]. Участие митохондрий в адипогенезе подтверждает локализацию β -окисления жирных кислот, этерификации жирных кислот в триглицериды и другие подобные процессы, которые проходят в митохондриях [167, 234].

Фактор транскрипции А митохондрий (TFAM), член семейства белков группы высокой подвижности, имеющий молекулярную массу около 25 кДа, является первым идентифицированным митохондриальным фактором транскрипции, необходим для поддержания и биогенеза митохондриальной ДНК [144].

Ген TFAM представляет собой аутосомный ген, кодирующий гистонотипный белок, необходимый для транскрипции и репликации митохондриальной ДНК. Ген TFAM крупного рогатого скота находится на хромосоме 28, состоит из 7 экзонов и 6 интронов, а геномная ДНК этого гена составляет 16440 пар нуклеотидов [168]. Поскольку этот белок непосредственно участвует в митохондриальной функциональности, полиморфные варианты гена могут влиять на внутриклеточную продукцию, а также на последующие процессы, протекающие в животном организме. Z. Jiang и соавт. (2005) было идентифицировано два SNP в промоторной области гена TFAM, а именно А/С-трансверсия и С/Т-переход [167]. Для дальнейшего изучения в этой работе был выбран полиморфизм (А→С) промоторной области гена.

Мониторинг результатов детекции, в работах зарубежных ученых, представленный в таблице 4, демонстрирует преобладание аллеля А над аллелем С в 99% случаев. Результат получен Z. Jiang и соавт. (2005), изучавшими референтную популяцию, которая включала две породы крупного рогатого скота:

азиатского происхождения Вагю и европейского происхождения Лимузин, имеющих разные физические характеристики, противоречит данным о распределении, полученным другими исследователями крупного рогатого скота. В изучаемом им поголовье, преимущество отмечено у аллеля С – 0,56 и доля гомозиготных особей по этому аллелю составила 32%. Гомозиготные АА-животные имели минимальную частоту – 19%, а встречаемость аллеля А – 0,44 [167].

Таблица 4 – Вариабельность аллелей и генотипов по локусу гена TFAM у скота разного направления продуктивности

Порода	Генотипы			Аллели		Автор, год	Страна
	AA	CA	CC	A	C		
молочное направление продуктивности							
Голштинская	0,44	0,46	0,10	0,67	0,33	A.Clempson et al., 2011	Англия
Голштинская	0,28	0,59	0,13	0,58	0,42	K. Kaplanova et al., 2009	Чехия
Систани	0,28	0,50	0,22	0,53	0,47	H. Moradgholi et al., 2016	Иран
В среднем по направлению	0,33	0,52	0,15	0,59	0,41		
мясное направление продуктивности							
Вагю х Лимузинская	0,19	0,49	0,32	0,44	0,56	Z. Jiang et al., 2005	Япония
Нелор (MAS)	0,72	0,26	0,02	0,84	0,16	D.R. Ayres et al., 2010	Бразилия
Нелор	0,88	0,12	0,00	0,94	0,06	D.R. Ayres et al., 2010	Бразилия
Нелор (MAS)	0,77	0,21	0,02	0,87	0,13	F. Rezende et al., 2008	Бразилия
В среднем по направлению	0,64	0,27	0,09	0,77	0,23		
В среднем по популяциям	0,49	0,39	0,12	0,68	0,32		

Анализ частоты встречаемости аллельных вариантов и генотипов различных популяций показал, что они имеют различное распределение в зависимости от направления продуктивности крупного рогатого скота.

Стоит отметить, что доля встречаемости аллеля С (0,77) у мясных пород на 23,4% превышает этот показатель у пород молочного направления (0,59). Колебания в пределах этих двух групп составили: по молочным породам – 0,53...0,67, а по мясным – 0,84...0,94 (исключая референтную популяцию Вагю х Лимузин, исследованную Z. Jiang).

В распределении генотипов в пределах направления продуктивности наблюдается характерная тенденция. По породам молочного скота превалирует гетерозиготный генотип СА, а наименьшая встречаемость отмечается у генотипа СС. У мясных пород явное преимущество за животными с генотипом АА, а минимальный показатель так же, как и у предыдущей группы представлен особями с СС генотипом.

В бразильской контрольной популяции скота Нелор исследователи не обнаружили животных с генотипом СС. В этом же поголовье установлена максимальная численность особей с генотипом АА – 88% [111]. С помощью маркерной селекции, проведенной среди животных этой породы в двух различных стадах Бразилии, удалось получить незначительное количество (2% от общего поголовья) представителей гетерозиготного СС-типа [111, 210].

В результатах, полученных К. Kaplanova и соавт. (2009), идентифицировано следующее распределение генотипов: АА – 28%, СА – 72% и СС – 9% среди помесных чешской, голштинской и айрширской пород [171]. При ДНК-тестировании поголовья голштинского скота в Англии зафиксированы следующие показатели: генотип АА – 44%, СА – 46% и СС – 10% [130].

В целом, согласно проведенному мониторингу по вариабельности аллелей и генотипов гена TFAM, получены средние значения частоты встречаемости: аллель А – 0,68 и аллель С – 0,32; генотип АА – 49%, генотип СА – 39% и генотип СС – 12%.

Полиморфизм гена фактора транскрипции А митохондрий в различных ранее опубликованных исследованиях был связан с толщиной подкожного жира, мраморности мяса и жирнокислотным составом (в частности, содержанием и концентрацией полиненасыщенных жирных кислот) мяса у крупного рогатого скота. В ходе анализа ассоциаций SNP гена TFAM зарубежными исследователями было установлено существенное влияние на такие показатели, как мраморность мяса ($P \leq 0,01$) и количество жира ($P \leq 0,05$) крупного рогатого скота. У животных, несущий гомозиготный генотип СС в локусе гена TFAM-*Haе* III, подкожный жир и степень мраморность говядины был выше, по сравнению с

субпопуляцией АА [167]. Та же самая точковая мутация промотора была исследована D. Ayres и соавт. (2010) у бразильского скота Нелор, но взаимосвязь не была подтверждена [111]. Влияние транскрипции митохондрий на мраморность также изучалась Н. Mannen и соавт. (1998), которые опубликовали эффект от замещения (А→С) на показатели мраморности у японского черного крупного рогатого скота [190]. Рядом авторов, занимавшихся поиском взаимосвязи полиморфизмов в мтДНК-последовательностях, прилегающих к сайтам связывания для гена TFAM, с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота, установлены ассоциации с толщиной подкожного жира [171, 182], мраморностью мяса [166, 167, 190], ростом и живой массой в различные возрастные периоды [196], лактационной деятельностью [184], качественным составом молока [168], молочной продуктивностью и фертильностью [130] в различных популяциях и породах. Все эти исследования демонстрируют существенную роль и функцию митохондрий в липидном обмене, а так же свидетельствуют о необходимости дальнейшего изучения аллельного полиморфизма гена TFAM.

В России, в частности в Республике Татарстан, ген TFAM крупного рогатого скота не исследовался. Из чего следует, что оценка частоты встречаемости полиморфных вариантов отдельных аллелей и генотипов не проводилась, ассоциации с хозяйственно-полезными признаками продуктивности татарстанской популяции голштинского скота установлены не были. В связи с этим возникает необходимость изучения и поиска ассоциаций полиморфизма гена TFAM с хозяйственно-полезными признаками в популяциях крупного рогатого скота РТ и РФ.

2 ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ РАБОТЫ

2.1 Материалы и методы исследований

Экспериментальная часть исследования проводилась в период 2016-2018 гг. на 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. Для проведения исследования были отобраны 172 коровы-первотелки голштинской породы. Все животные, в период проведения опыта, содержались в равных условиях окружающей среды на стандартном рационе, должном уходе, при нормальном ветеринарном и технологическом обслуживании, в хозяйстве благополучном по инфекционным и инвазионным заболеваниям.

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 Плино, Россия).

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

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) согласно ГОСТ 32915-2014 «Молоко и молочная продукция. Определение жирнокислотного состава жировой фазы методом газовой хроматографии». Общая схема исследования представлена на рисунке 5.



Рисунок 5 – Схема исследования

2.1.1 Материально-техническое оснащение

Лаборатория:

1-ая комната – для выделения ДНК;

2-ая комната – для амплификации ДНК;

3-я комната – для детекции продуктов амплификации ДНК (электрофореза).

Основное оборудование и приборы:

Автоматические дозаторы переменного объема (Pipetman Ultra, Gilson, Франция):

2-5 мкл, 5-50 мкл, 20-200 мкл, 100-1000 мкл

Микроцентрифуга (Mini Spin plus, Германия) от 12 до 16000 g для микроцентрифужных пробирок объемом 1,5 мл.

Твердотельный термостат для пробирок объемом 1,5 мл с диапазоном рабочих температур 25-100 °С «Гном» (ДНК-Технологии, Россия).

Планшеты для пробирок объемом 0,2-0,5 мл и 1,0-2,0 мл (Helicon, Россия)

Центрифуга-вортекс (шейкер) (BIOSAN V-1, Китай).

Амплификаторы «T-100 Thermal Cycler», «My Cycler» (BIO RAD, США) с подложкой на 96 лунок.

Бокс для экстрагирования ДНК с бактерицидной лампой (BIOSAN, Китай)

ПЦР – бокс с бактерицидной лампой DNA/RNA UV – CLEA NER (BIOSAN, Китай)

Электронные весы (Scout Pro, Ohaus Comporation, Pine Brook, NJ, США)

Гель-документирующая видео – система «Gel&Doc» (УФ-трансиллюминатор) (BIO RAD, США)

Камера для горизонтального фореа (Helicon, Россия)

Подложка для заливки геля (Helicon, Россия)

Гребенки для заливки геля на 20 и 22 лунки (Helicon, Россия)

Микроволновая печь «LG MS-1724 W» (LG, Малайзия)

Вытяжной шкаф лабораторный (LAMSYSTEMS, Россия)

Термостат суховоздушный «Hotline» (BLINDER, США)

Источник постоянного тока на 150-460 В «Эльф-8» (ДНК-Технологии, Россия)

Колбы из термостойкого стекла объемом 250 мл (Rasotherm, Германия)

Низкотемпературный морозильник «Стинол» (Россия)

Анализатор молока «Клевер-2М» (Биомер, Россия)

Газовый хроматограф «Clarus 500GC» (PerkinElmer, США)

Расходные материалы:

Одноразовые пробирки на 1500 мкл, 500 мкл и 200 мкл (Axygen, США)

Одноразовые перчатки неопудренные «Semper care» (Latexx Manufacturing Sdn. Dhd., Малайзия)

Одноразовые наконечники для дозаторов 10-1000 мкл (Axygen, США)

Анализатор молока «Клевер-2М» (Биомер, Россия)

Реактивы:

ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота «AppliChem» (ITW Company, Германия)

Набор для выделения ДНК – «Ампли Прайм» ДНК-Сорб-В (Некст Био, Россия)

Деионизированная вода (СибЭнзим, Россия)

10x Taq DNA полимеразы с поставляемым Taq-буфером (СибЭнзим, Россия)

2,5 mM dNTP Mix (СибЭнзим, Россия)

ПЦР-праймеры (различной концентрации (пмоль/мл)) (СибЭнзим, Россия; Евроген, Россия)

Эндонуклеазы рестрикции (различной концентрации (ед./мл)) (СибЭнзим, Россия)

Агароза «AGR-LE-100» 100% (Axygen, США)

Этидиум бромид «AppliChem» 1% (ITW Company, Германия)

Бромфеноловый синий (Sigma, Германия)

Трис-боратный буфер (10× TBE буфер) (MBI Fermentas, St. Leon-Rot, Германия)

Глицерол (Helicon, Россия)

Этанол 96%

Дистиллированная вода

В ходе работы для проведения ДНК-тестирования аллельного полиморфизма генов-маркеров хозяйственно-полезных признаков крупного рогатого скота было взято 172 пробы цельной крови из хвостовой вены коров-

первотелок голштинской породы. Биологический материал отбирался в вакуумные пробирки К-3 EDTA, содержащие антикоагулянт ЭДТА (APEXLAB, Китай).

Выделение ДНК из цельной крови крупного рогатого скота, осуществляли с использованием готового набора «Ампли Прайм» ДНК-Сорб-В (Некст Био, Россия), согласно инструкции производителя.

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

Для анализа SNP во 2 экзоне гена лептин (LEP) использовался метод АС–ПЦР по протоколу, разработанному под руководством Е. Armstrong [109]. Эта система основана на использовании четырех праймеров LEP-F1+LEP-R1 и LEP-F2+LEP-R2, двух внешних, которые ограничивают амплификацию до области гена, где расположена мутация, и двух внутренних, которые генерируют второй ампликон переменного размера, в зависимости от того, какой аллель С или Т гибридизировал его конец 3' (Таблица 5).

Таблица 5 – Праймеры для полимеразной цепной реакции

Ген	Олигонуклеотидная последовательность праймеров	п.о.	Источник
LEP	F1: 5' – GACGATGTGCCACGTGTGGTTTCTTCTGT – 3'	29	E. Armstrong et al., 2011; S. Ye et al., 2001; X.-L. Wu et al., 2005
	R1: 5' – CGGTTCTACCTCGTCTCCAGTCCCTCC – 3'	28	
	F2: 5' – TGTCTTACGTGGAGGCTGTGCCCAGCT – 3'	27	
	R2: 5' – AGGGTTTGGGTGTCATCCTGGACCTTTTCG – 3'	29	
SCD1	F: 5' – ATGTATGGATACCGCCCTTATGAC – 3'	27	M. Taniguchi et al., 2004
	R: 5' – TTCTGGCACGTAACCTAATACCCTAAGC – 3'	28	
TFAM	F: 5' – GTTGTTGCAGAAATCAGCTAAAATG – 3'	25	Z. Jiang et al., 2005
	R: 5' – CATCCACTGAGACTATCGCTGACCT – 3'	26	

Чтобы повысить специфичность реакции, изменение основного положения (несоответствие) вводится между первым и третьим положениями до 3'-конца «внутренних» праймеров. Оба аллеля амплифицируются одновременно, и затем

идентифицируются по размерам их фрагментов в гелевом электрофорезе [236, 239].

Идентификация полиморфизма гена SCD1 в 5 экзоне и гена TFAM промоторной области проводилась методом полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ), используемые комплекты праймеров указаны в таблице 5.

Для ПЦР готовили реакционную смесь, содержащую компоненты, представленные в таблице 6.

Таблица 6 – Состав реакционных смесей для ПЦР по генам LEP, SCD1 и TFAM

Реагенты	Исходная концентрация	Рабочая концентрация	1 проба (мкл)		
			LEP	SCD1	TFAM
dH ₂ O			12,02	13,60	10,00
dNTPs	2,50 мМ	0,25 мМ	2,00	2,00	1,50
Буфер Taq	10×	1×	2,00	2,00	1,50
Taq ДНК pol	5,00 ед.	1,00 ед.	0,20	0,20	0,20
LEP-F1	20,5 мкМ	0,25 мкМ	0,49	-	-
LEP-R1	43,9 мкМ	0,25 мкМ	0,23	-	-
LEP-F2	32,9 мкМ	1,00 мкМ	0,61	-	-
LEP-R2	44,5 мкМ	1,00 мкМ	0,45	-	-
6SCD-F878	100,0 мкМ	0,50 мкМ	-	0,10	-
6SCD-R878	100,0 мкМ	0,50 мкМ	-	0,10	-
TFAM F	75,3 мкМ	0,40 мкМ	-	-	0,08
TFAM R	31,0 мкМ	0,40 мкМ	-	-	0,20
Проба ДНК			2,00	2,00	1,50
Объем всего			20,00	20,00	15,00

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 (Таблица 7).

Температурный режим для этапа отжига подбирался в соответствии с инструкциями производителя реактивов (СибЭнзим, Россия), необходимых для проведения ПЦР-реакции, входящих в состав смеси. Для этого на амплификаторе выставлялись градиенты температур от 58 до 68 °С. Пробные образцы, содержащие тестируемые аплификанты, разгонялись в агарозном геле, результаты

визуализировались в программе видеофиксации Gel&Doc (BIO-RAD, США). Для дальнейших анализов использовалась температура отжига, при которой на агарозном геле были зафиксированы самые четкие фрагменты, наиболее точно поддающиеся идентификации. Для гена LEP оптимальная температура отжига составила 60 °С, для генов SCD1 и TFAM – 65 °С.

Таблица 7 – Температурно-временные режимы протекания полимеразной цепной реакции

Ген	Температурно-временной режим					
	предварит. денатурация	денатурация	отжиг	элонгация	кол-во циклов	финальная элонгация
LEP	94 °С, 5 мин.	94 °С, 10 сек.	60 °С, 10 сек.	72 °С, 10 сек.	40	72 °С, 5 мин.
SCD1	94 °С, 5 мин.	94 °С, 15 сек.	65 °С, 15 сек.	72 °С, 15 сек.	40	72 °С, 7 мин.
TFAM	94 °С, 3 мин.	94 °С, 25 сек.	65 °С, 25 сек.	72 °С, 30 сек.	34	72 °С, 7 мин.

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. Получаемые в ходе реакций конечные продукты представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Фрагменты, получаемые в ходе АС-ПЦР и ПЦР-ПДРФ-анализа

Ген	Исучаемый полиморфизм	ПЦР-фрагменты	Эндонуклеаза рестрикции	Сайт узнавания	ПДРФ-фрагменты
LEP	С/Т	-	-	-	131, 239 131, 164, 239 164, 239
SCD1	Т/С	145	<i>Fsp4H I</i>	GC↑GC CG↓CG	29, 48, 68 29, 48, 68, 116 29, 116
TFAM	А/С	801	<i>Hae III</i>	GG↑CC CC↓GG	152, 187, 462 83, 104, 152, 187, 462 83, 104, 152, 462

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 бромид в 1хТВЕ буфере. Воздействие электрического тока разделяет амплифицированные и рестрикционные фрагменты по молекулярной массе. Фрагменты, имеющие большую нуклеотидную последовательность, – тяжелее, поэтому передвигаются в геле медленнее коротких [38].

Визуализацию, видеофиксацию и документирование осуществляли при помощи УФ-трансиллюминатора и системы Gel&Doc (BIO-RAD, США). Идентификацию генотипов определяли по выявляемому полиморфизму последовательностей ДНК.

Частоту встречаемости генотипов определяли по формуле Г.Н. Шангина-Березовского (1983) [56]:

$$p = n / N, \quad (1)$$

где p – частота генотипа;

n – количество особей, имеющих определенный генотип;

N – общее число особей.

Частоту отдельных аллелей определяли по формуле Е.К. Меркурьевой (1977) [57]:

$$p_A = (2n_{AA} + n_{AB}) / 2N, \quad (2)$$

$$q_B = (2n_{BB} + n_{AB}) / 2N, \quad (3)$$

где p_A – частота аллеля A ;

q_B – частота аллеля B ;

n – количество голов заданного генотипа;

N – количество голов в изучаемой популяции.

Генетическое равновесие в популяции рассчитывалось согласно закону Харди-Вайнберга [63]:

$$q^2 + 2qp + p^2 = 1, \quad (4)$$

где q^2 – доля гомозигот по одному из аллелей;

q – частота этого аллеля;

p^2 – доля гомозигот по альтернативному аллелю;

p – частота соответствующего аллеля;

$2qr$ – доля гетерозигот.

Проверка вариабельности между наблюдаемым и ожидаемым распределением генотипов в популяции проводилась по методу хи-квадрат Пирсона (χ^2):

$$\chi^2 = \sum \frac{(f_o - f_e)^2}{f_e}, \quad (5)$$

где f_o – наблюдаемая частота генотипа;

f_e – ожидаемая частота генотипа.

Из числа первотелок были сформированы опытные группы в соответствии с установленными генотипами животных и проведены исследования хозяйственно-полезных признаков животных.

Относительный прирост и абсолютный среднесуточный прирост за определенный период вычисляли по формулам [43]:

$$O = W_1 - W_0, \quad (6)$$

$$A = (W_1 - W_0) / t \times 1000, \quad (7)$$

где O – относительный прирост, кг;

A – абсолютный среднесуточный прирост, г;

W_1 – живая масса конечная, кг;

W_0 – живая масса начальная, кг;

t – интервал между взвешиваниями, сут.

Коэффициент полноценности лактации (КПЛ) рассчитывали по формуле, предложенной Веселовским [12]:

$$КПЛ = X / (Y - N) \times 100\%, \quad (8)$$

где $КПЛ$ – коэффициент полноценности лактации, %;

X – фактический удой за лактацию, кг;

Y – высший суточный удой, кг;

N – количество дойных дней в лактации, дн.

Коэффициент устойчивости лактации (КУЛ) вычислялся по формуле:

$$КУЛ = (Y_1 - Y_2) / Y_1, \quad (9)$$

где $КУЛ$ – коэффициент устойчивости лактации, %;

Y_1 – удой за 305 дней, кг;

Y_2 – удой за первые 100 дней, кг.

Коэффициент спадаемости лактации (КСЛ) определяли по методике, предложенной Д.В. Елпатьевским (1932) [28]:

$$КСЛ = \Sigma U / (n - 1), \quad (10)$$

$$U = (Y_1 / Y_2) \times 100\%, \quad (11)$$

где $КСЛ$ – коэффициент спадаемости лактации, %;

Y_1 – удой предыдущего месяца, кг;

Y_2 – удой последующего месяца, кг;

n – количество месяцев лактации.

Индекс молочности первотелки устанавливался с использованием формулы:

$$ИМ = U / W \times 100, \quad (12)$$

где $ИМ$ – индекс молочности, кг;

U – удой за 305 дн. лактации, кг;

W – живая масса в лактацию, кг.

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:

$$t_d = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}, \quad (13)$$

где M_1 и M_2 – средняя арифметическая по каждой выборке;

m_1^2 и m_2^2 – квадраты ошибок средней арифметической по каждой выборке [64].

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 Оценка полиморфизма гена LEP в татарстанской популяции крупного рогатого скота голштинской породы

В результате полимеразной цепной реакции с применением комплекта олигонуклеотидных праймеров, указанных в таблице 5 п. 2.1.2, были получены ампликоны, которые в дальнейшем подверглись электрофоретическому разделению. В ходе чего были идентифицированы два аллеля и три генотипа гена LEP. Электрофореграмма в агарозном геле показала сочетание фрагментов, в зависимости от генотипа животного. Различные генотипы представлены следующим количеством оснований: СС – 164 и 239 п.о.; ТС – 131, 164 и 239 п.о.; ТТ – 131 и 239 п.о. (Рисунок 6).

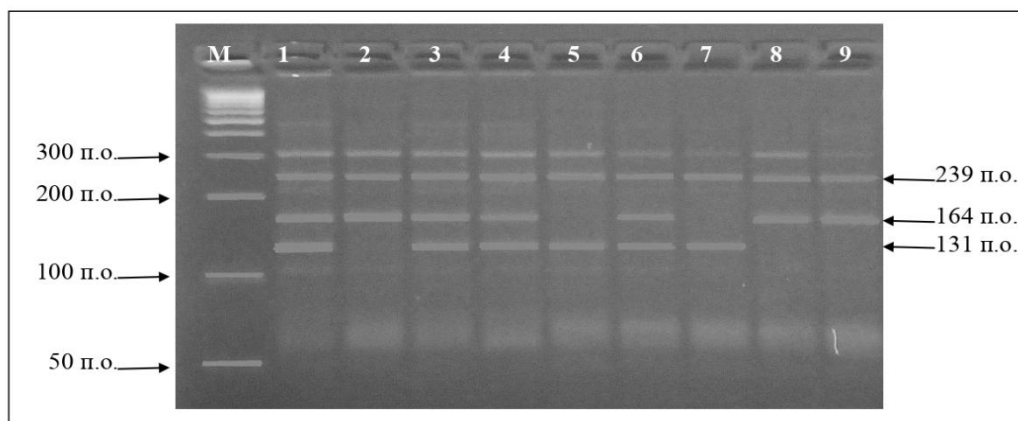


Рисунок 6 – Электрофоретическое разделение продуктов АС-ПЦР гена LEP в агарозном геле (М – ДНК-маркер 50-1000 п.о.; 2, 6, 8, 9 – СС; 1, 3, 4 – ТС; 5, 7 – ТТ)

По данным детекции ДНК 172 коров-первотелок было установлено, что исследуемое поголовье полиморфно по гену лептин. Из таблицы 9 видно, что аллели С и Т распределились 0,616 и 0,384 соответственно; генотип СС – 35,5% (61 гол.), ТС – 52,3% (90 гол.) и ТТ – 12,2% (21 гол.). Тестирование вариабельности между наблюдаемым и ожидаемым распределением методом хи-квадрат установило, что значение $\chi^2 = 1,95$ ниже критического ($\chi_{\text{крит}} = 5,99$; $P \leq$

0,05). Генетическое равновесие в изучаемой популяции по гену LEP, согласно закону Харди-Вайнберга, не нарушено.

Таблица 9 – Частота встречаемости аллелей и генотипов гена LEP

Ген	N=172	Генотип						Частота аллелей		χ^2
		CC		TC		TT				
		п	%	п	%	п	%	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			

Из представленных данных следует, что в ожидаемом распределении наблюдается нарастание гомозиготности и снижение гетерозиготности в указанном стаде.

Из рисунка 7 видно, что группа гетерозиготных особей самая обширная, а животные, имеющие генотип ТТ, представлены наименьшим количеством. Наши результаты согласуются с данными, полученными другими исследователями (Таблица 2, п. 1.1.3), как по молочным породам, так и по крупному рогатому скоту разного направления продуктивности в целом.

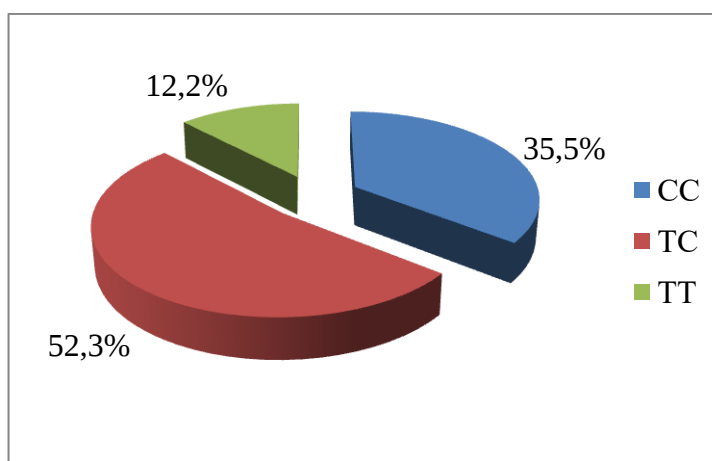


Рисунок 7 – Полиморфизм гена LEP у коров-первотелок

2.2.2 Оценка полиморфизма гена SCD1 в татарстанской популяции крупного рогатого скота голштинской породы

В ходе полимеразной цепной реакции был получен ампликон, размером 145 п.о. Последующая обработка проб эндонуклеазой *Fsp4H* I и визуализация результатов ПДРФ показала, что группа исследуемых коров-первотелок в количестве 172 головы представлена двумя аллелями и тремя генотипами гена SCD1 и является полиморфной популяцией. Фрагменты, прошедшие электрофоретическое разделение, как видно на рисунке 8, имели следующие размеры: СС – 29, 48 и 68 п.о., ТС – 29, 48, 68 и 116 п.о., ТТ – 29 и 116 п.о.

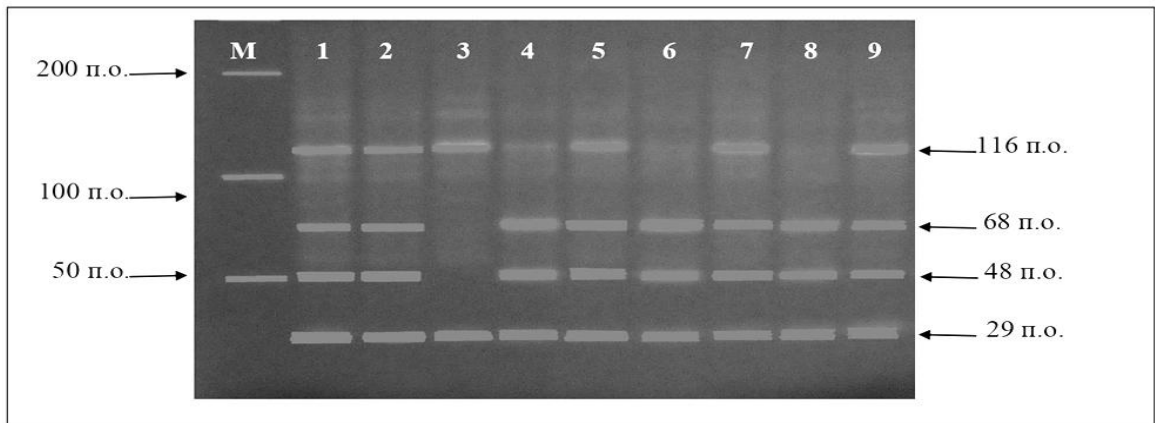


Рисунок 8 – Электрофоретическое разделение продуктов ПЦР-ПДРФ гена SCD1 в агарозном геле (М – ДНК-маркер 50-1000 п.о.; 1, 2, 5, 7, 9 – ТС; 3 – ТТ; 4, 6, 8 – СС)

С помощью ПЦР-ПДРФ-метода были идентифицированы все аллели и генотипы гена стеарил-КоА десатураза. Частота их встречаемости по изучаемой выборке представлена в таблице 10. Согласно расчетам, аллели С и Т распределились таким образом – 0,602 и 0,398, а генотипы СС, ТС и ТТ – 39,0% (67 гол.), 42,4% (73 гол.) и 18,6% (32 гол.).

Хи-квадрат в указанной популяции находится на уровне 2,25, что ниже критического значения ($\chi^2 = 5,99$; $P \leq 0,05$). В ожидаемом распределение

генотипов гена SCD1 в поголовье отмечается незначительное нарастание гетерозиготности.

Таблица 10 – Частота встречаемости аллелей и генотипов гена SCD1

Ген	N=172	Генотип						Частота аллелей		χ^2
		CC		TC		TT				
		п	%	п	%	п	%	C	T	
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			

Проверка генетического равновесия показала, что закон Харди-Вайнберга по локусу гена SCD1-*Fsp4H* I не нарушен.

Как и в ранее опубликованных работах по изучению полиморфизма гена SCD1, так и в нашем опыте, группа гетерозиготных особей получила наибольшую частоту встречаемости (Рисунок 9).

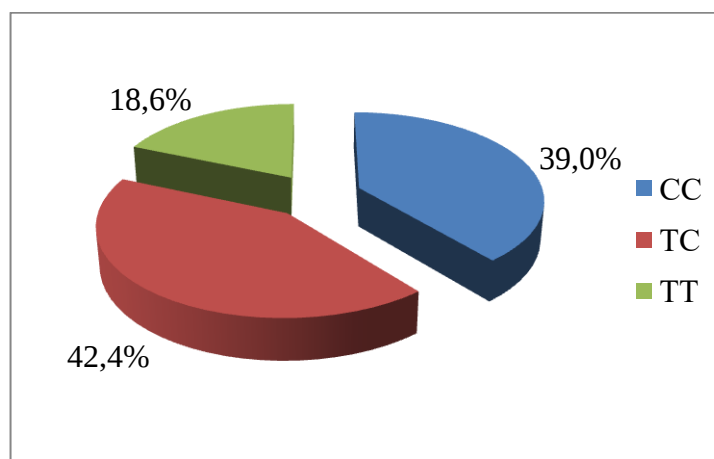


Рисунок 9 – Распределение генотипов гена SCD1 у коров-первотелок

С незначительной разницей в 3,4% представлены животные с генотипом CC. Гомозиготный генотип TT определен у небольшого количества первотелок.

2.2.3 Оценка полиморфизма гена TFAM в татарстанской популяции крупного рогатого скота голштинской породы

После обработки цельного ПЦР-фрагмента 801 п.о. эндонуклеазой рестрикции *Hae* III, электрофоретическое разделение в агарозе показало, что исследуемые образцы представлены двумя аллелями А и С и тремя генотипами АА, СА и СС. В ходе гидролиза образовались фрагменты, имеющие 83, 104, 152, 187 и 462 п.о. (Рисунок 10). При этом генотип АА имел пары оснований 152, 187 и 462; генотип СС – 83, 104, 152 и 462 п.о.; гетерозиготный генотип СА – 83, 104, 152, 187 и 462 п.о.

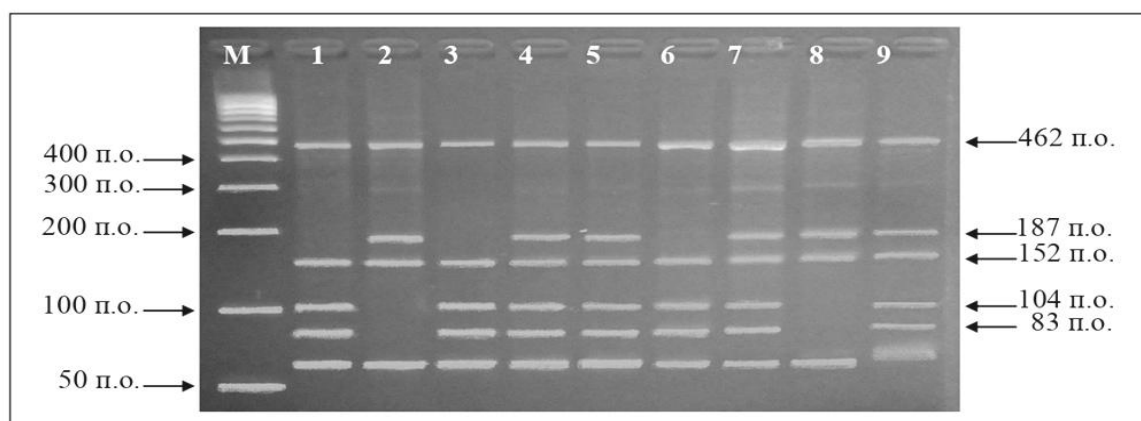


Рисунок 10 – Электрофоретическое разделение продуктов ПЦР-ПДРФ гена TFAM в агарозном геле (М – ДНК-маркер 50-1000 п.о.; СС – 1, 3, 6; АА – 2, 8, 9, СА – 4, 5, 7)

ДНК-тестирование позволило установить, что исследуемое поголовье первотелок полиморфно по гену фактор транскрипции А митохондрий, выявлены все аллели и генотипы (Таблица 11).

Всего в исследуемой группе животных, аллели А и С встречались с частотой равной 0,555 и 0,445. Особей с генотипом TFAM^{AA} было обнаружено 25,0 % (43 гол.), с генотипом TFAM^{CA} – 61,0 % (105 гол.) и с генотипом TFAM^{CC} – 14,0 % (24 гол.).

Таблица 11 – Частота встречаемости аллелей и генотипов гена TFAM

Ген	N=172	Генотип						Частота аллелей		χ^2
		AA		CA		CC				
		п	%	п	%	п	%	A	C	
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			

** – $P \leq 0,01$

В результате тестирования генетической структуры популяции по критерию χ^2 (хи-квадрат) установлено, что расхождение между наблюдаемым и ожиданием распределением генотипов составляет 9,58 ($\chi^2 = 9,21$; $P \leq 0,01$), что свидетельствует о смещении в сторону гомозиготности. В целом по выборке в ожидаемом распределении отмечается снижение гетерозиготных особей СА и увеличение гомозиготных особей АА и СС.

Полученные нами данные о распределении генотипов свидетельствуют (Рисунок 11) о незначительном преобладании генотипа АА над генотипом СС и явном преимуществе гетерозиготного генотипа СА над обеими субпопуляциями особей по гену TFAM, и соответствуют результатам, отраженным в ранее опубликованных работах, освящавших полиморфизм этого гена у голштинского крупного рогатого скота [171].

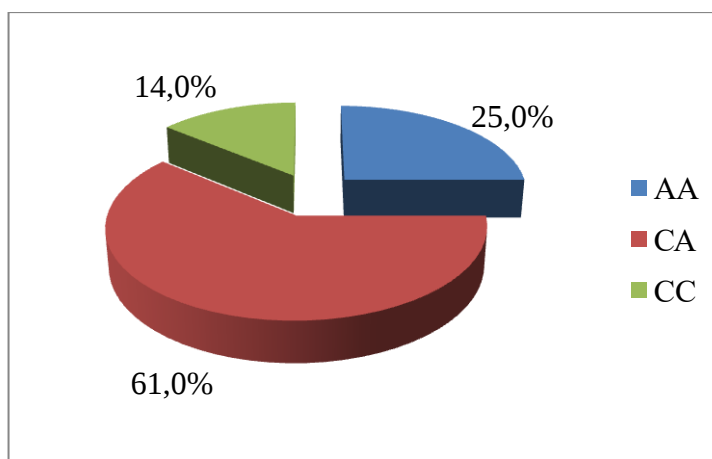


Рисунок 11 – Распределение генотипов гена TFAM у коров-первотелок

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

2.2.4.1 Ассоциация полиморфизма гена LEP с динамикой живой массы коров-первотелок

Для определения взаимосвязи показателей живой массы коров-первотелок с полиморфными вариантами гена лептин изучили динамику контрольных взвешиваний в разные периоды жизни (Рисунок 12).

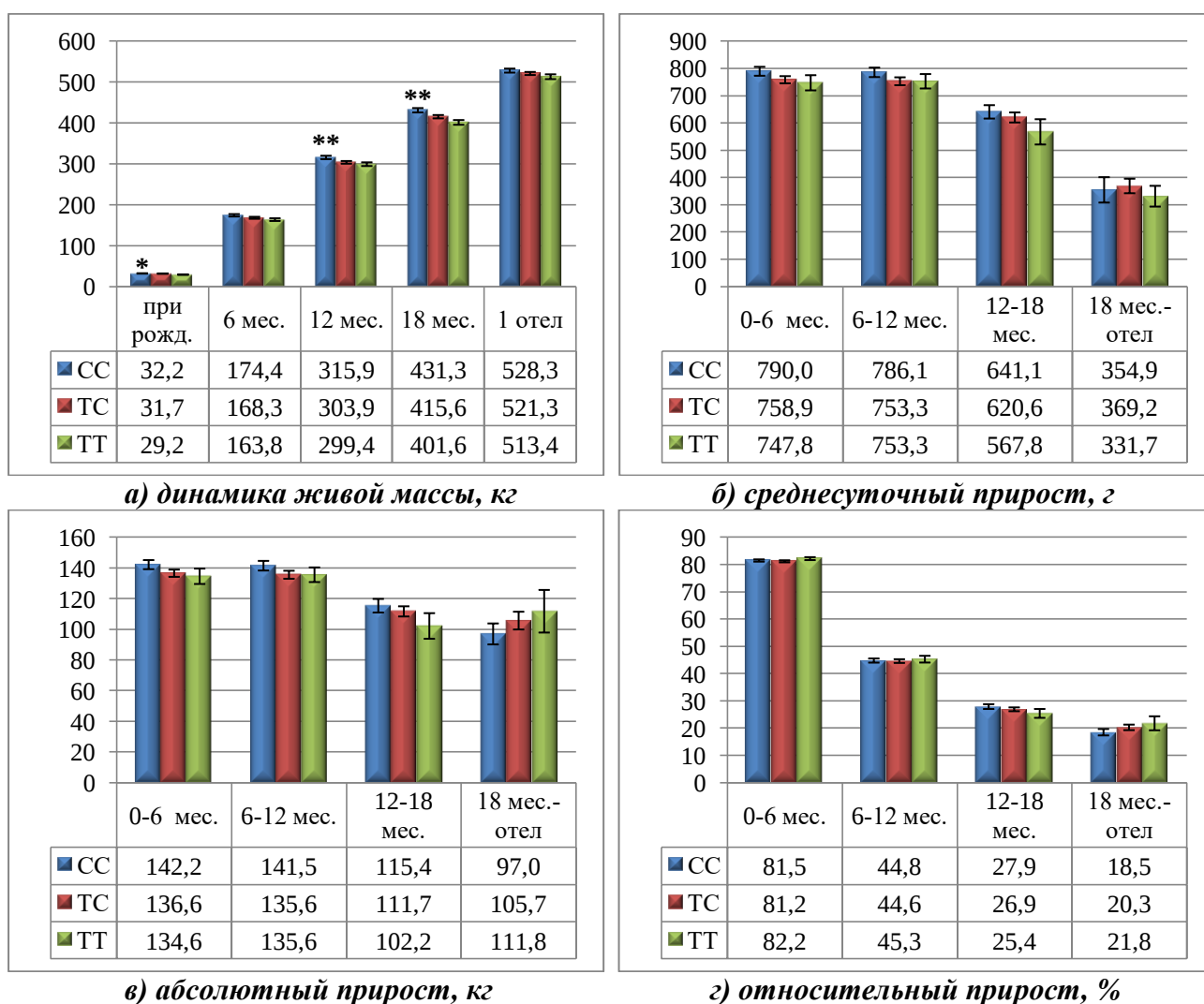


Рисунок 12 – Показатели живой массы коров-первотелок с различными генотипами гена LEP в разные возрастные периоды (* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$)

Анализ показал, что в одних и тех же условиях кормления, животные с генотипом СС превосходили своих сверстниц с другими генотипами по показателям, характеризующим живую массу. Так, при рождении достоверное преобладание по живой массе этой группы над особями с генотипом ТТ составило 3,0 кг (или 9,3%; $P \leq 0,05$). Во все последующие контрольные замеры характер влияния сохранился. В 6 месяцев тенденция составила между нетелями с генотипами ТТ и ТС 6,1 кг (или 3,5%), а ТТ и СС – 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%; $P \leq 0,01$) и 16,5 кг (5,2%; $P \leq 0,001$) соответственно. В 18 месяцев эти животные также занимали первое место, отставание гетерозиготных животных находилось на уровне 15,7 кг (3,6%; $P \leq 0,01$), а ТТ – 29,7 кг (6,9%; $P \leq 0,01$) соответственно. К моменту первого отела разрыв по этому показателю уменьшился, но тенденция осталась. Эти данные согласуются с ранее опубликованными результатами, сообщаемыми о влиянии полиморфизма гена лептин на живую массу крупного рогатого скота породы Нелор в Бразилии [224].

По показателям абсолютного прироста лидирующую позицию до момента первого отела занимали особи с гомозиготным генотипом СС. Разница в приростах у этой субпопуляции по сравнению с телками, имеющих генотипы ТС и ТТ, составила от рождения до 6 месяцев – 5,6 и 7,6 кг, от 6 до 12 месяцев – 5,9 кг (у обеих групп), от 12 до 18 месяцев – 3,7 и 13,2 кг соответственно. В момент первого отела по абсолютному приросту выгодно отличались животные с генотипом ТТ. Вероятно, что эта разница образовалась в связи с тем, что эти особи характеризовались поздним сроком отела.

Относительный прирост, демонстрирующий колебания живой массы за период взвешивания по отношению к контрольному значению, отличается слабо (0,7-3,3%) на протяжении всего развития животных, не зависимо от генотипа и возраста. Сравнивая уровень среднесуточного прироста, можно сделать вывод, что нетели с генотипом СС набирали живую массу в сутки быстрее по сравнению со сверстницами. Но к моменту отела перевес был на стороне гетерозиготных ТС-

особей, чьи среднесуточные приросты составили 369,2 г, относительно 354,9 г и 331,7 г (на 3,87 и 10,2 %) первотелок с генотипами СС и ТТ соответственно. Эти данные статистической достоверности не имеют и носят характер тенденции.

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

Исследования молочной продуктивности в разрезе полиморфизма гена LEP, представленные в таблице 12, демонстрируют превосходство особей LEP^{TT} по уровню удоя, массовой доли жира, выходу молочного жира, выходу молочного белка и суммарному выходу молочного жира и белка.

Таблица 12 – Показатели молочной продуктивности коров-первотелок с различными генотипами гена лептин (LEP)

Показатель	Генотип		
	СС (n = 61)	ТС (n = 90)	ТТ (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 молочный 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***

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Преимущество ТТ-особей над животными с генотипом ТС составило по удою на 673,4 кг (8,9%; $P \leq 0,01$), по массовой доле жира на 0,17%, выходу молочного жира на 38,3 кг (12,8%; $P \leq 0,05$), по выходу молочного белка на 23,2 кг (9,2%; $P \leq 0,05$). Похожие результаты наблюдал F.C. Buchanan и соавт. (2002): в их исследовании животные, гомозиготные по Т-аллелю, продуцировали больше молока против СС-животных. В нашем опыте первотелки, несущие по локусу гена лептин гомозиготный аллель С, выгодно отличались содержанием массовой доли белка. Разница с группой, имеющей минимальный показатель, была недостоверной и равнялась 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%; $P \leq 0,01$), а над группой с генотипом СС – 33,5 кг (6,1%).

В ходе работы установлено, что коровы-первотелки с генотипом ТТ, имеющие высокую молочную продуктивность и наименьшую живую массу, обладают высоким индексом молочности, превышающим меньшее значение по опытному стаду на 142,1 кг (9,7%; $P \leq 0,001$).

На рисунке 13 представлены графики, отображающие стандартную лактацию 305 дн. коров-первотелок с различными генотипами лептин, имеющие индивидуальные изменения в удоях в зависимости от периода лактации.

Анализ показал, что в зависимости от генотипа, изменяется показатель среднемесячного удоя и характер лактационных кривых. Животные с генотипом LEP^{TT} демонстрируют высокий удой на протяжении пяти месяцев лактации (со 2 по 6-ой), пик приходится на третий месяц после отела (815,8 кг).

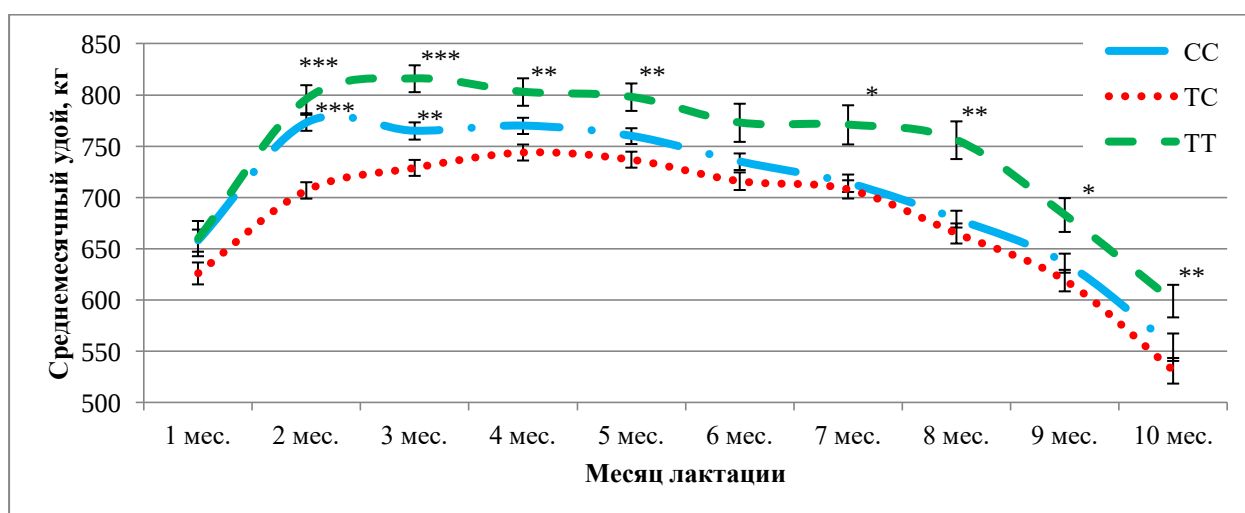


Рисунок 13 – Лактационные кривые молочной продуктивности коров-первотелок с разными генотипами гена LEP (* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$)

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} . Имея стабильно-ровную, без скачков лактационную кривую, их результаты оказались минимальными по изучаемому поголовью, с зафиксированным максимальным среднемесячным удоем (743,7 кг) в четвертом месяце.

По характерному описанию лактационных кривых первотелок всех генотипов гена лептин можно отнести к первому типу. Из чего следует, что исследуемое поголовье голштинского скота имеет крепкую конституцию и постоянство молочной продуктивности. Зафиксировано, что на протяжении всей лактации стабильное превосходство по удою закрепилось за первотелками с генотипом TT , худшие показатели установлены у животных с генотипом TC , особи с генотипом CC 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 % ($P \leq 0,001$) соответственно.

Таблица 13 – Характеристика лактационных кривых коров-первотелок с разными генотипами гена LEP

Показатель	Генотип		
	CC (n = 61)	TC (n = 90)	TT (n = 21)
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

* – $P \leq 0,05$; *** – $P \leq 0,001$

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 TT и CC – 66,0 кг (8,3%; $P \leq 0,01$), TT и TC – 89,2 кг (11,2%; $P \leq 0,01$); в третий месяц между TT и TC – 87,0 кг (10,7%; $P \leq 0,01$); в восьмой месяц между TT и TC – 90,7 кг (12,0%; $P \leq 0,05$).

Чтобы в полной мере оценить персистентность удоя коров-первотелок с различными генотипами LEP были рассчитаны коэффициенты устойчивости и полноценности лактации для каждой групп. Согласно опубликованным ранее материалам исследователей, у высокопродуктивных коров с выраженными высокими удоями коэффициент устойчивости лактации выше 90%, а у коров со снижающимися удоями он находится на уровне 70–80%. У коров с выровненной лактацией коэффициент полноценности лактации составляет 70% и более, а со спадающей – 50% и менее [99].

Значение коэффициента устойчивости лактации в нашей выборке находятся на высоком уровне у первотелок с генотипами ТТ и ТС, чуть отстают особи с генотипом СС. Имея выровненную лактационную кривую, животные с генотипом LEP^{ТС}, не смотря на сниженные среднемесячные удои, отличаются стабильной продуктивностью. Наиболее полноценная лактация наблюдается у особей с гомозиготным генотипом ТТ. Снижение по этому показателю отмечено пропорционально уровню молочной продуктивности. Достоверное преимущество между группами составила: ТТ и СС – 3,4% ($P \leq 0,05$), а ТТ и ТС – 4,4%.

Предположительно, хорошие показатели лактационной деятельности получены вследствие внимательного ухода и должного содержания в хозяйстве ремонтных телок, их выращивании и подготовке к отелу, обеспечения полноценными рационами кормления лактирующих коров-первотелок вне зависимости от сезона года.

2.2.4.3 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами гена LEP в разрезе трех лактаций

Из таблицы 14 следует, что по итогам первой лактации за 305 дней удоя достоверное преимущество по молочной продуктивности установлено за первотелками с генотипом LEP^{ТТ}, разница со сверстницами с генотипом LEP^{ТС} составила 673,4 кг (8,9%; $P \leq 0,01$), с генотипом LEP^{СС} – 459,1 кг (6,1%). Во вторую и третью лактацию выгодно отличалась эта же группа особей. В течение

всех трех стандартных лактаций минимальным удоем характеризовались гетерозиготные ТС-животные. Средний удой за в 1 и 2-ю лактации (305 дней) между коровами с разными генотипами гена LEP различался незначительно и не имел статистической значимости. Третья лактация была укороченная, преимущество по удою коров с генотипом ТТ составило 941,5 (11,5%; $P \leq 0,05$) кг над животными с генотипом ТС и 1329,2 кг (16,2%; $P \leq 0,01$) над гомозиготными СС-особями.

Таблица 14 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами гена LEP за три лактации

Показатель	Генотип		
	СС (n = 61)	ТС (n = 90)	ТТ (n = 21)
I лактация			
Удой за 305 дн., кг	7073,5±117,4	6859,2±139,4	7532,6±235,7**
Удой за полную лактацию, кг	8391,8±248,7	8041,3±295,2	8778,2±297,8
Дойных дней, дн.	366,9±10,8	364,3±10,7	363,1±15,9
Индекс молочности, кг	1349,4±29,0	1326,2±28,9	1468,3±54,3***
Удой на 1 день полной лактации, кг	22,9±0,3*	22,1±0,2	24,2±0,4***
II лактация			
Удой за 305 дн., кг	8059,0±171,5	7719,9±154,8	8222,9±287,5
Удой за полную лактацию, кг	8969,0±287,9	8438,2±242,0	9155,7±418,8
Индекс молочности, кг	1324,7±31,8	1380,1±33,9	1469,6±30,4**
Дойных дней, дн.	357,1±10,0	364,1±14,6	357,3±9,2
Удой на 1 день полной лактации, кг	25,1±0,4***	23,2±0,3	25,6±0,5***
III лактация			
Удой за 305 дн., кг	6883,8±326,8	7271,5±259,9	8213,0±321,6***
Удой за полную лактацию, кг	6883,8±326,8	7271,5±259,9	8213,0±321,6***
Индекс молочности, кг	1321,1±30,5	1421,9±30,3*	1487,4±38,6***
Дойных дней, дн.	271,8±12,6	290,4±11,2	289,5±14,5
Удой на 1 день полной лактации, кг	25,3±0,5	25,0±0,4	28,5±0,6***
Ср. удой за три стандартные лактации, кг	7338,8±364,3	7283,5±248,5	7989,5±228,5*
Ср. удой за три полные лактации, кг	8081,5±621,6	7917,0±342,5	8715,6±273,9
Удой за три полные лактации, кг	24244,6±158,2*	23751,0±166,7	26146,9±227,9***

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Похожая тенденция наблюдалась по результатам, полученным за полные лактации. Наивысшая молочная продуктивность в 1, 2 и 3-ю лактацию так же установлена у коров с гомозиготным генотипом ТТ гена лептин. В первую и во вторую лактацию статистически значимых отличий между группами с разными

генотипами гена LEP не отмечено. Но, в сравнении с количеством надоев молока от коров с генотипами ТС и СС за третью полную лактацию, достоверная разница с удоем коров с генотипом ТТ составила 941,5 (11,5%; $P \leq 0,05$) кг и 1329,2 кг (16,2%; $P \leq 0,01$) соответственно.

Индекс молочности коров с генотипом ТТ выгодно отличался от этого показателя у сверстниц с другими генотипами гена LEP по итогам всех трех лактаций. Достоверная разница за вторую лактацию между группами с генотипами ТТ и СС составила 144,9 кг (9,9%; $P \leq 0,01$), а в третью – 166,3 кг (11,2%; $P \leq 0,001$).

Максимальный средний удой по итогам трех стандартных (305 дн.) и полных лактаций установлен так же у гомозиготных ТТ-животных. Удой за 305 дней, полученный от этой группы превысил показатель удоя гетерозиготных особей на 706,0 кг (8,8%; $P \leq 0,05$), а животных СС-типа на 650,7 кг (8,1%). Среднее количество молока, полученного за полную лактацию, так же превалирует у коров с генотипом ТТ (8715,6 кг), против 8081,5 кг от особей с генотипом СС и 7917,0 кг от особей с генотипом ТС. Достоверная разница по этому показателю между ТТ и ТС-животными составила 798,6 кг или 9,2% ($P \leq 0,05$).

В пересчете на среднесуточный удой, исходя из количества дойных дней и общего надоя за полную лактацию, в разрезе полиморфизма гена лептин, нами установлено, что по всем трем лактациям достоверное превосходство по этому показателю закрепилось за группой животных, имеющих гомозиготный генотип ТТ. Из полученных результатов следует, что разница между среднесуточными удоями животных с генотипами ТТ и ТС составила: за первую лактацию 2,1 кг (8,7%; $P \leq 0,001$), за вторую лактацию 2,4 кг (9,9%; $P \leq 0,001$), за третью лактацию 3,5 кг (12,3%; $P \leq 0,001$); а животных с генотипами ТТ и СС – 1,3 кг (5,4%; $P \leq 0,01$), 0,4 кг (1,6%) и 3,2 кг (11,2%; $P \leq 0,001$) соответственно. Во вторую и третью лактацию уровень среднесуточного удоя субпопуляции с генотипом СС был выше, чем у группы с генотипом ТС на 0,8 кг (3,5%; $P \leq 0,05$) и на 1,9 кг (7,6%; $P \leq 0,001$) соответственно.

По величине удоя, каратного на момент исследования трем полным лактациям, выгодно выделялись особи с генотипом ТТ, преимущество по этому показателю с группой, имеющей генотип СС, составило 1902,3 кг (7,3%; $P \leq 0,001$), а генотип ТС – 2395,9 кг (9,2%; $P \leq 0,001$).

В динамике трех лактаций опытных коров с разными генотипами гена лептин можно отметить, что вне зависимости от генотипа все группы имеют укороченную третью лактацию, о чем свидетельствуют равные показатели удоя (Рисунок 14).

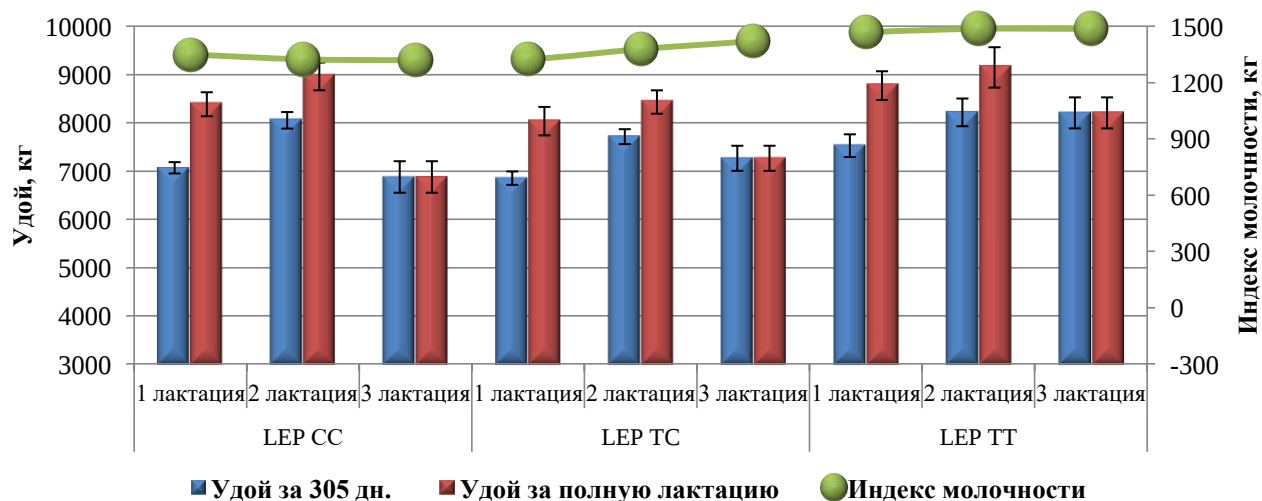


Рисунок 14 – Динамика молочной продуктивности коров с разными генотипами гена LEP в разрезе трех лактаций

В зависимости от генотипа гена LEP наблюдается изменение характера удоя. После увеличения удоев по вторую лактацию по всему исследуемому поголовью, у животных с генотипом СС отмечается спад в третью лактацию ниже уровня удоя, полученного в первую лактацию. В то время как от групп коров с генотипами ТС и ТТ количество надоенного молока в первую лактацию значительно меньше.

Индекс молочности в разрезе трех лактаций в зависимости от генотипа LEP демонстрирует различную динамику. Так, у коров с генотипом СС он имеет тенденцию к снижению, а с генотипом ТС – к повышению, в то время как у

животных с генотипом ТТ, демонстрирующих максимальные показатели по удою, он остается практически неизменен, и имеет самый высокий уровень.

Во вторую и в третью полную лактацию среднесуточный удой по всей исследуемой популяции имел значимый прирост +1,1...+2,9 кг (4,7...11,6%; $P \leq 0,05...0,001$).

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

В таблице 15 приведена сопряженность некоторых признаков продуктивности и воспроизводительной способности исследуемых коров-первотелок. Как видно из представленных данных, все группы особей характеризуются очень слабой отрицательной корреляцией между такими показателями как удой и массовая доля жира (-0,011...-0,109).

Таблица 15 – Взаимосвязь между некоторыми хозяйственно-ценными признаками у коров-первотелок в зависимости от генотипа гена LEP

Показатель	Генотип		
	CC (n=61)	TC (n=90)	TT (n=21)
Удой I лактации (305 дн.) – массовая доля жира	-0,073	-0,109	-0,011
Удой I лактации (305 дн.) – массовая доля белка	0,235	0,311**	0,316
Массовая доля жира – массовая доля белка	-0,097	0,042	-0,151
Удой I лактации (305 дн.) – живая масса в 18 мес.	0,303*	0,302**	0,365
Удой I лактации (305 дн.) – сервис-период	0,103	0,247*	-0,405*
Живая масса при осеменении - удой I лактации (305 дн.)	0,243*	0,084	0,279
Живая масса при осеменении - возраст осеменения	0,596***	0,613***	0,505**
Живая масса при осеменении – сервис-период	0,146	-0,146***	-0,107*
Живая масса при отеле – сервис-период	0,061	0,396	0,475
СОМО – удой I лактации (305 дн.)	0,076	0,218*	0,141
СОМО – массовая доля жира	0,124	0,249*	0,270
СОМО – массовая доля белка	0,600***	0,788***	0,770***
СОМО – суммарный выход мол. жир+мол. белок	0,306*	0,403***	0,367

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Анализ показал, что корреляция между содержанием в молоке массовой доли жира и массовой доли белка существенно не отличалась от нуля, а у

первотелок с генотипами СС и ТТ демонстрировала отрицательное значение. 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 у животных 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 осеменении и возрастом первого осеменения 0,505...0,613 ($P \leq 0,01$...0,001), что свидетельствует о значимости влияния одного показателя на другой в указанной популяции животных. Живая масса при первом отеле так же оказывает разное по степени влияние на коров-первотелок с разными генотипами LEP : от очень слабого у особей с генотипом СС (0,061) до умеренного у животных с генотипами ТС (0,396) и ТТ (0,475).

В проанализированной популяции наблюдается высокая положительная статистически значимая корреляция между содержанием в молоке СОМО и массовой долей белка (0,600...0,788; $P \leq 0,001$). 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} – $r = 0,403$ ($P \leq$

0,001), с генотипом LEP^{CC} – $r = 0,306$ ($P \leq 0,05$), с генотипом LEP^{TT} – $r = 0,367$. Сопряженность СОМО с другими показателями молочной продуктивности (с массовой долей жира и с удоем) так же отмечается положительным влиянием (хотя и слабым), но статистически значимое значение приобретает только у особей с гетерозиготным генотипом ТС $r = 0,218$ и $r = 0,249$ соответственно ($P \leq 0,05$).

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

2.2.5.1 Ассоциация полиморфизма гена SCD1 с динамикой живой массы коров-первотелок

Для определения взаимосвязи показателей живой массы коров-первотелок с различными генотипами гена стеарил-КоА десатуразы изучили данные динамики контрольных взвешиваний в разные периоды жизни всех трех групп, представленные на рисунке 15.

По этим показателям можно проследить, что 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 ($P \leq 0,05$) соответственно. Однако на протяжении последующих контрольных измерений (6, 12, 18 мес. и первый отел) эта группа животных обладала наилучшими показателями живой массы. Разница между телочками с генотипом ТТ, имеющих лучший результат, и телочками с генотипом СС, характеризующихся минимальными показателями в эти периоды, составляла: в 6 мес. – 2,2 кг (1,3%), в 12 мес. – 7,7 кг (2,5%; $P \leq 0,05$), в 18 мес. – 7,5 кг (1,8%).

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%; $P \leq 0,05$) и 13,4 кг (2,5%; $P \leq 0,05$) соответственно.

Судя по показателям абсолютного и среднесуточного прироста, наибольшим потенциалом в физическом развитии обладают животные с

генотипом SCD1^{TT}, а наименьшим SCD1^{CC}. Различия в среднесуточных приростах живой массы носят характер тенденции, максимальные расхождения между группами с различными генотипами SCD1 колеблются в пределах 21,1...47,0 г (или 2,6–12,3%).

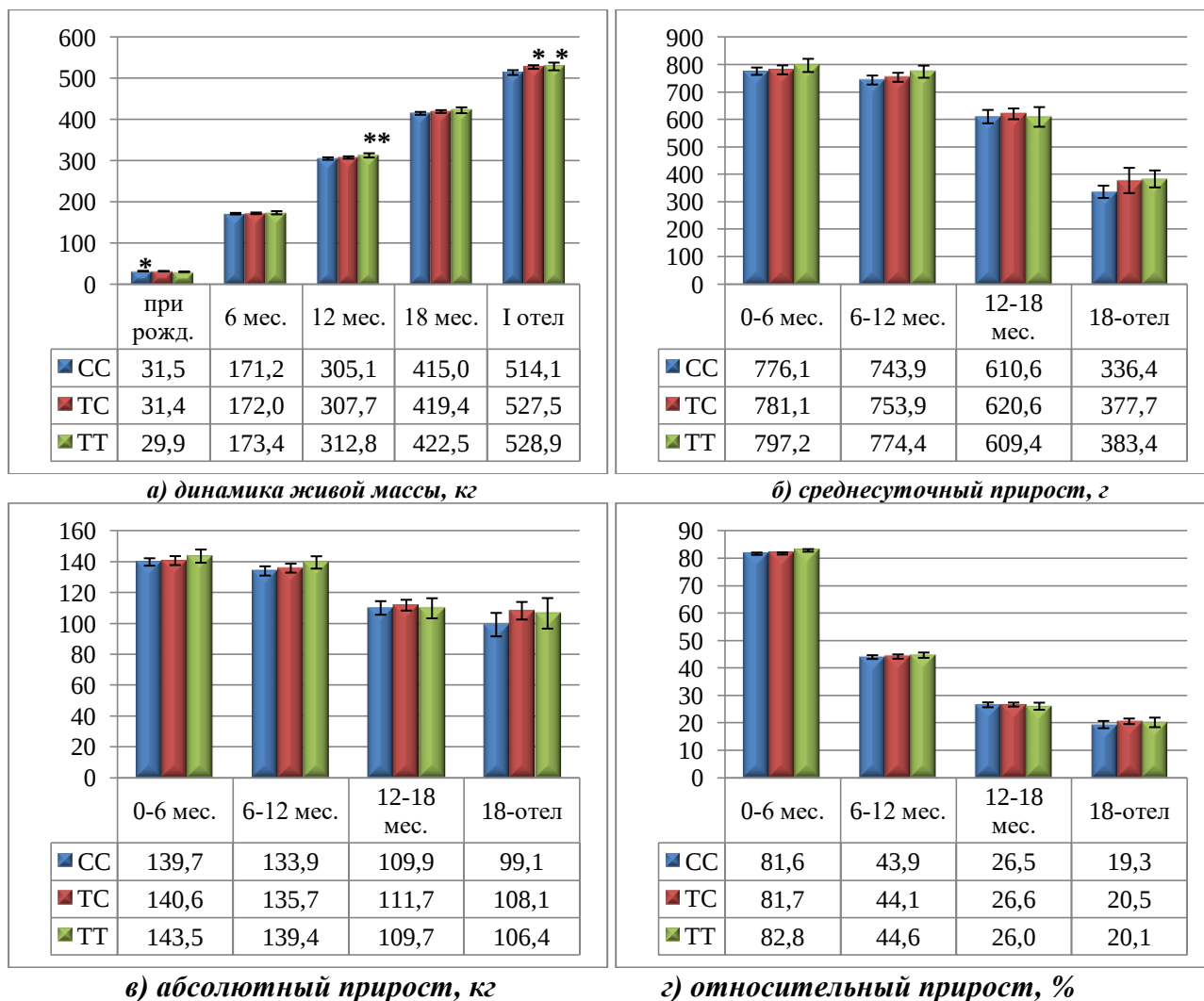


Рисунок 15 – Показатели живой массы коров-первотелок с различными генотипами гена SCD1 в разные возрастные периоды (* – $P \leq 0,05$)

В данных по относительному приросту, характеризующему динамику живой массы от последующего периода к предыдущему, получены незначительные различия (0,6–1,2%).

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

Исследования молочной продуктивности в разрезе полиморфизма гена SCD1, показанные в таблице 16, свидетельствует о преобладании массовой доли жира у первотелок с генотипом ТТ над особями с другими генотипами.

Таблица 16 – Показатели молочной продуктивности коров-первотелок с различными генотипами гена стеарил-КоА десатуразы (SCD1)

Показатель	Генотип		
	СС (n = 67)	ТС (n = 73)	ТТ (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

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Достоверная разница между содержанием массовой доли жира в молоке у особей по локусу SCD1-*Fsp4H* I составила: ТТ к СС – 0,32% ($P \leq 0,05$) и ТТ к ТС – 0,40% ($P \leq 0,01$). 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. В своей работе М.В. Позовникова и соавт. (2017) так же отмечали достоверное превосходство по удою ($P \leq 0,01$) и выходу молочного белка ($P \leq 0,001$) у этих животных над сверстницами с генотипами ТС и ТТ. По суммарному выходу молочного жира и молочного белка наблюдается незначительное превосходство показателя у гомозиготных ТТ-особей, не смотря на то, что эта группа особей имеет минимальный уровень удоя за лактацию, ниже, чем у сверстниц с другими генотипами, содержание массовой доли белка и, как следствие, наименьший выход молочного белка. Тенденция по сумме молочного

жира и белка между животными с генотипами $SCD1^{TT}$ и $SCD1^{CC}$ составила 5,8 кг (1,1%), а между $SCD1^{TT}$ и $SCD1^{TC}$ – 16,8 кг (3,3%).

Установлено, что индекс молочности по всей изучаемой популяции достаточно высок 1318,9...1382,2 кг, что еще раз подчеркивает высокопродуктивные качества оцениваемых животных и прямую зависимость удоя от живой массы животного.

Для полного представления о динамике молочной продуктивности были построены лактационные кривые согласно данным среднемесячного удоя. Из графиков на рисунке 16 видно, что наивысший удой, зафиксирован в 4-ый месяц у коров-первотелок с генотипом стеарил-КоА десатуразы CC, отличающихся в целом максимальным удоем за первую лактацию.

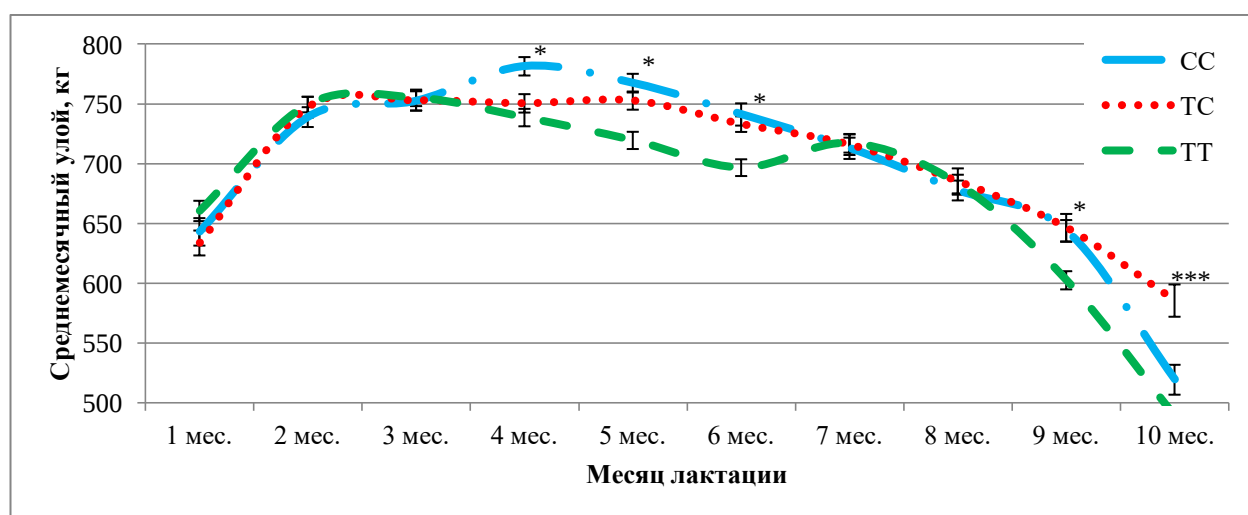


Рисунок 16 – Лактационные кривые молочной продуктивности коров-первотелок с разными генотипами гена $SCD1$ (* – $P \leq 0,05$; *** – $P \leq 0,001$)

На всем протяжении первой лактации особи с гетерозиготным генотипом TC демонстрируют устойчивость лактационной деятельности, стабильный среднемесячный удой, по сравнению со сверстницами других групп (CC и TT).

Животные с генотипом TT, имеющие двухвершинную лактационную кривую, характеризуются неустойчивой молочной продуктивностью и низкой персистентностью.

В связи с этим их показатель устойчивости лактации, представленный в таблице 17, имеет наименьшее значение, относительно других групп животных. Вероятно, что это является отражением слабой мобилизации жировых запасов из-за неспособности стабилизации обменных процессов и координации энергетического обмена [212].

Таблица 17 – Характеристика лактационных кривых коров-первотолок с разными генотипами гена SCD1

Показатель	Генотип		
	CC (n = 67)	TC (n = 73)	TT (n = 32)
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 ^{**}

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

На основании данных о наивысшем суточном удое за каждый месяц лактации, был рассчитан коэффициент полноценности лактации для каждого из выявленных генотипов: CC – 78,4%, TC – 74,7% и TT – 75,9%. Достоверная разница по этому показателю между оцениваемыми субпопуляциями с генотипами CC и TC составила 3,7% ($P \leq 0,01$), а между группами с генотипами CC и TT – 2,5%. Полученные данные свидетельствуют, что первотелки, несущие по локусу гена SCD1-*Fsp4H* I гомозиготный генотип CC превосходят особей с другими генотипами по общему удою, динамике лактационной деятельности и коэффициенту полноценности лактации.

В целом, коэффициент устойчивости лактации, значение которого зафиксировано на уровне 88,5...93,1%, имеет тенденцию увеличиваться от степени выравниваемости лактационных кривых. TC-животные, характеризующиеся равномерными среднемесячными удоями в течение 10 месяцев стандартной лактации, демонстрируют лучший результат по этому признаку. Разница по этому показателю носит характер тенденции и составляет: между группами первотелок с генотипами TC и CC – 0,2%, а между группами с генотипами TC и TT – 4,6%. Особи с генотипом TC отличаются низким коэффициентом спадаемости

лактации, достоверное преимущество относительно групп SCD1^{ТТ} и SCD1^{СС} составило 2,37% ($P \leq 0,01$) и 2,38% ($P \leq 0,001$).

2.2.5.3 Оценка динамики молочной продуктивности коров с разными генотипами гена SCD1 в разрезе трех лактаций

Показатели, характеризующие молочную продуктивность коров с разными генотипами SCD1 исследуемой популяции, представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами гена SCD1 за три лактации

Показатель	Генотип		
	СС (n = 67)	ТС (n = 73)	ТТ (n = 32)
I лактация			
Удой за 305 дн., кг	7052,8±140,2	7027,1±133,6	6920,9±238,0
Удой за полную лактацию, кг	7702,5±486,1	8445,8±302,2	8235,8±244,2
Индекс молочности, кг	1382,2±31,2	1332,2±27,7	1318,9±53,2
Дойных дней, дн.	329,8±16,5	382,3±12,2*	357,4±8,8
Удой на 1 день полной лактации, кг	23,4±0,3**	22,1±0,2	23,0±0,3*
II лактация			
Удой за 305 дн., кг	7962,3±173,9	7622,4±238,2	7946,1±176,4
Удой за полную лактацию, кг	8843,3±313,3	8064,6±304,7	8769,7±277,7
Индекс молочности, кг	1436,6±34,6	1393,8±34,7	1386,6±38,7
Дойных дней, дн.	355,6±11,5	338,2±12,5	341,6±7,8
Удой на 1 день полной лактации, кг	24,9±0,4	23,8±0,3	25,7±0,5**
III лактация			
Удой за 305 дн., кг	7598,8±365,8	6715,2±294,5	6793,9±254,6
Удой за полную лактацию, кг	7598,8±365,8	6715,2±294,5	6793,9±254,6
Индекс молочности, кг	1286,7±25,9	1431,1±21,7	1531,6±38,3
Дойных дней, дн.	304,9±18,7*	285,2±12,8	247,8±14,4
Удой на 1 день полной лактации, кг	24,9±0,4*	23,5±0,4	27,4±0,6***
Ср. удой за три стандартные лактации, кг	7537,9±264,3	7121,6±266,1	7220,3±364,7
Ср. удой за три полные лактации, кг	8048,2±398,7	7741,9±524,9	7933,1±590,1
Удой за три полные лактации, кг	24144,6±154,1	23225,6±184,1	23799,4±255,1

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Они свидетельствуют о том, что на протяжении всей лактационной деятельности незначительное преимущество по удою за 305 дней лактации, среднему удою за три лактации и пожизненному удою наблюдается у коров с

гомозиготным генотипом СС, по сравнению с удоем сверстниц, имеющих другие генотипы гена LEP. По уровню удоя за полные 2 и 3-ю лактации лидируют так же эти животные. Итоги первой полной лактации показали, что у гетерозиготных ТС-животных дойных дней было достоверно больше, чем у животных с генотипом СС и ТТ на 52,5 дня (13,7%; $P \leq 0,05$) и на 24,9 дня (6,5%) соответственно. Вероятно, это и стало причиной повышения общего удоя за полную первую лактацию у этих особей.

В ходе анализа третьей лактации установлено, что у группы с генотипом ТТ количество дойных дней составило 247,8, против 304,9 и 285,2 дней полной лактации у групп с генотипами СС и ТС.

Не смотря на лидерство гомозиготных СС-особей по среднему удою за три стандартные и три полные лактации, а так же общему уровню продуктивности по итогам трех лактаций, максимальный среднесуточный удой за вторую и третью лактацию коров с генотипом ТТ превышает показатели сверстниц. Разница в первую лактацию между среднесуточным удоем групп с генотипами ТТ и ТС составила 0,9 кг (3,9%; $P \leq 0,05$), во вторую – 1,9 кг (7,4%; $P \leq 0,01$), в третью – 3,9 кг (14,2%; $P \leq 0,001$). Занимающие вторую позицию по этому показателю животные с генотипом СС, выгодно отличались от коров с генотипом ТС в первую лактацию на 1,3 кг (5,6; $P \leq 0,01$), во вторую на 1,1 кг (4,4%) и в третью на 1,4 кг (5,6%; $P \leq 0,05$).

В динамике молочной продуктивности в разрезе трех лактаций коров с разными генотипами гена SCD1 (Рисунок 17) у коров с генотипом СС наблюдается рост удоев во вторую +909,5 кг ($P \leq 0,001$) и незначительный спад - 363,5 кг в третью стандартную лактацию (305 дн.). У животных с генотипами ТС и ТТ уровень молочной продуктивности по итогам третьей опускается ниже показателя за первую стандартную лактацию на 311,9 кг и 127,0 кг, и значительно ниже количества молока, надоенного во вторую на 907,2 кг ($P \leq 0,05$) и 1152,2 кг ($P \leq 0,001$) соответственно.

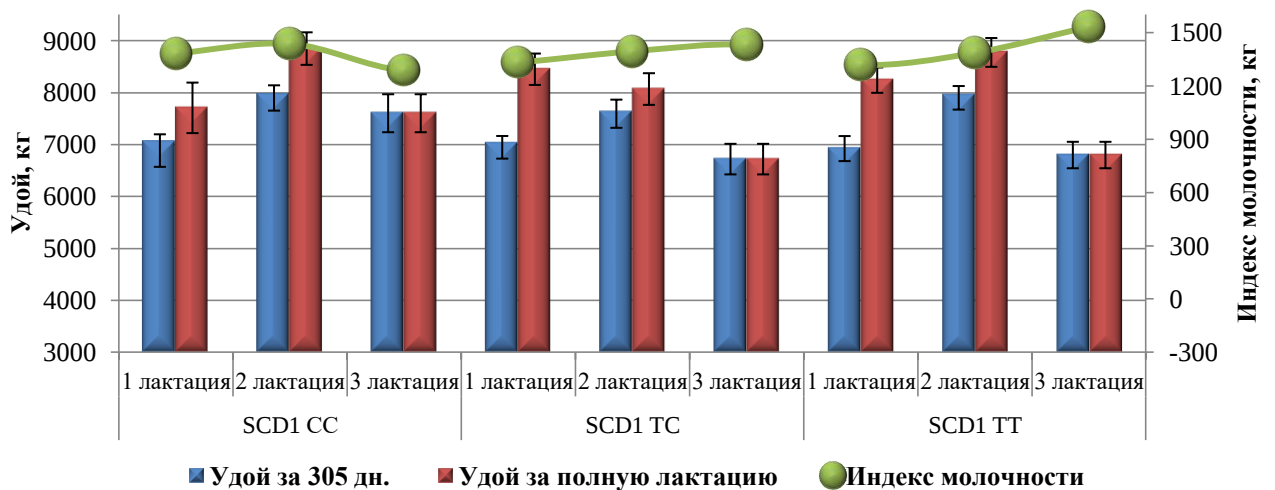


Рисунок 17 – Динамика молочной продуктивности коров с разными генотипами гена SCD1 в разрезе трех лактаций

У групп с генотипами TC и TT наблюдается схожая динамика индекса молочности – он возрастает от лактации к лактации. Статистически значимая разница по индексу молочности коров с генотипом TT в третью лактацию составила 145, кг ($P \leq 0,01$) по отношению ко второй. У животных, имеющих гомозиготный генотип CC, этот показатель увеличивается во вторую лактацию и значительно ($-149,9$ кг; $P \leq 0,001$) уменьшается в третью.

Среднесуточный удой за полную лактацию повысился у коров всех генотипов гена LEP от первой ко второй и от первой к третьей лактации на $+1,4...+4,4$ кг ($5,9...16,1$ %; $P \leq 0,05...0,001$).

2.2.5.4 Ассоциация полиморфизма гена SCD1 с жирнокислотным составом молока

Исследование жирнокислотного состава молока изучаемого поголовья в разрезе полиморфизма гена SCD1 показало, что у всех опытных групп коров-первотелок содержание жирных кислот находится в допустимых пределах, согласно нормам, прописанным в «Методических указаниях МУ 4.1/4.2.2484 – 09. Оценка подлинности и выявление фальсификации молочной продукции» (2009), а

так же в стандарте кодекса для пищевых жиров и масел, для которых не существует отдельных стандартов (CODEX STAN 19-1981, REV. 2-1999) и в стандарте кодекса для поименованных животных жиров (CODEX STAN 211-1999). В таблице 19 представлены средние значения жирнокислотного состава молочного жира коровьего молока по результатам газовой хроматографии.

Таблица 19 – Содержание жирных кислот в молочном жире молока коров-первотелок с разными генотипами гена SCD1

Жирная кислота (ЖК)	Генотип			Допустимое содержание ЖК
	CC (n = 67)	TC (n = 73)	TT (n = 32)	
Лауриновая C12:0	3,34±0,06	3,54±0,05*	3,31±0,08	2,0-4,4, %
Миристиновая C14:0	12,85±0,09*	12,61±0,09	12,53±0,12	8,0-13,0, %
Миристолеиновая C14:1	1,14±0,01	1,15±0,01	1,19±0,02*	0,6-1,5, %
Пальмитиновая C16:0	27,52±0,16**	27,43±0,15*	26,88±0,18	21,0-33,0, %
Пальмитолеиновая C16:1	1,79±0,01	1,81±0,01	1,84±0,02*	1,5-2,4, %
Стеариновая C18:0	8,50±0,16	8,75±0,14	8,63±0,17	8,0-13,5, %
Олеиновая C18:1	21,00±0,23	21,81±0,23	23,06±0,24***	20,0-32,0, %
Линолевая C18:2 (CLA)	2,84±0,04	2,88±0,03	2,99±0,05*	2,2-5,5, %
Линоленовая C18:3 (CLA)	0,40±0,01	0,41±0,01	0,41±0,02	0-1,5, %

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

По нашим данным, достоверная разница в содержании лауриновой (C12:0) насыщенной жирной кислоты в молоке животных с генотипом ТС и молоком групп особей, имеющих гомозиготные генотипы СС и ТТ, составила 0,20% ($P \leq 0,05$) и 0,23% ($P \leq 0,05$) соответственно.

Из полученных результатов следует, что животные с генотипом СС гена SCD1 отличались более высоким содержанием миристиновой (C14:0) насыщенной жирной кислоты. Достоверное различие по этому показателю между СС-особями и первотелками с генотипом ТТ зафиксировано на уровне 0,32% ($P \leq 0,05$). Большое содержание пальмитиновой (C16:0) насыщенной жирной кислоты так же наблюдается в молочном жире особей с генотипами СС и ТС. Разрыв по этому признаку составил 0,64% ($P \leq 0,01$) между животными с генотипами СС и ТТ, и 0,55% ($P \leq 0,05$) между животными с генотипами ТС и ТТ.

Генотип ТТ оказал значительное влияние на содержание миристолеиновой (C14:1), пальмитолеиновой (C16:1) и олеиновой (C18:1) полиненасыщенных жирных кислот и конъюгированной линолевой кислоты (C18:2). 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% ($P \leq 0,05$) по миристолеиновой, 0,05% ($P \leq 0,05$) по пальмитолеиновой, 2,06% ($P \leq 0,001$) по олеиновой и 0,15% ($P \leq 0,001$) 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% ($P \leq 0,001$). По содержанию конъюгированной линоленовой (C18:3) полиненасыщенной жирной кислоты достоверных различий между особями с разными генотипами гена SCD1 не обнаружено.

Оптимальным соотношением жирных кислот в молочном жире характеризуются коровы-первотелки, имеющие гомозиготный генотип ТТ (Таблица 20).

Таблица 20 – Соотношение жирных кислот в молочном жире молока коров-первотелок с разными генотипами гена SCD1

Показатель	Генотип			Границы соотношений ЖК
	СС (n = 67)	ТС (n = 73)	ТТ (n = 32)	
Пальмитиновая / Лауриновая	8,24±0,09 ^{***}	7,75±0,08	8,12±0,10 ^{**}	5,8-14,5
Стеариновая / Лауриновая	2,54±0,03	2,47±0,02	2,61±0,06 [*]	1,9-5,9
Олеиновая / Миристиновая	1,63±0,03	1,73±0,03	1,84±0,04 ^{*,***}	1,6-3,6
Линолевая / Миристиновая	0,22±0,01	0,23±0,01	0,24±0,01	0,1-0,5
Индекс десатурации (DI)	0,46±0,01	0,47±0,01	0,51±0,02 [*]	0,4-0,7

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Такие результаты свидетельствует о сбалансированности жирнокислотного состава молока у этих животных и, как следствие, положительном влиянии его на организм человека.

По полученным данным выгодное отличие по соотношению жирных кислот олеиновая/миристиновая между животными с генотипами ТТ и СС составило 0,21

($P \leq 0,001$), между животными с генотипами ТТ и ТС - 0,11 ($P \leq 0,05$). Соотношение кислот пальмитиновой к лауриновой и стеариновой к лауриновой у особей с генотипами ТТ и ТС составило 0,37 ($P \leq 0,01$) и 0,14 ($P \leq 0,05$) соответственно.

Максимальное значение индекса десатурации наблюдается так же у животных с генотипом ТТ по гену SCD1. Преимущество по этому показателю указанной группы животных и особей с генотипом СС составило 0,05 ($P \leq 0,05$), а с первотелками, имеющими гетерозиготный генотип ТС – 0,04.

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

Данные, представленные в таблице 21, свидетельствуют о наличии генетической корреляции между показателями живой массы, молочной продуктивностью и воспроизводительной способностью коров-первотелок с различными генотипами гена SCD1.

Таблица 21 – Взаимосвязь между некоторыми хозяйственно-ценными признаками у коров-первотелок в зависимости от генотипа гена SCD1

Показатель	Генотип		
	CC (n=67)	TC (n=73)	TT (n=32)
Удой I лактации (305 дн.) – массовая доля жира	0,113	-0,048	-0,385*
Удой I лактации (305 дн.) – массовая доля белка	0,212	0,265*	0,353*
Массовая доля жира – массовая доля белка	0,126	-0,037	-0,296
Удой I лактации (305 дн.) – живая масса в 18 мес.	0,271*	0,206	0,423**
Удой I лактации (305 дн.) – сервис-период	0,221	0,193	-0,061
Живая масса при осеменении - удой I лактации (305 дн.)	0,068	0,219	0,320
Живая масса при осеменении - возраст осеменения	0,583***	0,674***	0,412**
Живая масса при осеменении – сервис-период	0,415***	-0,278**	-0,182
Живая масса при отеле – сервис-период	0,331**	0,212	0,358*
СОМО – удой I лактации (305 дн.)	0,255*	0,033	0,260
СОМО – массовая доля жира	0,306**	0,273*	-0,014
СОМО – массовая доля белка	0,853***	0,519***	0,783***
СОМО – суммарный выход мол. жир+мол. белок	0,463***	0,258**	0,392**

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Корреляция для показателей молочной продуктивности (удой и массовая доля белка, удой и содержание обезжиренного молочного остатка) имеют очень слабую, но положительную взаимосвязь между собой ($0,212 \dots 0,353$; $P \leq 0,05$) в анализируемой популяции. А корреляция удой-массовая доля жира показали отрицательный результат у животных с генотипами ТС ($-0,048$) и ТТ ($-0,385$; $P \leq 0,05$) и сравнительно невысокий, но положительный у СС-особей $r = 0,113$.

С высокой достоверностью положительно связаны друг с другом такие показатели, как возраст и живая масса при первом плодотворном осеменении. Для животных с различными генотипами коэффициент корреляции варьировался от $r = 0,412$ ($P \leq 0,01$) у $SCD1^{TT}$ до $r = 0,583$ и $r = 0,674$ ($P \leq 0,001$) у $SCD1^{CC}$ и $SCD1^{TC}$ соответственно.

Протяженность сервис-периода и живая масса при первом отеле оцениваемого поголовья так же находятся в положительной слабой ($0,212$) и умеренной ($0,331 \dots 0,358$; $P \leq 0,01$) корреляции во всех группах. Статистически значимые результаты отмечены у животных с гомозиготным СС и ТТ генотипами соответственно. Живая масса нетелей в 18 месячном возрасте, как оказалось, имеет слабую и умеренную по степени влияния, но положительную и достоверную корреляцию с уровнем удоя в первую лактацию. Значение для этих показателей у животных разных генотипов варьировалось от $r = 0,206$ до $r = 0,423$ ($P \leq 0,01$).

Весьма значительный положительный коэффициент корреляции между содержанием СОМО и массовой долей белка в молоке был получен во всем опытном поголовье крупного рогатого скота. Характер среднего по степени влияния наблюдается у гетерозиготных особей ($0,519$; $P \leq 0,001$), высокого - у первотелок с генотипами $SCD1^{CC}$ - $r = 0,853$ ($P \leq 0,001$), $SCD1^{TT}$ - $r = 0,783$ ($P \leq 0,001$). Предполагаемая взаимосвязь суммарного выхода молочного жира и белка с СОМО так же подтверждена наличием положительной умеренной корреляцией и статистической значимостью показателей во всех трех группах животных. Полученные данные приобрели следующие значения для различных генотипов

гена SCD1: CC – $r = 0,463$ ($P \leq 0,001$), TC – $r = 0,258$ ($P \leq 0,01$), TT – $0,392$ ($P \leq 0,01$).

Стоит отметить, что коровы-первотелки, несущие по локусу гена SCD1-*Fsp4H* I гомозиготный генотип CC, характеризуются положительной взаимосвязью по всем исследованным нами признакам продуктивности, оказывающей друг на друга влияние в той или иной степени.

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

2.2.6.1 Ассоциация полиморфизма гена TFAM с динамикой живой массы коров-первотелок

Из данных, приведенных на гистограммах рисунка 18 видно, что на протяжении контрольных взвешиваний в различные возрастные периоды (6, 12 и 18 месяцев), за исключением момента первого отела, преобладание живой массы отмечено у первотелок с генотипом AA. К сожалению, эти данные носят характер тенденции и не имеют статистической значимости, что свидетельствует о незначительном влиянии полиморфизма гена TFAM на живую массу крупного рогатого скота в исследуемом нами поголовье на ранних этапах развития.

Во время взвешивания после отела статистически значимое преимущество закрепилось за группой особей с генотипом CC. Разница между этими животными и сверстницами с другими генотипами составила: CC и AA – 16,9 кг (3,2%; $P \leq 0,05$), CC и CA – 3,8 кг (0,7%), а CA и AA – 13,1 кг (2,5%). По относительному приросту (кг) наблюдались несущественные различия. Достоверность в разнице динамики живой массы зафиксирована в период от 18 месяцев до первого отела у группы первотелок с генотипом CC.

Установлены расхождения по абсолютному приросту в 16,9 кг (3,4%; $P \leq 0,05$) в выборках с генотипами CC и AA, и 3,4 кг (0,7%) между особями CC и CA генотипов SCD1. В это же время среднесуточный прирост между группами с генотипами CC и AA достоверно различался на 156,7 г (или 33,9%; $P \leq 0,05$). По

показателям среднесуточного прироста в другие периоды различия носили характер тенденции и не имели значимости.

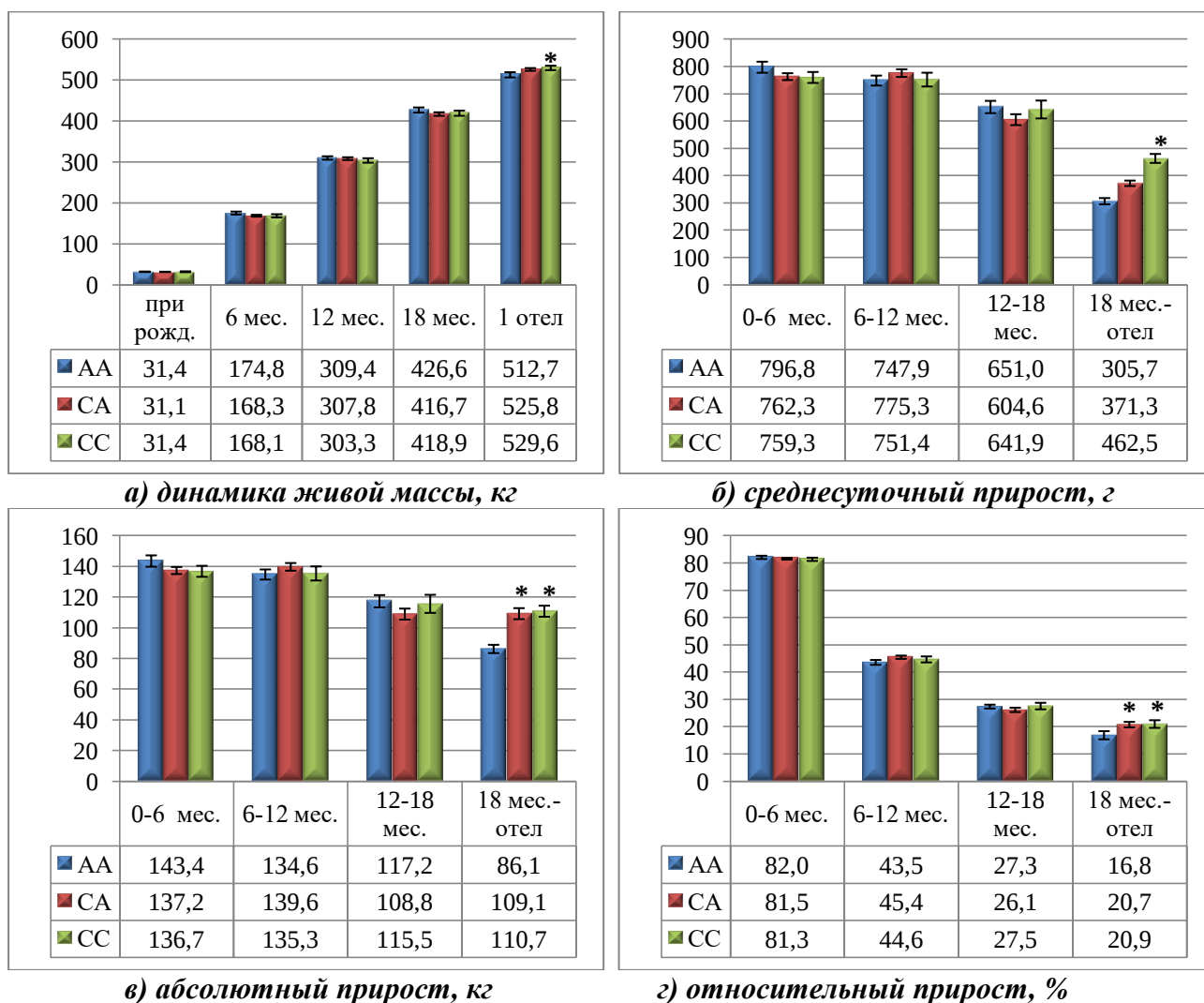


Рисунок 18 – Показатели живой массы коров-первотелок с различными генотипами гена TFAM в разные возрастные периоды (* – $P \leq 0,05$)

Относительный прирост, выраженный соотношением динамики живой массы к фиксированному показателю живой массы во время контрольного взвешивания, колеблется в пределах 0,7–1,9% на протяжении всех этапов развития. Исключение составляет разница по этому показателю между животными с генотипами CC и AA – 4,1% ($P \leq 0,05$) и CA и CC – 3,9% ($P \leq 0,05$) в период от 18 месяцев до первого отела.

В отношении живой массы различными исследователями получены достаточно противоречивые данные. Так, по результатам, опубликованным D. Ayres и соавт. (2010), животные с генотипом СС имели максимальную живую массу во время взвешиваний в 12 месяцев – 303,9 кг, по сравнению с животными, идентифицированными как АА и СА-генотипы (293,0 и 298,0 кг) [111].

Однако в работе K. Kaplanová и соавт. (2009), описано преимущество группы первотелок с генотипом СА по этому показателю в возрасте 18 месяцев – 553,7 кг, в отличие от субпопуляций с генотипами АА и СС (550,5 и 353,0 кг) [171]. Исследователь H. Moradgholi с соавт. (2016) не обнаружили существенных различий между генотипами гена TFAM и признаками роста у аборигенного иранского крупного рогатого скота [196]. Таким образом, можно сделать вывод, что динамика живой массы имеет незначительную ассоциативную связь с полиморфными вариантами гена TFAM.

Коэффициенты спада роста по исследуемому поголовью в ассоциации с полиморфизмом гена TFAM, установленные для различных генотипов составили: АА – 82,4%, СА – 78,2%, СС – 79,4%. Такие показатели свидетельствуют о выраженном молочном типе изучаемого стада голштинского крупного рогатого скота.

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

Производство молока напрямую зависит от митохондриального синтеза АТФ [160]. Наблюдения ученых позволили установить, что в клетках эпителия молочной железы дойных коров первую лактацию, наряду с увеличением удою у высокопродуктивных животных, так же происходит увеличение митохондрий [106]. Исходя из этого, были изучены показатели молочной продуктивности исследуемого поголовья по лактационной деятельности и общему удою, процентному содержанию жира и белка, а так же выходу молочного жира и белка в ассоциации с полиморфизмом гена фактор транскрипции А митохондрий.

Исследование взаимосвязи признаков молочной продуктивности в разрезе полиморфизма гена TFAM показано в таблице 22, из которой видно, что наибольший удой за первую лактацию получен от коров-первотелок с генотипом AA. Преимущество по отношению к другим группам составило: AA и СА – 314,1 кг (4,3%), AA и СС – 188 кг (2,3%).

Таблица 22 – 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 доля 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

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Эти же животные, несущие гомозиготный аллель А по локусу гена TFAM-*Нае* III, достоверно выгодно отличались по многим характеристикам. Разница этих животных с теми, кто являлся носителем генотипа СС, имеющими наименьшие показатели, зафиксирована на уровне: 0,16% ($P \leq 0,01$) по массовой доле белка и 17,6 кг (7,0%; $P \leq 0,05$) по выходу молочного белка. По индекс молочности различие между группами особей TFAM^{AA} и TFAM^{CA} достигло 104,8 кг (7,3%; $P \leq 0,05$). Однако содержание и выход молочного жира преобладали в молоке, продуцируемом первотелками с генотипом СС. Тенденция в отношении массовой доли жира (%) составила 0,14% и 0,30% по сравнению со сверстницами, обладающими генотипами СА и АА, а по выходу молочного жира (кг) – 16,1 кг (5,7%) и 14,1 кг (5,0%) с этими же животным соответственно.

Суммарный выход молочного жира и молочного белка имеет максимальный вес у особей с генотипом TFAM^{AA}, равный 519,5 кг, что на 21,1 кг (или 4,1%) выше этого показателя, чем у особей с генотипом TFAM^{CA}, и на 3,5 кг (или 0,7%) по сравнению с результатом, установленным животными с генотипом TFAM^{CC}.

Содержание в молоке СОМО (сухой обезжиренный молочный остаток) достоверно преобладает у группы животных с генотипом TFAM^{AA}, разница с субпопуляцией, имеющей генотип СА составила 0,09% ($P \leq 0,05$). Полноценностью лактации отличились гетерозиготные коровы-первотелки, на 2,6 и 2,5 % опередив группы, имеющие гомозиготные генотипы AA и CC.

Представление о молочной продуктивности за первую лактацию коров-первотелок с разными генотипами TFAM будет более полным при построении лактационных кривых и оценке лактационной деятельности в разные периоды доения. В связи с этим исследовались показатели среднемесячного удоя, проиллюстрированные на рисунке 19.

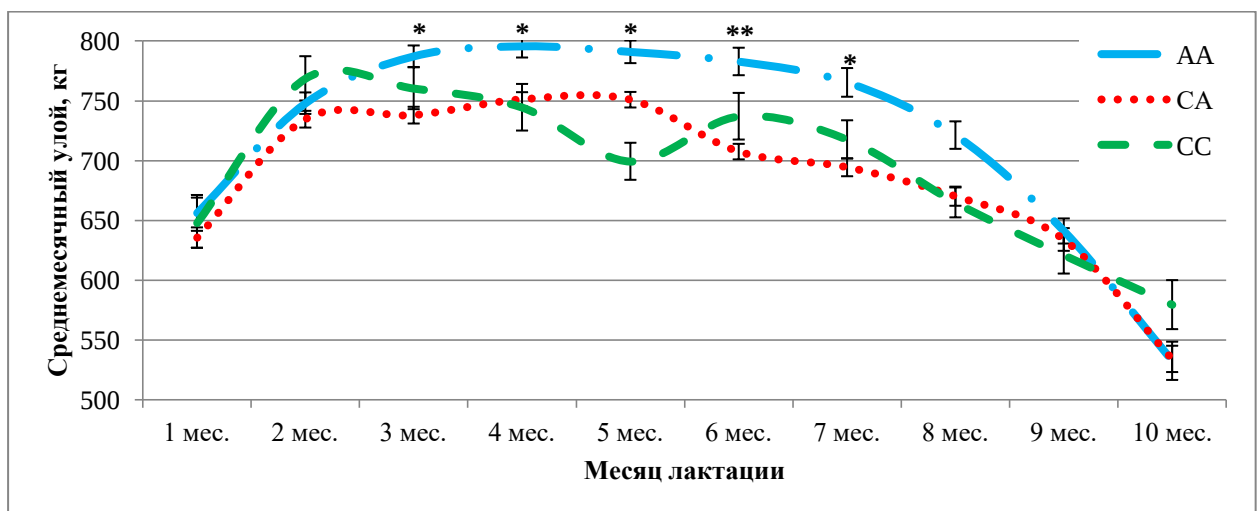


Рисунок 19 – Лактационные кривые молочной продуктивности коров-первотелок с разными генотипами гена TFAM (* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$)

Значительная равномерность удоев в течение всей лактации предоставляет возможность применения машинного доения, а так же получение стабильного количества молока-сырья для перерабатывающей отрасли, и как следствие бесперебойное обеспечение населения молочной продукцией и повышение финансовой результативности молочного производства [29].

Согласно классификации лактационной деятельности, первотелки с генотипом AA имеют более выровненную кривую без скачков и резких спадов лактационную кривую, относящуюся к первому типу. С третьего по седьмой

месяц лактации эта группа животных по исследуемому показателю имеет достоверное преимущество над особями с другими генотипами гена TFAM.

Первотелки с гетерозиготным генотипом СА имеют высокие, но неустойчивые показатели удою и относятся к третьему типу. Коров, обладающих генотипом СС, демонстрирующих по уровню удою сильный спад на пятом месяце и подъемы на втором и шестом, можно охарактеризовать как животных с неустойчивой двухпиковой лактацией.

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

Характеристика лактационных кривых в полной мере отражена коэффициентами устойчивости, полноценности и спадаемости в таблице 23.

Таблица 23 – Характеристика лактационных кривых коров-первотелок с разными генотипами гена TFAM

Показатель	Генотип		
	АА (n=43)	СА (n=105)	СС (n=24)
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

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

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% ($P \leq 0,01$), АА и СА – 3,4%. По коэффициенту полноценности статистически значимых отличий между первотелками с различными генотипами TFAM установлено не было. Однако, незначительное преимущество по этому показателю (2,5...2,6%) все же наблюдается у гетерозиготных СА-особей над сверстницами с генотипами АА и СС.

Спад лактационной активности наиболее заметно отражен в выборке животных с генотипом TFAM^{AA}. Согласно полученным результатам, отставание, зафиксированное между ними и особями с гомозиготным генотипом TFAM^{CC} – 2,28% ($P \leq 0,001$). По этому же показателю разрыв между группами с генотипами СА и СС остановился на уровне 1,4% ($P \leq 0,01$). Такое наблюдается ввиду того, что, обладая достоверно высокими удоями в период раздоя и разгара лактации, коровы-первотелки с генотипом АА к концу лактационной деятельности выходят на уровень с другими животными, имеющими среднемесячный удой ниже, тем самым снижая общий уровень своей продуктивности.

Стоит отметить, что исследуемая популяция отличается стабильными удоями и высокой продуктивностью на протяжении всей первой лактации, что свидетельствует о полноценности рациона кормления и хорошей подготовке их к отелу.

2.2.6.3 Оценка динамики молочной продуктивности коров с разными генотипами гена TFAM в разрезе трех лактаций

По результатам оценки трех лактаций коров с разными генотипами TFAM, представленных в таблице 24, установлено, что коровы с генотипом АА демонстрировали относительно коров с другими генотипами лучшие показатели молочной продуктивности за стандартную лактацию (305 дн.). К сожалению, эти данные носят характер тенденции и не подтверждаются статистической достоверностью.

За 1 и 2-ю полную лактацию удой, полученный от группы коров с гомозиготным генотипом СС, превосходит показатели других животных. Однако эта же субпопуляция демонстрирует увеличенный период лактации: в первую – 404,6 дня, во вторую – 400,2 дня; тем самым удлиняя межотельный период, что является экономически невыгодным с точки зрения зоотехнического учета по выходу телят (гол.) за год на одну корову.

Опытные животные, имеющие генотип АА, в третью полную лактацию вновь выгодно отличились по уровню молочной продуктивности, превосходя по удою коров с генотипом СС на 743,4 кг (9,6%; $P \leq 0,001$), а с генотипом СА на 1274,2 кг (17,4%; $P \leq 0,001$). При этом количество дней лактации у этой группы (ТФАМ^{АА}) было достоверно меньше, чем у гетерозиготных СА-животных на 55,8 дней (19,1%; $P \leq 0,01$).

Средний удой за три полные лактации имел максимальные показатели у группы животных с генотипом СС, а уровень среднего удоя за три стандартные лактации отмечен наивысшим результатом у гомозиготных АА-особей.

По нашим наблюдениям среднесуточный удой за все изученные лактации достоверно был выше у особей АА-типа, превосходя удой других животных на 0,9...10,3 кг (3,8...33,3 %; $P \leq 0,05...0,001$).

Таблица 24 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами гена ТФАМ за три лактации

Показатель	Генотип		
	АА (n = 43)	СА (n = 105)	СС (n = 24)
I лактация			
Удой за 305 дн., кг	7235,3±164,0	6921,2±111,2	7047,3±303,2
Удой за полную лактацию, кг	8242,4±373,2	8119,2±216,7	9155,3±420,4*
Индекс молочности, кг	1426,6±41,7*	1321,8±23,3	1335,7±59,6
Дойных дней, дн.	351,3±14,4	362,9±8,8	404,6±19,0*
Удой на 1 день полной лактации, кг	23,5±0,4*	22,4±0,2	22,6±0,4
II лактация			
Удой за 305 дн., кг	8209,5±303,9	7761,5±139,4	8157,7±171,6
Удой за полную лактацию, кг	8993,4±437,2	8361,7±195,2	9823,1±601,1*
Индекс молочности, кг	1486,1±24,2	1378,2±26,8	1380,3±69,9
Дойных дней, дн.	343,9±16,9	348,8±6,1	400,2±17,8',**
Удой на 1 день полной лактации, кг	26,2±0,6',**	23,9±0,4	24,5±0,4
III лактация			
Удой за 305 дн., кг	7318,0±231,4***	6043,8±229,1	6574,6±429,5
Удой за полную лактацию, кг	7318,0±231,4***	6043,8±229,1	6574,6±429,5
Индекс молочности, кг	1520,8±31,5	1459,3±30,2	1292,5±21,6
Дойных дней, дн.	236,8±12,1	292,6±9,1',***	238,2±17,4
Удой на 1 день полной лактации, кг	30,9±0,7',***	20,6±0,2	27,6±0,7***
Ср. удой за три стандартные лактации, кг	7587,6±311,9	6908,8±495,9	7259,9±469,2
Ср. удой за три полные лактации, кг	8184,6±484,5	7508,2±735,6	8517,7±990,5
Удой за три полные лактации, кг	24553,8±243,6***	22524,7±123,0	25553,0±344,3***

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Удой за три полные лактации достоверно был высоким у коров с генотипами СС и АА. Их итоговый показатель молочной продуктивности превышал удой гетерозиготных СА-особей на 3028,3 кг (11,9%; $P \leq 0,001$) и на 2029,1 кг (8,3%; $P \leq 0,001$) соответственно.

Оценка динамики молочной продуктивности по итогам трех лактаций (Рисунок 20) характеризует всех животных повышением удоя от 1-й лактации ко 2-й и снижением к 3-й. По сравнению второй лактацией с первой наблюдается достоверное значительное увеличение удоев ($P \leq 0,01...0,001$). В отношении третьей к первой положительная тенденция сохраняется только у особей с генотипом АА. В то время как у коров с генотипом СС спад в этот период составил 1582,9 кг (19,4%; $P \leq 0,001$), а у коров с генотипом СА – 1717,7 кг (22,1%; $P \leq 0,001$).

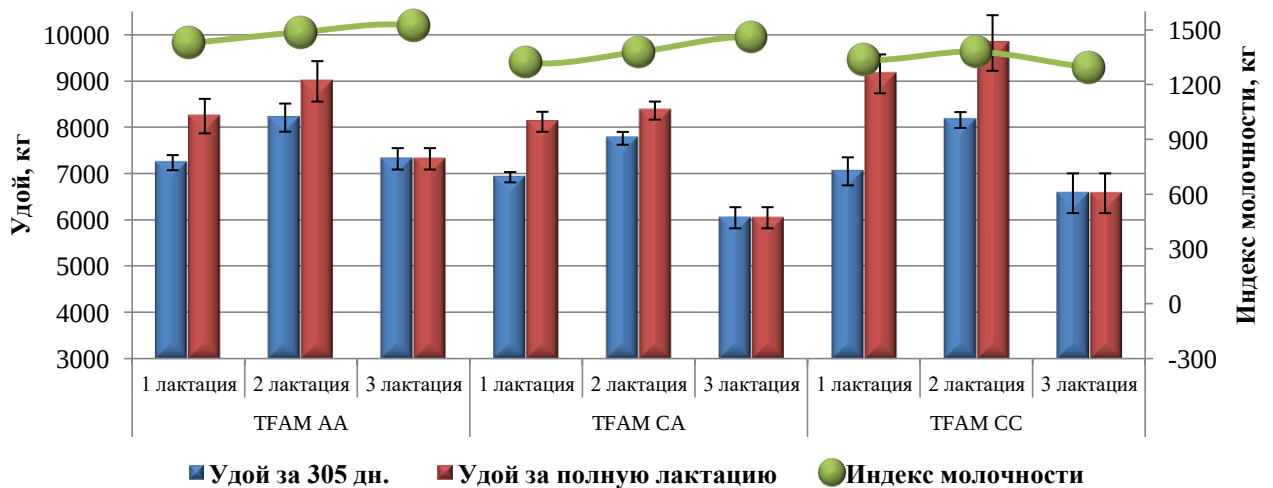


Рисунок 20 – Динамика молочной продуктивности коров с разными генотипами гена TFAM в разрезе трех лактаций

Проведенный анализ лактационной деятельности за полные лактации показал, что от первой ко второй отмечается повышение удоев, а от первой к третьей статистически значимое снижение, вероятно связанное с тем, что в третью лактацию всё поголовье характеризуется укороченной полной лактацией (< 305 дней). Максимальное снижение удоя от первой лактации к третьей

установлено у коров с генотипами СА и СС -2075,4 кг ($P \leq 0,001$) и -2580,7 кг ($P \leq 0,001$) соответственно.

Индекс молочности в оцениваемом поголовье коров с разными генотипами гена TFAM, имел максимальные значения в динамике у коров с генотипом АА, средний показатель был установлен в группе гетерозиготных СА-животных. А особи с генотипом СС имели нестабильный индекс молочности, который повышался во вторую и снижался в третью лактацию.

Среднесуточный удой на 1 день полной лактации снизился только у гетерозиготных животных в динамике от первой к третьей лактации (-1,8 кг или 8,0%; $P \leq 0,001$). По всем остальным группам этот показатель растет по сравнению данными, полученными в первую полную лактацию от +1,5...+7,5 кг ($P \leq 0,001$).

2.2.6.4 Взаимосвязь между хозяйственно-полезными признаками коров-первотелок с разными генотипами гена TFAM

Анализ корреляций хозяйственно-полезных признаков продуктивности крупного рогатого скота в разрезе полиморфизма гена TFAM, отраженный в таблице 25, показал, что между некоторыми из них имеются статистически значимые взаимосвязи с высоким положительным влиянием. Оценка корреляционных связей показала, что между удоем и массовой долей жира наблюдается обратная взаимосвязь у коров-первотелок с генотипами СС (-0,392; $P \leq 0,05$), 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 генотипом СС $r = 0,540$ ($P \leq 0,01$). Живая масса при первом

отеле и последующий сервис-период так же имеют корреляцию со знаком плюс (0,265...0,301; $P \leq 0,05$...0,01) у всего стада.

Таблица 25 – Взаимосвязь между некоторыми хозяйственно-ценными признаками у коров-первотелок в зависимости от генотипа гена TFAM

Показатель	Генотип		
	AA (n=43)	CA (n=105)	CC (n=24)
Удой I лактации (305 дн.) – массовая доля жира	-0,029	0,071	-0,392*
Удой I лактации (305 дн.) – массовая доля белка	0,301*	0,221*	0,362*
Массовая доля жира – массовая доля белка	-0,120	0,091	-0,257
Удой I лактации (305 дн.) – живая масса в 18 мес.	0,278	0,223*	0,540**
Удой I лактации (305 дн.) – сервис-период	-0,163	0,223*	0,212
Живая масса при осеменении - удой I лактации (305 дн.)	0,026	0,232*	0,208
Живая масса при осеменении - возраст осеменения	0,657***	0,544***	0,707***
Живая масса при осеменении – сервис-период	0,045	0,046	-0,319
Живая масса при отеле – сервис-период	0,301*	0,266**	0,265
СОМО – удой I лактации (305 дн.)	0,090	0,197*	0,078
СОМО – массовая доля жира	0,075	0,337**	0,095
СОМО – массовая доля белка	0,865***	0,650***	0,717***
СОМО – суммарный выход мол. жир+мол. белок	0,219	0,427***	0,260

* – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

Наиболее сильная положительная корреляция отмечена между такими хозяйственно-ценными признаками крупного рогатого скота, как возраст и живая масса первого плодотворного осеменения. Положительная достоверная взаимосвязь этих показателей у первотелок с генотипами AA, CA и CC составила: $r = 0,657$, $r = 0,544$ и $r = 0,707$ ($P \leq 0,001$) соответственно.

Не менее существенное и высокое по степени влияние зафиксировано между содержанием массовой доли белка и сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО) в исследуемой популяции. Анализ показал, что коэффициент корреляции при положительном значении и с высокой степенью влияния (0,865; $P \leq 0,001$) 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 ($P \leq 0,001$).

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 ($0,197$; $P \leq 0,05$), массовой долей жира ($0,337$; $P \leq 0,01$), суммарным выходом молочного жира и белка ($0,427$; $P \leq 0,001$).

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

В таблице 26 представлена частота встречаемости комплексных генотипов генов лептин, стеарил-коэнзим А десатураза и фактор транскрипции А митохондрий.

Исследование показало, что наше поголовье представлено особями 25 комплексными вариантами генотипов изучаемых генов LEP/SCD1/TFAM из 27 возможных. Анализ структуры популяции показал, что из 172 опытных животных, наиболее часто встречаемая комбинация генотипов – TC/TC/CA (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 TC/CC/CA. Следующие по численности группы животных насчитывают по 15 гол. (8,7%) – CC/CC/CA и CC/TC/CA.

Остальные комбинации генотипов генов LEP/SCD1/TFAM получили следующее распределение: TC/CC/AA – 14 гол. (8,0%), CC/TT/CA – 10 гол. (5,8%), TC/TC/AA – 8 гол. (4,6%), TC/TT/CA – 7 гол. (4,0%), TT/TC/CA и TC/CC/CC – 6 гол. (3,6%), CC/TC/AA и CC/TC/CC – 5 гол. (2,9%), CC/CC/AA и TC/TT/AA – 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.

Таблица 26 – Частота встречаемости комплексных генотипов генов

LEP/SCD/TFAM

Комплексный генотип по генам LEP / SCD1 / TFAM	Частота комплексного генотипа	
	n = 172	100%
CC/CC/AA	4	2,3
CC/CC/CA	15	8,6
CC/CC/CC	2	1,2
CC/TC/AA	5	2,9
CC/TC/CA	15	8,7
CC/TC/CC	5	2,9
CC/TT/AA	2	1,2
CC/TT/CA	10	5,8
CC/TT/CC	3	1,7
TC/CC/AA	14	8,1
TC/CC/CA	21	12,1
TC/CC/CC	6	3,6
TC/TC/AA	8	4,6
TC/TC/CA	25	14,4
TC/TC/CC	3	1,8
TC/TT/AA	4	2,3
TC/TT/CA	7	4
TC/TT/CC	2	1,2
TT/CC/AA	2	1,2
TT/CC/CA	3	1,8
TT/CC/CC	0	0
TT/TC/AA	3	1,8
TT/TC/CA	6	3,6
TT/TC/CC	3	1,8
TT/TT/AA	1	0,6
TT/TT/CA	3	1,8
TT/TT/CC	0	0

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 первотелок с сочетаниями генотипов TT/CC/CC и TT/TT/CC.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Одним из главных условий увеличения производства молока и повышения эффективности молочного скотоводства в нашей стране является качественное совершенствование породы и наращивание генетического потенциала продуктивности. В настоящее время этого можно достичь, используя в дополнении к классической селекции методов молекулярной селекции, которая на сегодняшний день может выявить животных с повышенными производственно-технологическими свойствами.

Наиболее часто оцениваемыми признаками продуктивности у молочного скота являются динамика роста и физиологическое развитие, молочная продуктивность, показатели качественного состава молока, репродуктивная функция, продолжительность хозяйственного использования, а так же устойчивость к заболеваниям. Использование информации, характеризующей эти показатели, в программах селекции может предсказать генетический потенциал и увеличить продуктивное долголетие животных в раннем возрасте. Генетическое улучшение животных – это непрерывный и сложный процесс.

В настоящее время стало возможным выявить большое количество генетических полиморфизмов на уровне последовательности ДНК и использовать их в качестве маркеров для оценки и улучшения генетической основы наблюдаемой фенотипической изменчивости, как внутри популяций, так и для интрогрессии их из одной популяции в другую. Ожидается, что молекулярные маркеры послужат потенциальным инструментом для генетиков, селекционеров и сельхозтоваропроизводителей, чтобы создать животных с заданными фенотипическими и паратипическими признаками, в соответствии с желаниями и потребностями общества.

В результате проведенных нами исследований получены новые знания по биоразнообразию, генетической структуре и формах ассоциаций полиморфизма генов лептин, стеарил-коэнзим А десатураза и фактор транскрипции А

митохондрий с хозяйственно-полезными признаками в татарстанской популяции крупного рогатого скота голштинской породы.

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. Наряду с этим, голштинские первотёлки 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, COMO – 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 ТС/ТС/СА и ТС/СС/АА (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.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Дальнейшая работа будет направлена на:

- поиск ассоциаций хозяйственно-полезных признаков с комплексными генотипами генов LEP/SCD1/TFAM, наследуемости признаков молочной продуктивности, живой массы и воспроизводительных качеств крупного рогатого скота голштинской породы;
- изучение аллельных вариантов генов LEP, SCD1 и TFAM и их ассоциаций с хозяйственно-полезными признаками крупного рогатого скота у других пород.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

bp – base pairs (**п.о.** – пары нуклеотидов, **п.о.** – пары оснований)

CLA – conjugated linoleic acids (конъюгированные линолевые кислоты)

dNTPs – deoxynucleosidtriphosphates (дНТФ – дезоксинуклеозидтрифосфаты).

E. coli – штамм *Escherichia coli*

EDTA (ЭДТА) – этилендиаминтетрауксусная кислота

Fsp4H I – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E.coli*, несущего клонированный ген *Fsp4H I* из штамм *Flavobacterium species 4H*

Hae III – эндонуклеаза рестрикции из штамма *E.coli*, несущего клонированный ген *HaeIII* из *Haemophilus aegyptius*

LEP –лептин

MAS – marker assisted selection (селекция с помощью маркеров)

QTL – quantitative Trait Loci (ЛКП - локусы количественных признаков)

QTL - локусы количественных признаков

SCD1 – стеарил-КоА десатураза

seq. – sequence (нуклеотидная последовательность)

SNP – single nucleotide polymorphism (ОНП – однонуклеотидный полиморфизм)

TFAM – фактор транскрипции А митохондрий

АТФ – аденозинтрифосфорная кислота

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

мтДНК – митохондриальная ДНК

ПДРФ (RFLP) – полиморфизм длин рестрикционных фрагментов

ПЦР (PCR) – полимеразная цепная реакция

РНК – рибонуклеиновая кислота

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абельдинов, Р.Б. Гематологические и биохимические показатели крови коров симментальской породы казахстанской селекции с различным генотипом по генам-кандидатам липидного обмена / Р.Б. Абельдинов, Т.К. Бексеитов // Вестник алтайского государственного аграрного университета. – 2017. – № 2(148). – С. 69-71.
2. Абугалиев, С.К. Характер лактационных кривых коров костромской породы разных генотипов : дис. ... канд. с.-х. наук : 06.02.04 / Абугалиев Серимбек Курманбайулы. – Кострома, 2004. – 112 с.
3. Александров, С.Н. Теория и практика прибыльного производства молока / С.Н. Александров, Л.И. Подобед, Т.Т. Косова, В.Л. Дудинский; под общ. ред. проф. Л.И. Подобеда. – Киев.: ПолиграфИнко, 2011. – 272 с.
4. Алтухов, Ю.П. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Ю.П. Алтухов, Е.А. Салменкова // Генетика. – 2002. – Т. 38. – С. 1173-1195.
5. Анненкова, Н.В. Продуктивные качества молочных коров в зависимости от интенсивности формирования во взрослую особь / Н.В. Анненкова // Наука и инновации в сельском хозяйстве (Материалы Международной научно-практической конференции, 26-28 января). – Курск: Изд-во: Курск. гос. с.-х. ак., 2011. – Ч. 3. – С. 27-29.
6. Ахметов, Т.М. Качество и технологические свойства сыра, изготовленного из молока коров с разными генотипами каппа-казеина / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов, Э.Ф. Валиуллина, Р.Р. Вафин // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2009. – № 1(1). – С. 20-23.
7. Ахметов, Т.М. Молочная продуктивность коров с разными генотипами бета-лактоглобулина / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Э.Ф. Валиуллина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010а. – Т. 202. – С. 31-36.
8. Ахметов, Т.М. Молочная продуктивность коров с разными комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина / Т.М. Ахметов,

С.В. Тюлькин, Э.Ф. Валиуллина // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2011а. – Т. 207. – С. 51-57.

9. Ахметов, Т.М. Оптимизация техники выделения ДНК из крови и спермы / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Ф.М. Нургалиев // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2011б. – Т. 205. – С. 18-23.

10. Ахметов, Т.М. Полиморфизм гена бета-лактоглобулина в стадах крупного рогатого скота / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2010б. – Т. 202. – С. 36-41.

11. Багаль, И.Е. Молочная продуктивность коров холмогорской породы с разными генотипами генов гормонов / И.Е. Багаль, И.Ю. Павлова, Л.А. Калашникова, В.Л. Ялуга // Зоотехния. – 2015. – № 9. – С. 23-26.

12. Борисенко, Е.Я. Практикум по разведению сельскохозяйственных животных / Е.Я. Борисенко, К.В. Баранова, А.П. Лисицин // 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Колос. –1984. – 256 с.

13. Браде, Э. Инновации в ДНК. Прогноз по ДНК? / Э. Браде // Новое сельское хозяйство. – 2011. – № 4. – С. 66-69.

14. Будилов, А. Методы расшифровки нуклеотидной последовательности фрагментов ДНК / А. Будилов – 2013. – URL: www.molbiol.ru

15. Вафин, Р.Р. Молекулярно-генетический анализ хламидий : геномика, таксономия, индикация и идентификация : дис. ... докт. биол. наук : 03.00.07 / Вафин Рамиль Ришадович. – Казань, 2009. – 290 с.

16. Вильвер, Д.С. Влияние возраста первого осеменения тёлочек на молочную продуктивность коров чёрно-пёстрой породы разного возраста / Д.С. Вильвер // Известия Оренбургского аграрного университета. – 2015. – № 6(56). – С. 140-142.

17. Волкова, И.А. Интенсивность роста телок черно-пестрой породы и их последующие продуктивные качества: автореф. дис... канд. с.-х. наук : 06.02.04 / Волкова Инна Анатольевна. – Омск, 2001. – 26 с.

18. Воторопина, М.В. Технологические свойства молока коров чернопестрой породы голландской и отечественной селекции / М.В. Воторопина // Научный журнал КубГАУ. – 2014. – № 97. – С. 868-894.
19. Глазко, В.И. Нанотехнологии и наноматериалы в сельском хозяйстве / В.И. Глазко, С.Л. Белопухов; под ред. акад. РАСХН В.М. Баутина. – М. : Изд-во РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2008. – 228 с.
20. Гончаренко, Г.М. Генетическая структура популяций сельскохозяйственных животных Западной Сибири и использование маркёров в селекции : автореф. дис. ... докт. биол. наук : 06.02.01 / Гончаренко Галина Моисеевна. – Новосибирск, 2009. – 37 с.
21. Горбачев, В.В. Новое ограничение микросателлитных маркеров для их применения в популяционных исследованиях (на примере панмиктических популяций) / В.В. Горбачев // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. – Т. 15(4). – С. 746-749.
22. Гребенникова, Т.В. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в диагностике / Т.В. Гребенникова // Промышленное и племенное свиноводство. – 2005. – № 2. – С. 49.
23. Гуткин, С.С. Новая прижизненная оценка мясной продуктивности скота / С.С. Гуткин // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. – 2001. – № 6. – С. 65-67.
24. Демидов, Н.Д. Энциклопедия фермера / Н.Д. Демидов. – М. : Изд-во АСТ, 2017. – 768 с.
25. Доменюк, В.П., Проблемы и перспективы использования молекулярно-гентических маркеров в гидробиологических исследованиях / В.П. Доменюк, А.Ю. Гончаров // Экология моря. – 2005. – № 68. – С. 48-52.
26. Дохи, Я. Простой метод выражения плодовитости / Я. Дохи // Вестник венгерской сельскохозяйственной науки. – 1961. – №3. – С. 27 – 29.
27. Дунин, И.М. Термины и определения, используемые в селекции, генетике и воспроизводстве сельскохозяйственных животных / И.М. Дунин и др. – М.: ВНИИплем, 1996. - 306 с.

28. Елпатьевский, Д.В. Молочная производительность коров / Д.В. Елпатьевский // М. : Сельхоз-гиз, 1932. – 285 с.
29. Емельянов, А.С. Лактационная деятельность коров и управление ею /А.С. Емельянов. – Вологда, 1953. – 97 с.
30. Зиннатова, Ф.Ф. Изучение связи гена лептин (LEP) с молочной продуктивностью у коров голштинской породы с применением ПДРФ - анализа / Ф.Ф. Зиннатова, А.Р. Шамсова, Ф.Ф. Зиннатов, А.Р. Сафиуллина, Л.Л. Хамитова // Сборн. конф. : Фундаментальная наука и технологии - перспективные разработки материалы XII международной научно-практической конференции. – 2017. – С. 1-3.
31. Зиновьева, Н. Методы маркер-зависимой селекции / Н. Зиновьева, Е. Гладырь, Е. Кунаева // Животноводство России. – 2006. – № 3. – С. 29-31.
32. Зиновьева, Н.А. Генетическая оценка в племенном животноводстве / Н.А. Зиновьева // Современные методы генетики и селекции в животноводстве материалы международной научной конференции. – СПб. – ВНИИГРЖ, 2007. – С. 34-36.
33. Зиновьева, Н.А. Некоторые аспекты генодиагностики генетической устойчивости кур к вирусу птичьего гриппа / Н.А. Зиновьева, С.А. Гладырь, Л.К. Эрнст // Новые методы генодиагностики и генотерапии : современное состояние и перспективы использования в сохранении генофонда сельскохозяйственных животных; Центр биотехнологии и молекулярной диагностики ВИЖ. – Дубровицы, 2005. – С. 79-81.
34. Зиновьева, Н.А. Современные методы генетического контроля селекционных процессов и сертификация племенного материала в животноводстве: учебное пособие / Н.А. Зиновьева, П.М. Кленовицкий, С.А. Гладырь, А.А. Никишов – М. : РУДН, 2008. – 329 с.
35. Иванов, В.А. Молочная продуктивность симментал-голштинских помесей в зависимости от живой массы и возраста первого осеменения / В.А. Иванов, К.П. Таджиев // Скотоводство. – 2014. – № 1. – С. 6-8.

36. Игнатъева, Н.Л. Состав и технологические свойства молока потомства быков-производителей разной селекции / Н.Л. Игнатъева // Известия ОГАУ. – 2011. – № 32(1). – С. 163-164.
37. Казаровец, Н.В. Теоретические и практические аспекты селекционно-племенной работы в скотоводстве : монография / Н.В. Казаровец, С.И. Саскевич и др. – Минск : БГАТУ, 2005. – 311 с.
38. Калашникова, Л.А. ДНК-технологии оценки сельскохозяйственных животных / Л.А. Калашникова, И.М. Дунин, В.И. Глазко, Н.В. Рыжова, Е.П. Голубина. – Лесные Поляны : [ВНИИплем], 1999. – 148 с.
39. Калашникова, Л.А. Рекомендации по геномной оценке крупного рогатого скота / Л.А. Калашникова и др. – Лесные Поляны : ВНИИплем, 2015. – 35 с.
40. Калько, Г.В. ДНК-маркеры для оценки генетических ресурсов ели и сосны / Г.В. Калько // Труды Санкт-Петербургского научно-исследовательского института лесного хозяйства. – 2015. – № 4. – С. 19-34.
41. Карр, С.М.. Уотсон-Крик модель ДНК / С.М. Карр. – 1953. – URL: https://www.mun.ca/biology/scarr/Watson-Crick_Model.html
42. Ковалюк, Н.В. Полиморфизм аллей гена LEP как генетический маркер функционального долголетия крупного рогатого скота / Н.В. Ковалюк, Е.А. Гырнец // Universum: Химия и биология : электрон. научн. журн. – 2016. – № 6(24). – URL: <http://7universum.com/ru/nature/archive/item/3257>
43. Колесень, В.П. Основы разведения сельскохозяйственных животных / В.П. Колесень, С.В. Юращик, И.А. Дешко, М.И. Дюба. – Гродно: ГГАУ, 2008. – 111 с.
44. Кольман, Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рем; перевод с нем. Л.В. Козлова, Е.С. Левиной, П.Д. Решетова под ред. П.Д. Решетова и Т.И. Соркиной. – М. : Мир, 2000. – 470 с.
45. Кононов, В.П. Проблемы совместимости высокой молочной продуктивности, воспроизводительной способности и продуктивной жизни коров

в современном скотоводстве / В.П. Кононов // Зоотехния. – 2013. – № 1. – С. 40-45.

46. Костомахин, Н.М. Преспективные технологии в молочном скотоводстве / Н.М. Костомахин // Главный зоотехник. – 2006. – № 3. – С. 26-31.

47. Костомахин, Н.М. Разведение с основами частной зоотехнии : Учебник для ВУЗов / Под общ. ред. Н.М. Костомахина. – СПб. : Изд-во «Лань», 2006. – 448 с., с ил.

48. Красота, В.Ф. Разведение сельскохозяйственных животных / В.Ф. Красота, Лобанов, Джапаридзе // 3-е изд., перераб. и доп. - М. : ВО "Агропрмиздат", 1990. - 463 с.

49. Крупин, Е.О. Жиры в кормлении высокопродуктивных коров: учеб.-метод. пособие / Е.О. Крупин, Ш.К. Шакиров, Ф.С. Гибадуллина, М.Ш. Тагиров, М.Г. Нуртдинов, Н.Н. Хазипов, С.И. Чурин. – Казань : Центр инновационных технологий, 2013. – 108 с.

50. Кузнецов, В.М. Племенная оценка животных : прошлое, настоящее, будущее (обзор) / В.М. Кузнецов // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2012. – № 4. – С. 118-152.

51. Лавровский, В.В. Оценка генетического разнообразия быков-производителей по генам каппа-казеина, *BoLA-DRB 3* и полиморфным белкам крови и их дочерей / В.В. Лавровский, Л.В. Денисенко // В сборнике конференции «Стратегия развития животноводства России – 21 век». Российская академия сельскохозяйственных наук. – М. – 2001. – Ч. 1. – С. 264-273.

52. Литвиненко, Т.В. Динамика роста живой массы коров голштинской породы зарубежной селекции / Т.В. Литвиненко, Ю.С. Бунь // Вестник мясного скотоводства. – 2012. – № 3 – С. 12-15.

53. Лупер, М. Деякі поради щодо вирощування ремонтного молодняку породи Голштин / М. Лупер, Г. Бетард // Молоко і ферма. – 2010. – № 2. – С. 44-49.

54. Матвеева, Т.В. Молекулярные маркеры для видоидентификации и филогенетики растений / Т.В. Матвеева, О.А. Павлова, Д.И. Богомаз и др. // Экологическая генетика. – 2011. – Т. 9. – С. 32-43.
55. Мачульская, Е.В. Связь генотипов LEP с племенной ценностью по показателям молочной продуктивности / Е.В. Мачульская, Н.В. Ковалюк, Ю.Ю. Шахназарова, В.Ф. Сацук, А.А. Сермягин, А.В. Доцев // Научные основы повышения продуктивности сельскохозяйственных животных. Сборник научных трудов СКНИИЖ, Краснодар. – 2017. - Т. 1(6). – С. 82-88.
56. Меркурьева, Е.К. Генетика с основами биометрии / Е.К. Меркурьева, Г.Н. Шангин-Березовский. – М. : Колос, 1983. – 400 с.
57. Меркурьева, Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е.К. Меркурьева. – М. : Колос, 1977. – 239 с. : ил.
58. Молдакаримов, А. Изучение полиморфизма гена лептина (LEP) при экспериментальном моделировании эндокринных нарушений у телят казахской белоголовой породы / А. Молдакаримов, Б.А. Буралхiev // Журнал КазНАУ «Исследования и результаты». – 2015. – № 1-1. – С. 157-161.
59. Молдакаримов, А. Полиморфизм генов продуктивности крупного рогатого скота и современные стратегии их исследования / А. Молдакаримов, Б.А. Буралхiev. – 2017. – URL: www.lib.knigi-x.ru
60. Мухина, Ж.М. Молекулярные маркеры и их использование в селекционно-генетических исследованиях / Ж.М. Мухина, Е.В. Дубина // Научный журнал КубГАУ. – 2011. – № 66(02). – С. 1-11.
61. Нуртдинов, М.Г. Развитие племенного молочного скотоводства в Татарстане / М.Г. Нуртдинов, Н.Н. Хазипов, Р.А. Хаертдинов и др. – Казань, 2006. – 132 с.
62. Оберемок, В.В. Методические рекомендации к применению ПЦР-метода / В.В. Оберемок. – Симферополь, 2008. – 35 с.
63. Петухов, В.Л. Ветеринарная генетика с основами вариационной статистики: [По специальности "Ветеринария"] / В.Л. Петухов, А.И. Жигачев, Г.А. Назарова. – М. : Агропромиздат, 1985. – 369 с. : ил.

64. Плохинский, Н.А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н.А. Плохинский. – М.: Колос, 1969. – 255 с.
65. Позовникова, М.В. Связь полиморфных вариантов гена стеароил-КоА десатураза (SCD1) с хозяйственно ценными признаками в российской популяции коров айрширской породы / М.В. Позовникова, Г.Н. Сердюк, О.В. Тулинова, В.П. Терлецкий, Н.В. Дементьева, О.В. Митрофанова // Сельскохозяйственная биология. – 2017. – Т. 52(6). – С. 1139-1147.
66. Рачкова, Е.Н. Ассоциация полиморфизма генов TG5 и LEP с динамикой лактации коров-первотелок / Е.Н. Рачкова, Ф.Ф. Зиннатова, Ю.Р. Юльметьева, Т.М. Ахметов, Ш.К. Шакиров // Ветеринарный врач. – 2016. – № 6. – С. 61-66.
67. Ришковски, Б. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства / Под ред.: Б. Ришковски, В. Пиллинг. – М.: ВИЖ РАСХН, 2010. – 512 с. [Перевод с англ. : В. Rischkowsky, D. Pilling (Eds). The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture. – Rome : FAO Publ., 2007].
68. Саики, Р. Полимеразная цепная реакция. Анализ генома. Методы // Р. Саики, У. Гилинстен, Г. Эрлих; пер. с англ., под ред. К. Дейвиса. – М. : Мир, 1990. – С. 176-190.
69. 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.
70. 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.
71. 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. 57-60.

72. Свечин, Ю.К. Прогнозирование молочной продуктивности крупного рогатого скота / Ю.К. Свечин, Л.И. Дунаев // Зоотехния. – 1989. – №1. – С. 49-53.

73. Серебровский, А.С. Генетический анализ / А.С. Серебровский. – М. : Наука, 1970. – 342 с.

74. Сибагатуллин, Ф.С. Технология производства продукции животноводства: Учебное пособие / Под ред. Ф.С. Сибагатуллина, Г.С. Шарафутдинова // 2-е изд., перераб. и дополн. – Казань : Идел-Пресс, 2010. – 672 с.

75. Сивкин, Н.В. Молочные породы крупного рогатого скота: племенные ресурсы / Н.В. Сивкин, Н.И. Стрекозов, В.И. Чинаров // Молочная промышленность. – 2011. – № 6. – С. 28-30.

76. Смагдов, М.Г. Генетическое картирование локусов, ответственных за качественные показатели молока у крупного рогатого скота / М.Г. Смагдов // Генетика. – 2006. – № 42(1). – С. 5-21.

77. Смагдов, М.Г. Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции / М.Г. Смагдов // Генетика. – 2009. – Т. 45. – С. 725-728.

78. Сулимова, Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения // Успехи современной биологии. – 2004. – Т. 124(3). – С. 260-271.

79. Сулимова, Г.Е. Оценка генетического потенциала отечественного скота по признакам высокого качества мяса на основе ДНК-маркерных систем / Г.Е. Сулимова, А.А. Федюнин, Е.А. Климов, Ю.А. Столповский, // Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – № 1. – С. 62-64.

80. Сулимова, Г.Е. Перспективы использования костромского скота в молочном и мясном животноводстве / Г.Е. Сулимова, А.В. Перчун, М.Н. Рузина, И.В. Лазебная // 70 лет костромской породе скота: сборник статей. — Караваево : Костромская ГСХА, 2014. – 154 с.

81. Тамарова, Р.В. Сравнительная оценка по биологическим и хозяйственно полезным качествам молочного скота зарубежной и отечественной селекции / Р.В. Тамарова, А.С. Ермишин // Мясное и молочное скотоводство. – 2016. – № 7. – С. 14-18.

82. Танана, Л.А. Использование ДНК-тестирования по гену CSN3 в селекции молочного крупного рогатого скота: монография / Л.А. Танана и др. – Гродно : ГГАУ, 2014. – 193 с. ISBN 978-985-537-055-1

83. Таранов, М.Т. Биохимия и продуктивность животных / М.Т. Таранов. – М.: Колос, 1976. – 240 с. (с ил.).

84. Титов, В.Н. Инсулин: инициирование пула инсулинозависимых клеток, направленный перенос триглицеридов и повышение кинетических параметров окисления жирных кислот (лекция) / В.Н. Титов // Клиническая лабораторная диагностика. 2014. – № 4. – С. 27-38.

85. Траспов, А.А. Изучение полиморфизма митохондриальной ДНК крупного рогатого скота / А.А. Траспов, И.Ю. Долматова // Научное обеспечение инновационного развития АПК. Материалы всероссийской научно-практической конференции в рамках XX Юбилейной специализированной выставки «АгроКомплекс-2010» (2-4 марта 2010 г.). – Уфа: Башкирский ГАУ, 2010. – Ч. II. – С. 111-113.

86. Тюлькин, С.В. Полиморфизм по генам соматотропина, пролактина, лептина, тиреоглобулина быков-производителей/ С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Э.Р. Валиуллина, Р.Р. Вафин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16(4/2). – С. 1008-1012.

87. Тюлькин, С.В. Характеристика быков-производителей с разными генотипами генов соматотропина, пролактина, лептина и тиреоглобулина по молочной продуктивности женских предков / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, А.В. Муратова, Р.Р. Вафин // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. –2013. – № 1(17). – С. 27-30.

88. Тюренкова, Е.Н. Комплексная оценка экономики работы по воспроизводству дойного стада и значение информационных технологий / Е.Н.

Тюренкова. Санкт-Петербург, 2011. – URL: http://zivotnovodstvo.ru/wp-content/uploads/cmdm/3311/1405494240_9e022d91-4ac3-491b-a077-167fdebe05dc.pdf

89. Филиппченко, Ю.А. Частная генетика. Часть 2. Животные / Ю.А. Филиппченко. – Л.: Сеятель, 1928. – 283 с. (с ил.).

90. Хабибрахманова, Я.А. Полиморфизм гена лептина (LEP) и его взаимосвязь с молочной продуктивностью голштинских коров / Я.А. Хабибрахманова, М.А. Беган, Л.А. Калашникова, В.Г. Туфанов // Сельское хозяйство - проблемы и перспективы : сборник научных трудов / Учреждение образования "Гродненский государственный аграрный университет". – Гродно, 2014. – Т. 26 : Зоотехния. – С. 301-305.

91. Хавкин, Э.Е. Молекулярные маркеры в растениеводстве / Э.Е. Хавкин // Сельскохозяйственная биология. – 1997. – № 5. – С. 3-19.

92. Хаертдинов, Р.А. Белки молока / Р.А. Хаертдинов, М.П. Афанасьев, Р.Р. Хаертдинов. – Казань : Издательство «ИделПресс», 2009. – 256 с.

93. Харченко, П.Н ДНК-Технологии в развитии агробиологии / П.О. Харченко, В.И. Глазко. – М. : Воскресенье, 2006. – 480 с. (с ил.).

94. Хлесткина, Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции / Е.К. Хлесткина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17(4/2). – С. 1044-1054.

95. Хлесткина, Е.К. Молекулярные методы анализа структурно-функциональной организации генов и геномов высших растений / Е.К. Хлесткина // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2011. – Т. 15(4). – С. 757-768.

96. Часовщикова, М.А. Влияние сервис-периода на молочную продуктивность коров черно-пестрой породы / М.А. Часовщикова // Вестник КрасГАУ. – 2012. - № 10. – С. 136-138.

97. Чиждова, Л.Н. Полиморфизм гена лептина у коров молочного направления продуктивности / Л.Н. Чиждова, Л.В. Кононова, Г.Н. Шарко, Г.П. Ковалёва // Сборник научных трудов ВНИИОК. – 2017. – №10. – С.113-117

98. Шайдуллин, Р.Р. Селекционно-генетические аспекты совершенствования молочного скота в Республике Татарстан : дисс. ... док. с.-х. наук : 06.02.07 / Шайдуллин Радик Рафаилович. – Казань, 2017. – 458 с.

99. Шакиров, Ф.Ф. Изменение лактационной деятельности коров с возрастом / Ф.Ф. Шакиров // Молочное и мясное скотоводство. - 1983. № 11. - С. 25 - 26.

100. Шакиров, Ш.К. Животноводство: 200 вопросов и ответов / Ш.К. Шакиров, Ф.С. Гибадуллина, Н.Н. Хазипов, И.Р. Закиров, С.И. Чурин, М.А. Сушенцова, Ю.Р. Юльметьева, З.Ф. Фаттахова, И.К. Хусаинов. – Казань: Центр информационных технологий, 2014. – 180 с.

101. Шакиров, Ш.К. 300 вопросов и ответов по кормопроизводству и животноводству: справочник / Ш.К. Шакиров, Н.Н. Хазипов, А.М. Лапотко, О.Л. Шайтанов, Е.О. Крупин, М.А. Сушенцова, Ф.Р. Зарипов, Р.У. Зарипов, А.Г. Хисамутдинов, М.Л. Калайда, Ю.Р. Юльметьева, Ф.Ф. Зиннатова, З.Ф. Фаттахова, Г.С. Баязитов. – 3-е изд. – Казань: Центр инновационных технологий, 2018. – 280 с.

102. Шарипов, А.А. Молекулярно-генетические аспекты селекции мясного скота по мраморности мяса / А.А. Шарипов, Ю.Р. Юльметьева, Ш.К. Шакиров, Л.И. Гафурова // Вестник мясного скотоводства. – 2014. – № 2(85). – С. 59-64.

103. Шаталов, С.В. Влияние уровня раздоя первотелок на продуктивность и длительность эксплуатации молочного скота / С.В. Шаталов, В.К. Томилин, В.С. Шаталов // Научный журнал КубГАУ. – 2012. – № 77(03). – С. 785-794.

104. Шейко, И.П. Использование ДНК-технологий в селекции сельскохозяйственных животных / И.П. Шейко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2005. – Т. 9(1). – С. 219.

105. Ajmone, M.P. RLFP mapping of QTL for grain yield and agronomic traits / M.P. Ajmone, G. Monfredini, W. Ludwig // Maize genetic cooperation, New letters. – 1994. – No 68. – P. 13-14.

106. Alex, A.P. Milk yield differences between 1 x and 4 x milking are associated with changes in mitochondrial number and milk protein gene expression, but

not mammary cell apoptosis or SOCS gene expression / A.P. Alex, J.L. Collier, D.L. Hadsell, R.J. Collier // *Journal of Dairy Science*. – 2015. – Vol. 98. – P. 4439-4448.

107. Almeida, S.E. Molecular markers in the LEP gene and reproductive performance of beef cattle / S.E. Almeida, E.A. Almeida, J.C.F. Moraes, T.A. Weimer // *Journal of Animal Breeding and Genetics*. – 2003. – Vol. 120. – P. 106-113.

108. Arber, W. Host specificity of DNA produced by *Escherichia coli* I. Host controlled modification of bacteriophage / W. Arber, D. Dussoix // *Journal of Molecular Biological*. – 1962. – Vol. 5. – P. 18-36.

109. Armstrong, E. Molecular markers related to marbling in uruguayan creole cattle / E. Armstrong, F. Peñagaricano, R. Artigas, L. De Soto, C. Corbi, S. Llambí, G. Rincón, A. Postiglioni // *Archivos de Zootecnia*. – 2011. – Vol. 60(231). – P. 707-716.

110. Avilés, C. Associations between DGAT1, FABP4, LEP, RORC, and SCD1 gene polymorphisms and fat deposition in Spanish commercial beef / C. Avilés, O. Polvillo, F. Peña et al. // *Journal Dairy Science*. – 2013. – Vol. 91. – P. 4571-4577.

111. Ayres, D. Evaluation of TFAM and FABP4 gene polymorphisms in three lines of Nellore cattle selected for growth / D. Ayres, F. Souza, M. Mercadante, L. Fonseca, H. Tonhati, J. Cyrillo, S. Bonilha, L. Albuquerque // *Genetics and Molecular Research*. – 2010. – Vol. 9(4). – P. 2050-2059.

112. Banos, G. Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor, and diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows / G. Banos, J.A. Woolliams, B.W. Woodward, A.B. Forbes, M.P. Coffey // *Journal of Dairy Sciences*. – 2008. – Vol. 91. – P. 190-200.

113. Barlowska, J. Nutritional value and technological suitability of milk from various animal species used for dairy production / J. Barlowska, M. Szwajkowska, Z. Litwińczuk, J. Król // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2011. – No. 10. – P. 291-302.

114. Barton, L. Effects of DGAT1, FABP4, FASN, PPARGC1A, SCD1, SREBP-1 and STAT5A gene polymorphisms on the fatty acid composition in Fleckvieh

bulls / L. Barton, D. Bures, T. Kott, B. Kottova, // 57 th International Congress of Meat Science and Technology, At Ghent, Belgium. – 7-12 August 2011. – Vol. 57. – P. 1-4.

115. Bauman, D.E. Major advances associated with the biosynthesis of milk / D.E. Bauman, I.H. Mather, R.J. Wall, A.L. Lock // Journal of Dairy Sciences. – 2006. – No 89. – P. 1235–1243.

116. Bluher, S. Leptin in reproduction / S. Bluher, C.S. Mantzoros // Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity. – 2007. – Vol. 14. – P. 458-464.

117. Brickell, J. S. A descriptive study of the survival of Holstein-Friesian heifers through to third calving on English dairy farms / J.S. Brickell, D.C. Wathes // Journal of Dairy Science. – 2011. – Vol. 94. – P. 1831–1838.

118. Brickell, J.S. Effect of growth and development during the rearing period on the subsequent fertility of nulliparous Holstein – Friesian heifers / J.S. Brickell, N. Bourne, M. McGowan, D.C. Wathes // Theriogenology. – 2009. – Vol. 72. – P. 408-416.

119. Brickell, J.S. Effect of management factors and blood metabolites during the rearing period on growth in dairy heifers on UK farms / J.S. Brickell, M. McGowan, D.C. Wathes // Domestic Animal Endocrinology. – 2009. – Vol. 36. – P. 67-81.

120. Brickell, J.S. Polymorphisms in the bovine leptin gene associated with perinatal mortality in Holstein-Friesian heifers / J.S. Brickell, G.E. Pollott, A.M. Clempson, N. Otter, D.C. Wathes // Journal of Dairy Sciences. – 2010. – Vol. 93. – P. 340-347.

121. Buchanan, F.C. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels / F.C. Buchanan, C.J. Fitzsimmons, A.G. Van Kessel, T.D. Thue, D.C. Winkelman-Sim, Sh.M. Schmutz // Genetic Selection Evolution. – 2002. – Vol. 34. – P. 105-116. DOI: 10.1051/gse:2001006.

122. Butler, W.R. Interrelationship between energy balance and postpartum reproductive function in dairy cattle / W.R. Butler, R.D. Smith // Journal of Dairy Sciences. – 1989. – Vol. 72. – P. 767–783.

123. Caetano-Anolles, G. DNA fingerprinting: MAAPing out a RAPD redefinition / G. Caetano-Anolles, B.J. Bassam, P. Gresshoff // *BioTechnology*. – 1992. – Vol. 10. – P. 937.
124. Campbell, E.M. Rapid communication: mapping of the bovine stearoyl-coenzyme A desaturase (SCD) gene to BTA26 / E.M. Campbell, D.S. Gallagher, S.K. Davis et al. // *Journal Animal Science*. – 2001. – Vol. 79. – P. 1954-1995.
125. Carvalho, T. Association of polymorphisms in the leptin and thyroglobulin genes with meat quality and carcass traits in beef cattle // T. Carvalho, F. Siqueira, R.A.Torres Júnior et al. // *Revista Brasileira de Zootecnia*. – 2012. – Vol. 41(10). – P. 2162-2168.
126. Chagas, L.M. Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. / L.M. Chagas, J.J. Bass, D. Blache et al. // *Journal of Dairy Sciences*. – 2007. – Vol. 90. – P. 4022-4032.
127. Charoensook, R. Thai pigs and cattle production, genetic diversity of livestock and strategies for preserving animal genetic resources / R. Charoensook, Ch. Knorr, B. Brenig, K. Gatphayak // *Maejo International Journal of Science and Technology*. – 2013. – No 7(01). – P. 113-132.
128. Chebel, R.C. Leptin genotype is associated with lactation performance and health of Holstein cows / R.C. Chebel, F. Susca, J.E.P. Santos // *Journal Of Dairy Science*. – 2008. – Vol. 91(7). – P. 2893-2900.
129. Clark, L.A. The effect of Ala293Val single nucleotide polymorphism in the stearoyl-CoA desaturase gene on conjugated linoleic acid concentration in milk fat of dairy cows / L.A. Clark, J.M. Thomson, S.S. Moore, M. Oba // *Canadian Journal of Animal Science*. – 2010. – Vol. 90. – P. 575-584.
130. Clempson, A. Polymorphisms in the autosomal genes for mitochondrial function TFAM and UCP2 are associated with performance and longevity in dairy cows / A. Clempson, G. Pollott, J. Brickell, N. Bourne, N. Munce, D. Wathes // *Animal*. – 2011. – Vol. 5(9). – P. 1335-1343. DOI: 10.1017/S1751731111000346

131. Conte, G. Relationship between bovine SCD polymorphism locus and mammary gland desaturation activity / G. Conte, M. Mele, B. Castiglioni, A. Serra, M. Viva, S. Chessa, G. Pagnacco, P. Secchiari // Proceedings of the 8th world congress on genetics applied to livestock production, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. – 13-18 Aug, 2006. – P. 22-37.
132. Corp, E.S. Regional localization of specific [125I] leptin binding sites in rat forebrain / E.S. Corp, D.B. Conze, F. Smith and L.A. Campfield // Brain Research. – 1998. – Vol. 789. – P. 40-47.
133. Corva, P.M. Effect of leptin gene polymorphisms on growth, slaughter and meat quality traits of grazing Brangus steers / P.M. Corva, G.V. Fernandez Macedo, L.A. Soria et al. // Genetics and Molecular Research. – 2009. – Vol. 8. – P. 105-116.
134. Dekkers, J.C. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: strategies and lessons / J.C. Dekkers // Journal of Animal Science. – 2004. – Vol. 82. – P.313-328.
135. Delbart, C. Rôle des mitochondries. In Les mitochondries: biologie et incidences physiopathologiques / C. Delbart // Paris: Tec & Doc. – 2000. – P. 61-93.
136. Dobrzyn, A. The role of stearyl-CoA desaturase in the control of metabolism / A. Dobrzyn, J.M. Ntambi // Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids. – 2005. – Vol. 73. – P. 35-41.
137. Dobson, H. The high-producing dairy cow and its reproductive performance / H. Dobson, R. Smith, M. Royal, C. Knight, I. Sheldon // Reproduction in Domestic Animals. – 2007. – Vol. 42(2). – P. 17-23.
138. Ekerljung, M. Candidate gene effects on beef quality / M. Ekerljung // SLU Service / Repro, Uppsala. – 2012. – P. 46-47.
139. Ettema, J. Impact of age at calving on lactation reproduction health and income in first-parity Holstein son commercial farms / J. Ettema, J. Santos // Journal of Dairy Science. – 2004. – Vol. 87. – P. 2730-2742.
140. Farooqi, I.S. Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis / I.S. Farooqi, S. O'Rahilly // American Journal of Clinical Nutrition. – 2009. – Vol. 89. P. 980-984.

141. Feuermann, Y. Prolactin affects leptin action in the bovine mammary gland via the mammary fat pad / Y. Feuermann, S.J. Mabjeesh, L. Niv-Spector, D. Levin, A. Shamay // *Journal of Endocrinology*. – 2006. – Vol. 191. – P. 407-413.
142. Fiers, W. Complete nucleotide sequence of SV40 DNA / W. Fiers, R. Contreras, G. Haegemann, R. Rogiers, A. Van de Voorde, H. Van Heuverswyn, J. Van Herreweghe, G. Volckaert, M. Ysebaert // *Nature*. – 1978. – Vol. 273(5658). – P. 113-120.
143. Filipčík, R. Comparison of the carcass and beef quality of the Czech Fleckvieh bulls with genotype TT and CT for leptin and bulls of Galloway and Charolais breeds / R. Filipčík, J. Voříšková, A. Dufek, A. Pavlík, M. Hošek // *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*. – 2015. – Vol. 63(1). – P. 29–37.
144. Fisher, R.P. Purification and characterization of human mitochondrial transcription factor 1 / R.P. Fisher, D.A. Clayton // *Molecular and Cellular Biology*. – 1988. – Vol. 8. – P. 3496-3509.
145. Flowers, M.T. Role of stearoyl-coenzyme A desaturase in regulating lipid metabolism / M.T. Flowers, J.M. Ntambi // *Current Opinion in Lipidology*. – 2008. – V. 19. – P. 248-256.
146. Fruhbeck, G. Intracellular signalling pathways activated by leptin / G. Fruhbeck // *Biochemical Journal*. – 2006. – Vol. 393. – P. 7-20.
147. Gábor, M. Polymorphism of stearoyl-coenzyme A desaturase gene in Slovak Pinzgau cattle / M. Gábor, A. Trakovická, M. Miluchová // *Lucrări științifice Zootehnie și Biotehnologii*. – 2009. – Vol. 42(2). – P. 249-254.
148. Garnsworthy, P.C. Short communication: Heritability of milk fatty acid composition and stearoyl-CoA desaturase indices in dairy cows / P.C. Garnsworthy, S. Feng, A.L. Lock, M.D. Royal // *Dairy Science*. – 2010. – Vol. 93. – P. 1743-1748.
149. Giblin, L. All Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires / L. Giblin, S. Bytler, B. Kearney, S. Waters // *BMC Genetic*. – 2010. – No 11. – P. 73.

150. Gibson, J.P. Strategies for utilising molecular marker data for livestock genetic improvement in the developing world / J.P. Gibson // Food and Agriculture Organization. – 2003. – P. 42-46. – URL: <http://www.fao.org/biotech/Conf10.htm>
151. Goddard, M.E. Genomic selection / M.E. Goddard, B.J. Hayes // Journal of Animal Breeding and Genetics. – 2007. – No. 124(6). – P. 323-330.
152. Grummer, R.R. Nutritional and management strategies for the prevention of fatty liver in dairy cattle / R.R. Grummer // Veterinary Journal. – 2008. – Vol. 176. – P. 10-20.
153. Han, C. Association analyses of DNA polymorphisms in bovine SREBP-1, LXR α , FADS1 genes with fatty acid composition in Canadian commercial crossbred beef steers / C. Han, M. Vinsky, N. Aldai et al. // Meat Science. – 2013. – Vol. 93. – P. 429-436.
154. Hanuš, O. Role of fatty acids in milk fat and the influence of selected factors on their variability – A review / O. Hanuš, E. Samková, L. Křížová, L. Hasoňová, R. Kala // Molecules. – 2018. – No 1636, 23(7). – P. 1-32.
155. Henry, B.A. Adipose tissue hormones and the regulation of food intake / B.A. Henry, I.J. Clarke // Journal of Neuroendocrinol. – 2008. – Vol. 20. – P. 842-849.
156. Hernández, N. Association of polymorphisms in growth hormone and leptin candidate genes with live weight traits of Brahman cattle / N. Hernández, J.C. Martínez-González, G.M. Parra-Bracamonte, A.M. Sifuentes-Rincón, N. López-Villalobos, S.T. Morris, F. Briones-Encinia, E. Ortega-Rivas, V.I. Pacheco-Contreras, L.A. Meza-García // Genetics and Molecular Research. – 2016. – Vol. 15(3). – P. 1-9. DOI: 10.4238/gmr.15038449.
157. Hilmia, N. Polymorphism of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) gene in Indonesian local cattle / N. Hilmia, R.R. Noor, C. Sumantri et al. // Journal Indonesian Tropical Animal Agricultural. – 2017. – Vol. 42(1). – P. 1-5.
158. Höglund, J.K. Genome scan detects quantitative trait loci affecting female fertility traits in Danish and Swedish Holstein cattle / J.K. Höglund, B. Guldbrandtsen, G. Su, B. Thomsen, M.S. Lund // Journal of Dairy Science. – 2009. – Vol. – 92. – P. 2136-2143. DOI: 10.3168/jds.2008-1104

159. Horecký, Č., Association of single nucleotide polymorphism in TG, LEP and SCD1 genes with carcass traits in highland and galloway cattle / Č. Horecký, A. Knoll // Mendel University, Faculty of Agronomy. – 2013. – PP. 732-736.
160. Huang, C.M. Membranes of mammary gland. Bovine mammary mitochondria / C.M. Huang, T.W. Keenan // Journal of Dairy Science. – 1971. – Vol. 54. – P. 1395-1405.
161. Hudson, G.F.S Relationship Between Production and Stayability in Holstein Cattle/ G.F.S. Hudson, L. Dale Van Vleck // Journal of Dairy Science. – 1981. – Vol. 64. – P. 2246-2250.
162. Inostroza, K. Stearoyl CoA desaturase and fatty acid synthase gene polymorphisms and milk fatty acid composition in Chilean Black Friesian cows / K. Inostroza, E. Scheuermann, N. Sepúlveda // Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. – 2013. – Vol. 26. – P. 263-269.
163. Jamrozik, J. Analysis of persistency of lactation calculated from a random regression test day model / J. Jamrozik et al. // Interbull Bulletin. – 1998. – Vol. 17. – P. 64-69.
164. Jensen, R.G. The composition of bovine milk lipids / R.G. Jensen // Journal of Dairy Science. – 2002. – Vol. 85. – P. 295-350.
165. Ji, S. Partial cloning and expression of the bovine leptin gene / S. Ji, G.M. Wills, R.R. Scott and M.E. Spurlock // Animal Biotechnology. – 1998. – V. 9(1). – P. 1-4.
166. Jiang, Z. Polymorphisms in mitochondrial transcription factor A (TFAM) gene and their associations with measures of marbling and subcutaneous fat depth in beef cattle / Z. Jiang, T. Kunej // Patent No.: US 7,662,564 B2 / Int. Pat. Appl. PCT/US2006/020776, Int. Pat. Publ. WO 2006/128117A2. – 2010. – 53 p.
167. Jiang, Z. Significant associations of the mitochondrial transcription factor A promoter polymorphisms with marbling and subcutaneous fat depth in Wagyu x Limousin F 2 crosses / Z. Jiang, T. Kunej, J. Michal, Ch. Gaskins, J. Reeves, J. Rusboom, P. Dove, R. Wright // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2005. – Vol. 334. – P. 516-523.

168. Jiang, Z. The basal nucleus-encoded mitochondrial transcription genes and meat quality in beef cattle / Z. Jiang, T. Kunej, T. Wibowo, J. Michal, Z. Zhang, C. Gaskins, J. Reeves, J. Busboom, P. Dovc, R. Jr. Wright // In Proceedings of the 8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production, Belo Horizonte, Brazil, 2006. – P. 22-24.

169. Jomane, F.N. Genetic polymorphisms and their association with growth and carcass traits in Japanese Black steers under progeny testing / F.N. Jomane, T. Ishida, K. Morimoto, N. Fujishita, T. Tokunaga, H. Harada, T. Morita // Journal of Warm Regional Society of Animal Science, Japan. – 2015. – Vol. 5(2). – P. 217-224.

170. Kadlecová, V. Association of bovine DGAT1 and leptin genes polymorphism with milk production traits and energy balance indicators in primiparous Holstein cows / V. Kadlecová, D. Němečková, K. Ječmínková, L. Stádník // Mljekarstvo. – 2014. – Vol. 64(1). – PP. 19-26.

171. Kaplanová, K. Association of single nucleotide polymorphisms in TG, LEP and TFAM genes with carcass traits in cross-breed cattle / K. Kaplanová, J. Dvořák, T. Urban // Mendel Net Agro. – 2009. – P. 139. URL: http://web2.mendelu.cz/af_291_mendelnet/mendelnet09agro/files/articles/bz_kaplanova.pdf

172. Kgwatalala, P.M. Stearoyl-CoA desaturase 1 genotype and stage of lactation influences milk fatty acid composition of Canadian Holstein cows / P.M. Kgwatalala, E.M. Ibeagha-Awemu, A.F. Mustafa, X. Zhao // Animal Genetics. – 2009. – Vol. 40. – P. 609-615.

173. Kim, Y.C. Regulation of stearoyl-CoA desaturase genes: Role in cellular metabolism and preadipocyte differentiation / Kim Y.C., J.M. Ntambi // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1999. – Vol. 266. – P. 1-4.

174. Klassen, D. Genetic correlations between lifetime production and linearized type in Canadian Holsteins / D. Klassen, H. Monardes, L. Jairath, R. Cue, J. Hayes // Journal of Dairy Science. – 1992. – Vol. 75. – P. 2272-2282.

175. Komisarek, J. Effect of ABCG2, PPARGC1A, OLR1 and SCD1 gene polymorphism on estimated breeding values for functional and production traits in

Polish Holstein-Friesian bulls / J. Komisarek, Z. Dorynek // *Journal Of Applied Genetics*. – 2009. – Vol. 50(2). – P. 125-132.

176. Komisarek, J. Impact of LEP and LEPR gene polymorphisms functional traits in Polish Holstein Friesian cattle/ J. Komisarek // *Animal Science Paper and Reports*. – 2010. – Vol. 10. – P. 133-141.

177. Komisarek, J. Impact of leptin gene polymorphisms on breeding value for milk production traits in cattle / J. Komisarek, J. Szyda, A. Michalak, Z. Dorynek // *Journal of Animal and Feed Sciences*. – 2005. – Vol. 14. – P. 491-500.

178. Konner, A.C. Control of energy homeostasis by insulin and leptin: targeting the arcuate nucleus and beyond / A.C. Konner, T. Klockener, J.C. Bruning // *Physiology and Behavior*. – 2009. – Vol. 97. – P. 632-639.

179. Kossaibati, M. The cost of respiratory diseases in dairy heifer calves / M. Kossaibati, R. Esslemont // *The Bovine Practitioner*. – 1997. – Vol. 33. – P. 174-178.

180. Kulig, H. Associations between leptin gene polymorphism and some milk performance traits of cattle / H. Kulig // *Journal of Animal and Feed Sciences*. – 2005. – Vol. 14. – P. 235-243

181. Kulig, H. SCD1 SNP in relation to breeding value of milk production traits in Polish Holstein-Friesian cows / H. Kulig, I. Kowalewska-Łuczak, K. Zukowski, M. Kunicka // *Acta Scientiarum Polonorum, Zootechnica*. – 2013. – Vol. 12(1). – P. 41-48.

182. Kunej, T. A single nucleotide polymorphism possibly associated with fat deposition is methylated in the bovine TFAM promoter / T. Kunej, Z. Wang, J.J. Michal, P. Dovč, N.S. Magnuson, Z. Jiang // *Acta argiculturae Slovenica*. – 2016. – Vol. 108/2. – P. 65-69. doi:10.14720/aas.2016.108.2.1

183. Lagonigro, R. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake / R. Lagonigro, P. Wiener, F. Pilla, J.A. Woolliams, J.L. Williams // *Animal Genetics Journal*. – 2003. – Vol. 34. – P. 371-374.

184. Laubenthal, L. Cellular energy supply and aging in dairy cows: Characterization of different physiological states and impact of diet-induced over-condition: Doctoral of agricultural sciences / L. Laubenthal // Köln. – 2015. – 102 p.

185. Leroy, J.L. The effect of nutritionally induced hyperlipidaemia on *in vitro* bovine embryo quality / J.L. Leroy, V. Van Hoeck, M. Clemente, D. Rizos, A. Gutierrez-Adan, A. Van Soom, M. Uytterhoeven, P.E. Bols, // Human Reproduction. – 2010. – Vol. 25. – P. 768–778. DOI:10.1093/HUMREP/DEP420
186. Liefers, S.C. Association of leptin gene polymorphisms with serum leptin concentration in dairy cows. / S.C. Liefers, M.F. te Pas, R.F. Veerkamp, Y. Chilliard, C. Delavaud, R. Gerritsen, T. van der Lende // Mammalian Genome. – 2003. – Vol. 14. – P. 657-663.
187. Liefers, S.C. Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers / S.C. Liefers, M.F. te Pas, R.F. Veerkamp, T. van der Lende // Journal of Dairy Sciences. – 2002. – Vol. 85. – P. 1633-1638.
188. Lush, J.L. The bull index problem in the light of modern genetics / J.L. Lush // Journal of Dairy Science. – 1933. – T. 16(6). – P. 501-522.
189. Macciotta, N. Association between a polymorphism at the stearoyl CoA desaturase locus and milk production traits in Italian Holsteins / N. Macciotta, M. Mele, G. Conte et al. // Journal of Dairy Science. – 2008. – Vol. 91(8). – P. 3184-3189.
190. Mannen, H. Identification of mitochondrial DNA substitutions related to meat quality in Japanese Black cattle / H. Mannen, M.L. Morimoto, K. Oyamat, F. Mukai, S. Tsuji // Journal of Animal Science. – 2003. – Vol. 8(1). – P. 68–73.
191. Mashhadi, M.H. Polymorphism of stearoyl-coenzyme A desaturase 1(SCD1) gene in Iranian holstein dairy cattle / M.H. Mashhadi, S. Sobhanirad, S.E. Noorae, R.B. Kashani // Research Opinions In Animal & Veterinary Sciences. – 2013. – Vol. 3(10). – P. 363-365.
192. Maxam, A.M. A new method of sequencing DNA / A.M. Maxam, W. Gilbert // Proceedings of the National Academy of Sciences of USA. – 1977. – Vol. 74. – P. 560-564.
193. Milanesi, E. Stearoyl CoA desaturase (SCD) gene polymorphisms in Italian cattle breeds / E. Milanesi, L. Nicoloso, P. Crepaldi // Journal of Animal Breeding and Genetics. – 2008. – Vol. 125. – P. 63-67.

194. Moioli, B. Effect of stearoyl-coenzyme A desaturase polymorphism on fatty acid composition of milk / B. Moioli, G. Contarini, A. Avalli et al. // *Journal Dairy Science*. – 2007. – Vol. 90. – PP. 3553-3558.
195. Moody, W.G. A Quantitative and Morphological Study of Bovine Longissimus Fat Cells / W.G. Moody, R.G. Cassens // *Journal of Food Science*. – 1968. – Vol. 33(1). – P. 47-52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1968.tb00882.x>
196. Moradgholi, H. Polymorphism of TFAM gene and its association with growth traits in Sistani cattle / H. Moradgholi, G.R. Dashab, M.V. Valeh // *Animal Science Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*. – 2016. – Vol. 114. – P. 65-76.
197. Morris, C.A. Quantitative trait loci for organ weights and adipose fat composition in Jersey and Limousin back-cross cattle finished on pasture or feedlot / C.A. Morris, C.D. Bottema, N.G. Cullen, S.M. Hickey, A.K. Esmailizadeh, B.D. Siebert, W.S. Pitchford // *Animal Genetics*. – 2010. – Vol. 41. – P. 589-596.
198. Mullis, K.B. Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase-catalysed chain reaction / K.B. Mullis, F. Fallona // *Methods in Enzymology*. – 1987. – Vol. 155. – P. 335-350.
199. Nanaei, H.A. Effect of LEPR, ABCG2 and SCD1 Gene Polymorphisms on Reproductive Traits in the Iranian Holstein Cattle / H.A. Nanaei, S.A. Mahyari, M.A. Edriss // *Reproduction in Domestic Animals*. – 2014. – Vol. 49 (5). – P. 769-774. DOI: 10.1111/rda.12365
200. Nanaei, H.A. Polymorphism of SCD1 and DGAT1 gene in Isfahan Holstein cows / H.A. Nanaei, S.A. Mahyari, M.-A. Edriss et al. // *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. – 2013. – Vol. 1(7). – P. 783-788.
201. Newton, C.R. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS) / C.R. Newton, A. Graham, L.E. Heptinstall, S.J. Powell, C. Summers, N. Kalsheker, J.C. Smith and A.F. Markham // *Nucleic Acids Research*. – 1989. – Vol. 17(7). – P. 2503-2516.
202. Nkrumah, J.D. Polymorphisms in the bovine leptin promoter associated with serum leptin concentration, growth, feed intake, feeding behavior, and measures of

carcass merit / J.D. Nkrumah, C. Li, J. Yu, C. Hansen, D.H. Keisler, S.S. Moore // *Journal of Animal Sciences*. – 2005. – Vol. 83. – P. 20-28.

203. Ntambi, J.M. Stearoyl-CoA desaturase genes in lipid metabolism / J.M. Ntambi // New York: Springer Science Business Media, 2013. – P. 27-36. ISBN 978-1-4614-7969-7.

204. Ohsaki, H. Effect of SCD and SREBP genotypes on fatty acid composition in adipose tissue of Japanese Black cattle herd / H. Ohsaki, A. Tanaka, S. Hoashi, S. Sasazaki, K. Oyama, M. Taniguchi, F. Mukai, H. Mannen, // *Animal Science Journal*. – 2009. – Vol. 80. – P. 225-232.

205. Othman, E.O. Genetic polymorphism of two genes associated with carcass trait in Egyptian buffaloes / O.E. Othman, F.A. Zayedb, A.A.E. Gaweadb, M.R.A. El-Rahma // *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. – 2011. – Vol. 9. – P. 15-20.

206. Pankov, Yu. A. The ob protein as a product of obese gene expression and some aspects of development of modern endocrinology / Yu. Pankov // *Biochemistry (Moscow)*. – 1996. – Vol. 61. – P. 705-710.

207. Pavlík, A. Metabolic parameters concentrations in blood serum of Czech Pied bulls depending on single nucleotide polymorphism of leptin gene / A. Pavlík, P. Sláma, Z. Havlíček, R. Filipčík // *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. – 2014. – Vol. 3(2). – P. 145-147.

208. Paya, İ. Determination of stearyl-coenzyme a desaturase 1 gene variants in South Anatolian Red and East Anatolian Red cattle / İ. Paya, K. Öztürk // *Journal of the Faculty of Veterinary Medicine Istanbul University*. – 2015. – Vol. 41(2). – P. 218-222.

209. Reddy, V.B. The genome of simian virus 40 / V.B. Reddy, B. Thimmappaya, R. Dhar, K.N. Subramanian, B.S. Zain, J. Pan, P.K. Ghosh, M.L. Celma, S.M. Weissman // *Science*. – 1978. – Vol. 200(4341). – P. 494-502.

210. Rezende, F. Influência de alguns polimorfismos genéticos sobre características de carcaça em bovinos da raça Nelore / F. Rezende, J. Ferraz, S. Silva, J. Balieiro, J. Eler, F. Meirelles, J. Tarouco, F. Martins, V. Pedrosa // VII Simpósio

Brasileiro de Melhoramento Animal São Carlos, SP. – 2008. – P. 1-4. URL: <http://sbmaonline.org.br/anais/vii/trabalhos/pdfs/bc025.pdf>

211. Safina, N. Combination of polymorphism of the TFAM gene with growth dynamics, milk productivity and reproductive characteristics of cow-heifers / N. Safina, T. Akhmetov, S. Shakirov, R. Khaertdinov, R. Shaidullin, V. Sofronov, N. Danilova // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – Vol. 9(6). – P. 1528-1537.

212. 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. – Vol. 9(6). – P. 2028-2031.

213. Saiki, R.K. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia / R.K. Saiki, S. Scharf, F. Faloona, K.B. Mullis, G.T. Horn, H.A. Erlich, N. Arnheim // Science. – 1985. – Vol. 230(4732). – P. 1350-1354.

214. Saiki, R.K. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase / R.K. Saiki, D.H. Gelfand, S. Stoffel, S.J. Scharf, R. Higuchi, G.T. Horn, K.B. Mullis, H.A. Erlich // Science. – 1988. Vol. 239(4839). – P. 487-491.

215. Samková E. Animal factors affecting fatty acid composition of cow milk fat: A review / E. Samková, J. Špička, M. Pešek, T. Pelikánová, O. Hanuš // South African Journal of Animal Science. – 2012. – Vol. 42(2). – P. 83-100. <http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v42i2.1>

216. Sanger, F. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase / F. Sanger, A.R. Coulson // Journal of Molecular Biological. – 1975. – Vol. 94. – P. 444-448.

217. Sanger, F. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors / F. Sanger, S. Niclein, A.R. Coulson // Proceedings of the National Academy of Sciences of USA. – 1977. – Vol. 74. – P. 5463-5467

218. Schefers, J.M. Genomic selection in dairy cattle: Integration of DNA testing into breeding programs / J.M. Schefers, K.A. Weigel // *Animal Frontiers*. – 2012. – Vol. 2(1). – P. 4-9.
219. Schennink, A. Genes involved in bovine milk-fat composition: PhD thesis / A. Schennink // Netherlands, 2009. – 171 p. ISBN: 978-90-8585-353-4
220. Schennink, A. Milk fatty acid unsaturation: genetic parameters and effects of stearoyl-CoA desaturase (SCD1) and acyl-CoA: diacylglycerol acyltransferase 1 (DGAT1) / A. Schennink, J.M. Heck, H. Bovenhuis M.H., Visker, H.J. Van Valenberg, J.A. Van Arendonk // *Journal of Animal Science*. – 2008. – Vol. 91. – P. 2135-2143.
221. Schiavetta, A.M. Adipose tissue cellularity and muscle growth in young steers fed the betaadrenergic agonist clenbuterol for 50 days and after 78 days of withdrawal / A.M. Schiavetta, M.F. Miller, D.K. Lunt, S.K. Davis, S.B. Smith // *Journal of Animal Science*. – 1990. – Vol. 68. – P. 3614-3623.
222. Sedykh, T.A. Influence of TG5 and LEP gene polymorphism on quantitative and qualitative meat composition in beef calves / T.A. Sedykh, L.A. Kalashnikova, I.V. Gusev, I.Yu. Pavlova, R.S. Gizatullin and I.Yu. Dolmatova // *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 2016. – Vol. 30(2). – P. 41-48.
223. Shojaei, M. Association of growth trait and Leptin gene polymorphism in Kermani sheep / M. Shojaei, M.M. Abadi, M.A. Fozzi, O. Dayani, A. Khezri and M. Akhondi // *Journal of Cell and Molecular Research*. – 2010. – Vol. 2(1). – P. 67-73.
224. Souza, F. DGAT1 and LEP polymorphisms in Nelore cattle / F. Souza et al. // *Animal Science*. – 2010. – V. 88. – P. 435-441.
225. Szyda, J. Evaluating markers in selected genes for association with functional longevity of dairy cattle / J. Szyda, M. Morek-Kopeć, J. Komisarek and A. Żarnecki // *BMC Genetics*. – 2011. – No 12. – P. 30-36.
226. Taniguchi, M. Genotype of stearoyl-CoA desaturase is associated with fatty acid composition in Japanese Black cattle / M. Taniguchi, T. Utsugi, K. Oyama, H. Mannen, M. Kobayashi, Y. Tanabe, A. Ogino, S. Tsuji // *Mammalian Genome*. – 2004. – Vol. 14. – P. 142-148.

227. Tomka, J. Effects of polymorphisms in DGAT1 and LEP genes on milk traits in Holstein primiparous cows // J. Tomka, K. Vašíčková, M. Oravcová, M. Bauer, J. Huba, D. Vašíček, D. Peškovičová // *Mljekarstvo*. – 2016. – 66(2). – P. 122-128. DOI: 10.15567/mljekarstvo.2016.0204

228. Trakovická, A. SNPs analyses of the bovine LEP and PIT-1 genes by multiplex PCR-RFLP method and their effect on milk performance traits in Slovak Simmental cattle / A. Trakovická, N. Moravčíková, T. Minarovič, A. Navrátilová // *Journal of Central European Agriculture*. – 2015. – 16(1). – P.65-75. DOI: 10.5513/JCEA01/16.1.1542

229. Van der Lende, T. Leptin gene polymorphisms and their phenotypic associations / T. Van der Lende, M.F. Te Pas, R.F. Veerkamp, S.C. Liefers // *Vitamine Hormone*. – 2005. – Vol. 71. – P. 373-404. DOI:10.1016/S0083-6729(05)71013-X

230. Van Hoeck, V. Elevated non-esterified fatty acid concentrations during bovine oocyte maturation compromise early embryo physiology / V. Van Hoeck, R.G. Sturmey, P. Bermejo-Alvarez, D. Rizos, A. Gutierrez-Adan, H.J. Leese, P.E. Bols, J.L. Leroy // *PLoS One*. – 2011. – Vol. 6. – e23183. DOI:10.1371/JOURNAL.PONE.0023183

231. Vos, P. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting / P. Vos, R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. van de Lee, M. Hornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, and M. Kuiper // *Nucleic Acids Research*. – 1995. – Vol. 23. – P. 4407-4414.

232. Wathes, D.C. Influence of negative energy balance on cyclicity and fertility in the high producing dairy cow / D.C. Wathes, M. Fenwick, Z. Cheng et al. // *Theriogenology*. – 2007. – Vol. 68(1). – P. 232-241.

233. Watson, J.D. Molecular structure of nucleic acids / J.D. Watson, F.H.C. Crick // *Nature*. – 1953. – No 4356. – P. 737-738.

234. Wilson-Fritch, L. Mitochondrial remodeling in adipose tissue associated with obesity and treatment with rosiglitazone / L. Wilson-Fritch, S. Nicoloso, M. Chouinard, M.A. Lazar, P.C. Chui, J. Leszyk, J. Straubhaar, M.P. Czech, S. Corvera // *Journal of Clinical Investigation*. – 2004. – Vol. 114(9). – P. 1281-1289.

235. Wright, S. Mendelian analysis of the pure breeds of livestock: 1. The Measurement of Inbreeding and Relationship / S. Wright // *Journal of Heredity*. – 1923. – Vol. 14(8). – P. 339-348. DOI: [org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a102354](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a102354)
236. Wu, X.-L. Evaluation of candidate gene effects for beef backfat via Bayesian model selection / X.-L. Wu, M.D. MacNeil, S. De, Q.-J. Xiao, J.J. Michal, Ch.T. Gaskins, J.J. Reeves, J.R. Busboom, R.W. Wright Jr., Z. Jiang // *Genetica*. – 2005. – Vol. 125. – P. 103-113. DOI [10.1007/s10709-005-5255-1](https://doi.org/10.1007/s10709-005-5255-1)
237. Wu, X.X. Association of SCD1 and DGAT1 SNPs with the intramuscular fat traits in Chinese Simmental cattle and their distribution in eight Chinese cattle breeds / X.X. Wu, Z.P. Yang, X.K. Shi, J.Y. Li, D.J. Ji, Y.J. Mao, L.L. Chang, H.J. Gao // *Molecular Biology Reports*. – 2011. – Vol. 39(2). – P. 1065-1071. DOI: [10.1007/s11033-011-0832-0](https://doi.org/10.1007/s11033-011-0832-0)
238. Yang, A. $\Delta 9$ desaturase activity in bovine subcutaneous fatty acid composition / A. Yang, T.W. Larsen, S.B. Smith, R.K. Tume // *Lipids*. – 1999. – Vol. 34. – P. 971-978.
239. Ye, S. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms / S. Ye, S. Dhillon, X. Ke, A. Collins and I. Day // *Nucleic Acids Research*. – 2001. – Vol. 29. – P. 88e.
240. Zhang, Y. Position cloning of the mouse obese gene and its human homologue / Y. Zhang, R. Proenca, M. Maffey et al. // *Nature*. – 1994. – Vol. 372. – P. 425-432.
241. Zieba, D.A. Leptin as a nutritional signal regulating appetite and reproductive processes in seasonally breeding ruminants / D.A. Zieba, M. Szczesna, B. Klocek-Gorka, G.L. Williams // *Journal of physiology and pharmacology*. – 2008. – Vol. 59(9). – P. 7-18.
242. Zieba, D.A. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: A comparative review / D.A. Zieba, M. Amstalden, G.L. Williams // *Domestic Animal Endocrinology*. – 2005. – Vol. 29. – P. 166-185.

ПРИЛОЖЕНИЯ

УТВЕРЖДАЮ



Председатель СХПК «Племенной
завод им. Ленина» Атинского
района Республики Татарстан

И.В. Хайруллин

2018 г.

АКТ

**результатов научно-хозяйственного опыта аспиранта ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ
Сафиной Натальи Юрьевны**

Мы, нижеподписавшиеся: главный научный сотрудник отдела агробиологических исследований ТатНИИСХ – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН, доктор сельскохозяйственных наук, профессор Шакиров Ш.К., главный ветеринарный врач СХПК «Племзавод им. Ленина» Гилязов И.М., аспирант кафедры технологии животноводства ФГБОУ ВО Казанская ГАВМ Сафина Н.Ю., составили настоящий акт о том, что в 2016-2018 годах в условиях СХПК «Племенной завод им. Ленина» проводились научно-хозяйственные опыты по изучению взаимосвязи полиморфизма генов-кандидатов хозяйственно полезных признаков с показателями интенсивности роста и физического развития, молочной продуктивности, лактационной деятельности и репродуктивными качествами коров-первотелок крупного рогатого скота голштинской породы.

В ходе исследований установили, что исследованные гены оказывают влияние на формирование признаков физического развития, молочную продуктивность, лактационную деятельность и репродуктивные качества крупного рогатого скота. В связи с этим рекомендуется проводить молекулярно-генетическое тестирование молочных пород скота по генам LEP, SCD1 и TFAM. Животные, выявленные как наиболее ценные, могут быть использованы в дальнейших селекционно-племенных работах при подборе родительских пар, для получения потомства с наилучшими показателями молочной продуктивности и воспроизводительной способности.

Главный научный сотрудник отдела
агробиологических исследований
ТатНИИСХ – о.с.п. ФИЦ КазНЦ РАН,
доктор сельскохозяйственных наук,
профессор

Ш.К. Шакиров

Главный ветеринарный врач СХПК
«Племзавод им. Ленина»

И.М. Гилязов

Аспирант кафедры технологии
животноводства ФГБОУ ВО Казанская
ГАВМ

Н.Ю. Сафина