

На правах рукописи

МАКАРОВА НАТАЛЬЯ ВЛАДИМИРОВНА

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА КОРОВ
ТАТАРСТАНСКОГО ТИПА ПО РЕЗИСТЕНТНОСТИ К МАСТИТУ**

06.02.07 – Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных
животных

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Казань – 2019

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

Научный руководитель	Хаертдинов Равиль Анварович - доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель наук Российской Федерации и Республики Татарстан
Официальные оппоненты	Долматова Ирина Юрьевна - доктор биологических наук, зав. лабораторией молекулярной генетики, профессор кафедры пчеловодства, частной зоотехнии и разведения животных ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет» Зиннатова Фарида Фатиховна – кандидат биологических наук, заместитель руководителя по научной работе Татарского научно – исследовательского института сельского хозяйства – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН
Ведущая организация	ФГБОУ ВО «Ижевская государственная сельскохозяйственная академия»

Защита диссертации состоится «23» апреля 2019 года в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.02 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» (420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35)

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

Автореферат разослан «___» _____ 2019 года и размещен на сайтах <http://vak2.ed.gov.ru> и <http://kazanveterinary.ru>

Ученый секретарь
диссертационного совета

Резиля Ахметовна Асрутдинова

1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. Воспаление молочной железы (мастит), являющийся самым распространенным заболеванием среди многих болезней молочных коров, представляет собой хозяйственно-экономическую проблему во всех странах с интенсивным молочным скотоводством, поскольку приводит к колоссальным потерям молока за счет снижения молочной продуктивности, уменьшает сроки хозяйственного использования коров, ухудшает санитарно-технологическое качество молока и молочной продукции (В.Г. Гавриш, 1997; Л.К. Попов, 1998; А. Данкверт, Л. Зернаева, 2003; И. Идельбаев, 2007; Н.Т. Климов с соавт., 2009; С.И. Ширяев, 2010; Л.Г. Роман, 2010 и др.).

Несмотря на строительство новых современных комплексов, модернизацию старых животноводческих объектов, ввод в эксплуатацию молочных залов с современными компьютерными системами контроля дойного стада степень распространения мастита остается высокой и колеблется от 15 до 83 %. При этом особая роль отводится субклинической форме мастита (В.И. Мутовин, 1974; Д.Д. Логвинов с соавт., 1979; В.М. Карташова с соавт., 1988; Л.К. Попов, 1999; Д.С. Коновалов, 2003; А.В. Чурсин, 2009). Так, по данным Международной молочной федерации, сообщениям Европейской ассоциации животноводов, а также результатам многих других исследований, клиническая форма мастита диагностируется у 20 – 25 %, а субклиническая – у 35 – 50 % коров молочного стада (А.Ю. Алиев, 2007; В.С. Авдеенко, 2009; Б.К. Акназаров и соавт., 2009). Причем субклиническая форма мастита может сохраняться в течение 1–2 лактаций при отсутствии своевременного и эффективного лечения (С.С. Вачевский с соавт., 2005).

Значительные затраты на профилактику и лечение болезни не привели пока к разработке надёжных методов защиты коров от мастита. В настоящее время стало очевидным, что только ветеринарными методами не достигается необходимое снижение заболеваемости животных, о чём свидетельствует опыт всех стран с развитым молочным скотоводством. Полиэтиологичность мастита определяет необходимость комплексного подхода борьбы с ним. Необходимы качественно новые мероприятия с учетом широкого распространения болезни в популяциях. Поэтому в последние годы большое внимание уделяется поиску путей использования генетических факторов в борьбе с заболеванием. Важную роль в решении этой проблемы может иметь селекция, направленная на изменение генофонда стад в сторону усиления невосприимчивости к маститу, выведение линий животных с резистентным генотипом. Назрела необходимость разработки системы селекционных мероприятий по оздоровлению стад от мастита.

Степень разработанности темы. Как показывает практика, приёмы селекции, направленные на повышение устойчивости к маститу и другим заболеваниям, ещё слабо разработаны. Исследования по данной проблеме во многих случаях представлены кратковременными наблюдениями, проведены на небольшом поголовье и не всегда включают селекционно-генетический анализ. Морфофизиологическая и генетическая природа резистентности коров к этому

заболеванию, объективные критерии устойчивости остаются недостаточно изученными. Нет и единых представлений по вопросам генетической профилактики, о методах оценки генотипа животных по этому признаку. Малочисленны прогностические исследования эффективности селекции по маститоустойчивости, а оценка реализованных генетических изменений проводится недостаточно, что не позволяет выработать эффективные методы селекции.

Исходя из вышеизложенного, в настоящее время наиболее актуальной проблемой считается молекулярно-генетическая оценка коров по резистентности к маститу с применением высокоточных современных методов. Важность, значение и слабая изученность поставленной проблемы определяют актуальность, цель и задачи проводимых исследований.

Работа выполнена в соответствии с тематическим планом научных исследований ФГБОУ ВО «Казанская ГАВМ» по теме «Инновационные технологии в сельском хозяйстве для повышения продуктивности животных и качества продукции» (регистрационный номер НИОКТР: АААА – А17 – 11033110120 – 8).

Цель и задачи. Целью данной работы является молекулярно-генетическая оценка коров татарстанского типа по резистентности к маститу. В связи с этим решались следующие задачи:

- исследовать изменения белкового состава молока при разных степенях и формах заболевания коров маститом;
- определить генотип здоровых и больных маститом коров по белкам молока: бета-казеину (β – Сn), каппа-казеину (κ – Сn), бета-лактоглобулину (β – Lg) и ДНК маркерам: лактоферрину (bLTF), пролактину (bPRL), соматотропину (bGH);
- оценить наличие наследственной обусловленности устойчивости коров к маститу при определенных генотипах по вышеуказанным молекулярно-генетическим маркерам;
- исследовать степень изменения белкового состава молока при мастите у коров с разными генотипами по вышеуказанным белкам-маркерам.

Научная новизна. Впервые проведена молекулярно-генетическая оценка коров татарстанского типа по резистентности к маститу. При этом получены новые данные о качественных и количественных изменениях белкового состава молока при заболевании коров разными формами мастита. Убедительно доказано наличие наследственной устойчивости коров к маститу, обусловленной определенными генотипами молекулярно-генетических маркеров. Установлено новое свойство белков молока - способность сохранить нативное состояние при заболевании маститом.

Теоретическая и практическая значимость работы. Работа вносит новые знания в область диагностики и профилактики заболевания маститом коров, селекции их на наследственную устойчивость к данной болезни. В работе установлены конкретные генотипы молекулярно-генетических маркеров, обеспечивающих резистентность коров к маститу. Материалы диссертации могут быть использованы в практической селекции молочного

скота в качестве дополнительных критериев оценки и отбора коров по устойчивости к маститу.

Методология и методы исследования. Объектом исследования были здоровые и больные маститом коровы татарстанского типа племенного завода «Бирюли» Республики Татарстан.

Предметом исследования являлись клинические и лабораторные признаки больных коров маститом разной формы, белково-фракционный состав молока, генотипы коров по локусам β - Cn, κ - Cn, β - Lg, bLTF, bPRL и bGH.

Для решения поставленных задач применялись ветеринарно-диагностические, зоотехнические, генеалогические, биохимические и статистические методы, хорошо апробированные научной практикой в работах наших и других авторов.

Положения, выносимые на защиту:

1. При заболевании коров маститом в их молоке белки подвергаются существенным количественным изменениям. В результате этих изменений при клинической форме мастита молоко из казеиновой группы переходит в аномальную альбуминовую группу.

2. У коров татарстанского типа существует наследственная устойчивость к маститу, обусловленная влиянием определенных генотипов локусов β - Cn, κ - Cn, β - Lg, bLTF, bPRL и bGH.

3. Определенные генотипы вышеуказанных локусов обуславливают не только устойчивость коров к маститу, но и оказывают большое влияние на стабильность молочных белков при мастите вымени.

Степень достоверности и апробация результатов. Достоверность результатов исследований подтверждается методически правильным выполнением экспериментальных работ, использованием современных высокоточных методов анализа и статистической обработкой экспериментальных данных с определением их достоверности по общепринятым методикам.

Основные положения и материалы диссертации доложены, обсуждены и одобрены на ежегодных отчётах кафедры биологии, генетики и разведения животных ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» (Казань, 2012-2018 гг.); расширенном заседании кафедры биологии, генетики и разведения животных (протокол № 4, 2019); Международной научно-практической конференции «Повышение уровня и качества биогенного потенциала в животноводстве» (Ярославль 2018); Международной научно – практической конференции «Современному АПК – эффективные технологии» (Ижевск 2018).

Публикация результатов исследований. Результаты опубликованы в 6-и научных трудах в т.ч. 3 статьи в журнале рекомендованного Высшей аттестационной комиссией Министерства образования и науки Российской Федерации, 1 - в научно-исследовательском журнале «Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences» индексируемого на платформе «Web of science».

Структура и объем работы. Диссертационная работа изложена на 129 страницах компьютерного набора, состоит из разделов: введение, обзор литературы, основное содержание работы, результаты собственных исследований, заключение, предложение производству, список сокращений, список использованной литературы. Работа иллюстрирована 17 таблицами и 18 рисунками. Список использованной литературы включает 276 источник, в т.ч. 113 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 Материал и методы исследований

Экспериментальные исследования проводились в период с 2013 по 2017 гг. на кафедре биологии, генетики и разведения животных в ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана». Объектом исследования послужили здоровые и больные маститом коровы татарстанского типа племенного завода «Бирюли» Республики Татарстан. Схема основных направлений и результатов проведенных исследований представлена на рисунке 1.

Диагностика болезни маститом осуществлялась путем использования комплекса методов, включающих клинический осмотр животных и состояния молочной железы, а также лабораторное исследование качества молока с помощью препарата «Мастоприм».

В молоке определяли содержание общего белка и его 16 фракций, из них 9 фракций казеина: F, α_s' , α_{s0} , α_{s1} , α_{s2} , β , κ , γ , s; 7 фракций белка молочной сыворотки: F, альбумина сыворотки крови (Al), α - лактальбумина (α -La), β - лактоглобулина (β -Lg), лактоферрина (Lf), протеозо-пептонной фракции (Pp) и иммуноглобулина (Ig) и прочих минорных белков сыворотки. Качественный и количественный анализ белковых фракций в молоке проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле с последующем денситометрированием полученных фореграмм (Р.А. Хаертдинов, 1989). Для этого использовали прибор вертикального электрофореза белков VE-4M и микрофотометр ИФО-451.

Для определения генотипа коров по лактоферрину, пролактину и соматотропину применяли метод ПЦР - ПДРФ анализа по стандартным методикам (Seyfert H.M., Kühn C., 1994; A. Dybus, 2002; D.F. Gordon et al., 1983). Кровь для ПЦР – ПДРФ анализа брали из подхвостовой вены. Материалом для исследований послужила выборка коров (n=25), полученная методом отбора животных по состоянию здоровья. ДНК у 25 животных выделяли из 200 мкл цельной крови с использованием набора реагентов, из них 12 коров были здоровыми, 13 – больными маститом. Исследования проводили в лаборатории ФГБУ «Татарская межрегиональная ветеринарная лаборатория», (Казань, Республика Татарстан).

Всего исследовано 180 проб молока, 75 – крови.



Рисунок 1 – Схема основных направлений и результатов проведенных исследований

2 Результаты собственных исследований

2.1 Исследования по диагностике мастита у коров

В стаде племенного завода «Бирюли» исходя из критериев отбора животных для проведения исследований согласно условиям методики создана выборка, состоящая из 92 коров, из них 57 - здоровых и 35 – больных маститом. Диагностика болезни маститом осуществлялась путем использования комплекса методов, включающих клинический осмотр животных и состояния молочной железы, а также лабораторное исследование качества молока с помощью препарата «Мастоприм». У здоровых коров вымя при наружном осмотре и прощупывании имело чашеобразную форму с равномерно развитыми и симметрично расположенными долями, доли мягкие, эластичные, безболезненные, после доения значительно уменьшались, правые и левые доли вымени четко разделены друг от друга бороздой, которая одновременно являлась поддерживающей связкой вымени. При лабораторном исследовании в молоке здоровых коров было обнаружено не более 500 тыс./см³ соматических клеток. При анализе записей в журналах ветеринарного учета о заболеваемости коров маститом у них при жизни не выявлено данное заболевание.

При воспалительных процессах в молочной железе появлялись припухлость и болезненность пораженных долей вымени, нарушалась их равномерность и симметричность. Однако субклиническая форма мастита могла протекать скрытно без четко выраженных этих признаков. Как известно, мастит имеет инфекционную патологию, поэтому в молоке резко возрастало количество бактерий, лейкоцитов, нейтрофилов и других клеток, характерных для воспалительного процесса – тем самым повышался уровень соматических клеток. Их число при субклинической форме мастита составило от 500 тыс. до 1 млн./см³, а клинической - более 1 млн./см³. В наших исследованиях субклинической формой мастита болели 18 голов, а клинической – 17. Их болезнь была подтверждена повторными лабораторными исследованиями.

2.2 Белковый состав молока у здорового и больных коров маститом

В молоке больных маститом коров обнаружены идентичные с молоком здоровых животных 16 белковых фракций, каких-либо дополнительных фракций не выявлено, т.е. воспалительные процессы в молочной железе не приводили к появлению новых фракций белка и не наблюдался распад существующих фракций (табл. 1). Различия между здоровыми и больными животными по белкам молока в основном носили количественный характер. Так, при мастите содержание общего белка снизилось с 3,311г/100 мл до 2,949 (субклинической форме) и 2,042 г/100 мл (клинической форме, $P < 0,001$). Снижение общего белка происходило, в основном, за счет содержания казеинов, их количество уменьшилось очень значительно – с 2,602 г/100 мл до 2,042 и 0,924 г/100 мл ($P < 0,001$). Наибольшим изменениям подверглись главные фракции казеина: α_{s1} , β , κ . Они при мастите потеряли от 24 до 75% белка ($P < 0,001$). Аналогичные изменения произошли с фракциями среднего уровня и некоторыми «малыми» фракциями: α_{s0} , α_{s2} , $\alpha_{s'}$ и s (табл. 1).

Таблица 1 – Содержание белков в молоке у здоровых коров и больных субклинической и клинической формами мастита

Белки	Содержание белков в цельном молоке коров					
	у здоровых, n=27		у больных			
			субклиническим маститом, n=8		клиническим маститом, n=9	
	г/100 мл	%	г/100 мл	%	г/100 мл	%
Общий белок	3,311±0,053	100	2,949±0,046***	100	2,042±0,176***	100
Казеины:	2,602±0,039	78,6	2,042±0,066**	69,2	0,924±0,022***	45,2
F	0,027±0,001	0,8	0,027±0,001	0,9	0,027±0,001	1,3
α_s'	0,091±0,002	2,8	0,077±0,005*	2,6	0,046±0,004**	2,2
α_{s0}	0,158±0,009	4,8	0,134±0,011***	4,6	0,055±0,004***	2,7
α_{s1}	0,857±0,029	25,9	0,652±0,036***	22,1	0,216±0,012***	10,6
α_{s2}	0,318±0,006	9,6	0,258±0,017**	8,7	0,136±0,006***	6,7
β	0,766±0,016	23,1	0,579±0,018**	19,7	0,212±0,009***	10,4
κ	0,232±0,005	7,0	0,169±0,013*	5,7	0,094±0,011***	4,6
γ	0,070±0,003	2,1	0,082±0,011*	2,8	0,095±0,002*	4,6
s	0,082±0,006	2,5	0,063±0,003*	2,1	0,043±0,003**	2,1
Белки сыворотки:	0,709±0,010	21,4	0,907±0,030**	30,8	1,118±0,060	54,8
F	0,026±0,001	0,8	0,026±0,006	0,9	0,026±0,001	1,3
β -Lg	0,306±0,006	9,2	0,125±0,016*	4,2	0,101±0,009***	4,9
α -La	0,138±0,003	4,2	0,111±0,010*	3,8	0,085±0,005*	4,2
Al	0,056±0,003	1,7	0,204±0,018***	6,9	0,298±0,015***	14,6
Pp	0,047±0,003	1,4	0,073±0,006*	2,5	0,129±0,010**	6,3
Ig	0,088±0,003	2,7	0,240±0,021***	8,1	0,331±0,023***	16,2
прочие	0,046±0,001	1,4	0,129±0,011**	4,4	0,148±0,013**	7,3

Примечание: здесь и в последующих таблицах *P<0,05. **P<0,01; ***P<0,001.

У них при мастите снижение было выражено в несколько меньшей степени, чем у «главных» белков и составило от 19 до 65 % (P < 0,01... 0,001). При мастите вымени наиболее стабильной фракцией оказался F – казеин, у которого концентрация имела постоянное значение – 0,027 г/100 мл. Другой отличительной фракцией был γ – казеин, его концентрация в отличие от других фракций казеина, при мастите, напротив, повышалась от 0,070 г/100 мл в нормальном молоке до 0,095 г/100 мл в маститном (P < 0,05).

Такое изменение концентрации γ – казеина при мастите вымени оказалось сходным с изменением содержания сывороточных белков. Увеличение концентрации белков сыворотки происходило в основном за счет фракций: альбумина крови и иммуноглобулина, их содержание в маститном молоке в сравнение с нормальным составило в 3-5 раза выше (P < 0,001). Аналогичным изменениям подверглись протезо-пептоны и прочие «малые» фракции

сыворотки, однако их повышение было выражено в меньшей степени – в 1,5 – 3 раза ($P < 0,005 \dots 0,001$).

Наиболее устойчивой к воспалительным процессам вымени оказалась F – фракция, ее концентрация была постоянной в нормальном и аномальном молоке – 0,026 г/100 мл. Изменение содержания главных белков сыворотки: β – лактоглобулина и α – лактальбумина было противоположным тому, что наблюдалось с остальными белками сыворотки, их концентрация аналогично с казеиновыми фракциями снизилась в маститном молоке от 20 до 70 % ($P < 0,001$).

В результате вышеуказанных изменений содержания белков в молоке при мастите, нормальное казеиновое молоко превратилось в аномальное альбуминовое с соотношением казеинов и сывороточных белков соответственно 45 : 55 %. Этот показатель должен стать основным критерием оценки состояния вымени при мастите и качества молочной продукции, молоко с таким показателем можно считать аномальным. Его поступление в сборное товарное молоко необходимо исключить.

Нами также изучен белковый состав молока у коров, переболевших маститом, и влияние больной доли вымени на белковый состав молока в его других здоровых долях. Результаты этих исследований представлены в таблице 2. Исследованиями установлено, что у переболевших коров маститом не полностью восстанавливается тот белковый состав молока, который был у здоровых коров. Прежде всего это проявляется в снижении содержания общего белка и его фракций. Так, в молоке вылечившихся от мастита коров содержание общего белка было достоверно ниже на (14 %), чем у здоровых коров и составило соответственно 2,860 и 3,311 г/100 мл ($P < 0,001$). Снижение общего белка происходило пропорционально, как за счет казеинов, так и белков сыворотки соответственно 2,266 и 0,594 г/100 мл против 2,602 и 0,709 г/100 мл в нормальном молоке ($P < 0,01 \dots 0,001$). При этом в наибольшей степени пострадал синтез главных белков молока: α_{s1} -, α_{s2} -, β -, κ – казеинов и β – лактоглобулина, α - лактальбумина сыворотки. Их концентрация снизилась от 7 до 21 % ($P < 0,05 \dots 0,01$). Однако следует отметить, что при этом структура молочного белка восстанавливается и соотношение казеинов и белков сыворотки достигает величины нормального молока, т.е. оно составляет 79 : 21 % как у молока здоровых коров.

Другой важный результат в наших исследованиях получен о том, что при заболевании одной доли вымени белковый состав молока в других здоровых долях не страдает. Так, в молоке от здоровых долей вымени содержалось почти равное количество общего белка (3,239 г/100 мл), казеина (2,541) и белка сыворотки (0,698), что и в молоке абсолютно здоровых коров, соответственно 3,311 : 2,602 : 0,709 г/100 мл. Небольшие различия не достоверны. Аналогичные данные получены по отдельным фракциям белков (табл. 2). Например, содержание α_{s1} – казеина в молоке от здоровых долей вымени составило 0,831 г/100 мл, а в молоке абсолютно здоровых коров – 0,857 г/100 мл; соответственно β – казеина – 0,742 и 0,766 г/100 мл; κ – казеина - 0,230 и 0,232 г/100 мл; β – лактоглобулина – 0,295 и 0,306 г/100 мл; α - лактальбумина – 0,137 и 0,138 г/100 мл и т.д.

Таблица 2 – Содержание белков в молоке у здоровых коров и больных, получивших лечение, и в здоровых долях вымени

Белки	Содержание белков в цельном молоке коров					
	у здоровых, n=27		у больных			
			получивших лечение, n=8		в здоровых долях, n=11	
	г/100 мл	%	г/100 мл	%	г/100 мл	%
Общий белок	3,311±0,053	100	2,860±0,073***	100	3,239±0,069	100
Казеины:	2,602±0,039	78,6	2,266±0,060***	79,2	2,541±0,065	78,4
F	0,027±0,001	0,8	0,027±0,001	0,9	0,027±0,001	0,8
α_s'	0,091±0,002	2,8	0,094±0,006	3,3	0,093±0,007	2,9
α_{s0}	0,158±0,009	4,8	0,140±0,006*	4,9	0,154±0,006	4,8
α_{s1}	0,857±0,029	25,9	0,678±0,045**	23,7	0,831±0,041	25,6
α_{s2}	0,318±0,016	9,6	0,287±0,017**	10,0	0,315±0,014	9,7
β	0,766±0,026	23,1	0,683±0,032**	23,9	0,742±0,028	22,9
κ	0,232±0,005	7,0	0,216±0,010*	7,6	0,230±0,008	7,1
γ	0,070±0,003	2,1	0,070±0,004	2,4	0,073±0,003	2,3
s	0,082±0,006	2,5	0,072±0,003*	2,5	0,076±0,009	2,3
Белки сыворотки:	0,709±0,010	21,4	0,594±0,015**	20,8	0,698±0,016	21,6
F	0,026±0,001	0,8	0,026±0,001	0,9	0,026±0,001	0,8
β -Lg	0,306±0,006	9,2	0,252±0,017*	8,8	0,295±0,012	9,1
α -La	0,138±0,003	4,2	0,117±0,008*	4,1	0,137±0,010	4,2
Al	0,056±0,003	1,7	0,044±0,005*	1,5	0,056±0,005	1,7
Pp	0,047±0,003	1,4	0,036±0,002*	1,3	0,049±0,006	1,5
Ig	0,088±0,003	2,7	0,085±0,003	3,0	0,090±0,005	2,8
прочие	0,046±0,001	1,4	0,034±0,002*	1,2	0,045±0,003	1,4

2.3 Генетическая структура здоровых и больных маститом коров по белкам молока

В молоке коров татарстанского типа полиморфными оказались три белка: β – , κ – казеин и β – лактоглобулин. У каждого из них выявлено по два генетических варианта А и В, которые могли образовывать три генотипа АА, ВВ и АВ. Четвертый возможный полиморфный белок α_{s1} – казеин оказался мономорфным, у него обнаружен всего лишь один ВВ – тип.

Из исследованных белков наиболее полиморфным был β – лактоглобулин, у него оба аллеля А и В имели высокую частоту, соответственно 0,457 и 0,543 с некоторым преобладанием аллеля В. Аналогичная картина наблюдалась по частоте генотипов АА и АВ, соответственно 26,1 и 34,8 %. По этому белку превосходство имели гетерозиготы АВ – 39,1 %.

Таблица 3 – Частота генотипов и аллелей белков молока у коров здоровых и больных маститом

Группа здоровья по маститу	Локус белка	Распредел.	Частота генотипов						χ^2	Частота аллелей	
			AA		BB		AB			A	B
			n	%	n	%	n	%			
Здоровые, n=26	β - Cn	ф.	4	15,4	-	-	22	84,6 ^{xxx}	13,2 ^{xx}	0,577	0,423
		т.	8	30,8	5	19,2	13	50,0			
	к - Cn	ф.	3	11,5	-	-	23	88,5 ^{xx}	15,9 ^{xxx}	0,558	0,442
		т.	8	30,8	5	19,2	13	50,0			
	β - Lg	ф.	6	23,1	9	34,6	11	42,3	0,6	0,442	0,558
		т.	5	19,2	8	30,8	13	50,0			
Больные, n=20	β - Cn	ф.	18	90,0 ^{xxx}	1	5,0	1	5,0	2,4	0,925	0,075
		т.	17	85,0	0	0	3	14,0			
	к - Cn	ф.	14	70,0 ^{xxx}	2	10,0	4	20,0	1,7	0,800	0,200
		т.	13	65,0	1	5	6	30,0			
	β - Lg	ф.	6	30,0	7	35,0	7	35,0	1,8	0,475	0,525
		т.	5	25,0	5	25,0	10	50,0			

Исследованная группа коров по β – лактоглобулину находилась в генетическом равновесии, χ^2 не превышал значения 2,2 при необходимой минимальной величине 6,0.

Меньшим уровнем полиморфизма обладал β – казеин, у которого по частоте значительно в 2,5 раза преобладал аллель А – 0,728 под аллелем В – 0,272, поэтому белку в стаде в основном оказались коровы с генотипами АА (47,9 %) и АВ (49,9 %). Генотип ВВ имела лишь одна корова (2,2 %). Стадо по β – казеину также находилось в генетическом равновесии, χ^2 равен 3,1.

Полиморфизм к – казеина в сравнении с предыдущими белками оказался на среднем уровне с частотой аллелей А – 0,663 и В – 0,337. Стадо в основном – на 95 % составили коровы с генотипами АА – 37,0 % и АВ – 58,7 %, генотип ВВ обнаружен лишь у 2-х коров (4,3 %). По локусу к – Сп нарушения генетического равновесия не выявлено.

Изучали возможную связь заболеваемости коров маститом в зависимости от их генотипа по белкам молока, для чего определяли частоту генотипов и аллелей у здоровых и больных коров. Оказалось, что между здоровыми и больными маститом коров существуют значительные различия по частотам генотипов и аллелей белков молока. Так, у здоровых коров, не заболевших в течение всей жизни маститом, по всем трем локусам наблюдалось преимущество гетерозигот. У них по β – казеину частота данного генотипа АВ в 17 раз превышала частоту аналогичного генотипа у больных животных и составила, соответственно 84,6 и 5,0 % ($P < 0,001$). Такие же данные получены по к – казеину, соответственно в 4 раза – 88,5 и 20,0 % ($P < 0,001$). По β – лактоглобулину различия между здоровыми и больными группами коров были выражены в меньшей степени, однако тенденция сохранилась,

соответственно 42,3 и 35,0 %. При этом у больных животных, напротив, значительно увеличилась доля гомозигот, особенно, генотипа AA. Так, по β – казеину частота этого генотипа у больных животных в сравнении со здоровыми была почти в 6 раз выше и составила, соответственно 90,0 и 15,4 % ($P < 0,001$). Аналогичные данные получены по κ – казеину, соответственно 70,0 и 11,5 % ($P < 0,001$). Такие изменения в генетической структуре коров привели к значительному в 1,5 раза повышению частоты аллеля A в локусах β - и κ – Cn у больных животных. Следовательно, при заболевании маститом возникает естественный отбор животных по их устойчивости и восприимчивости к этой болезни, что приводит к нарушению генетического равновесия в локусах β - и κ – Cn ($\chi^2 = 13,2$ и $15,9$; $P < 0,01$ и $0,001$).

2.4 Белковый состав молока у больных маститом коров с разными генотипами по локусам β -, κ - Cn и β – Lg

Из предыдущего раздела следует, что генотипы по локусам β -, κ – Cn и β – Lg могут оказать большое влияние на содержание белков в молоке у коров больных маститом, и может оказаться, что белки молока при определенном генотипе по этим локусам менее подвержены количественным изменениям. Результаты исследований, представленные в таблицах 1, 4 и 5, подтвердили это предположение. Так, молоко коров с генотипами BB и AB β – казеина, заболевших маститом сохранили в нативном состоянии соответственно 93 и 95 % общего белка, 82 и 86 % - казеина и его главных фракций α_{s1} – казеина 76-82 %; β – казеина 82 и 88 %; κ – казеина – 72 и 74 %. Как было отмечено в предыдущем разделе, коровы с такими генотипами отличались устойчивостью к маститу, а с генотипом AA оказались восприимчивы, и у них показатели были значительно низкими – соответственно 71; 51; 43; 45 и 51 % ($P < 0,001$). Кроме того, у коров с генотипами BB и AB при мастите и белки сыворотки подверглись меньшим изменениям, нежели у коров с генотипом AA. Так, в молоке коров первых генотипов концентрация сывороточных белков увеличилась лишь на 29...30 %, а у последних – на 47 % ($P < 0,05...0,01$). Аналогичные изменения произошли с концентрацией белковых фракций: альбумина соответственно 37...39 и 47 %, протеино-пептона – 14-15 и 130 %; иммуноглобулина – 160-195 и 237 % ($P < 0,05...0,01$).

Влияние генотипов по локусу κ – казеин на содержание белков в молоке больных маститом коров оказались аналогичным тому, что наблюдалось по локусу β – Cn, т.е. молоко коров больных маститом с генотипами BB и AB сохранило более высокую долю нативного белка: у общего белка – соответственно 89 и 83 %; казеина – 78 и 68 % и его основных фракций: α_{s1} – казеина – 79 и 61 %; β – казеина 72 и 66 %; κ – казеина – 69 - 60 % (табл.5). У больных коров с генотипом AA эти показатели были значительно ниже, соответственно 69; 47; 38; 48 % ($P < 0,001$).

Таблица 4 – Содержание белков в молоке больных маститом коров с разными генотипами по локусу β - Сп

Белки	Содержание белков в молоке по генотипам β - казеина					
	АА, n=18		ВВ, n=1		АВ, n=1	
	г/100 мл	%	г/100 мл	%	г/100 мл	%
Общий белок	2,358±0,051***	100	3,067	100	3,157	100
Казеины:	1,317±0,038***	55,9	2,145	69,9	2,243	71,0
F	0,028±0,004	1,2	0,028	0,9	0,028	0,9
α s'	0,056±0,005**	2,4	0,073	2,4	0,084	2,7
α s ₀	0,082±0,013***	3,5	0,137	4,5	0,143	4,5
α s ₁	0,370±0,035***	15,7	0,650	21,2	0,702	22,2
α s ₂	0,179±0,015***	7,6	0,311	10,1	0,288	9,1
β	0,342±0,012***	14,5	0,627	20,4	0,675	21,4
к	0,118±0,010***	5,0	0,168	5,5	0,171	5,4
γ	0,093±0,013*	3,9	0,087	2,8	0,087	2,8
s	0,050±0,006**	2,1	0,064	2,1	0,064	2,0
Белки сыворотки:	1,041±0,027	44,1	0,922**	30,1	0,914*	29,0
F	0,026±0,002	1,1	0,026	0,8	0,026	0,8
β -Lg	0,112±0,015*	4,7	0,119	3,9	0,126	4,0
α -La	0,096±0,005*	4,1	0,110	3,6	0,115	3,6
Al	0,262±0,013	11,1	0,217*	7,1	0,210*	6,7
Pp	0,108±0,009	4,6	0,068*	2,2	0,072**	2,3
Ig	0,297±0,018	12,6	0,260*	8,5	0,228**	7,2
прочие	0,139±0,014	5,9	0,123*	4,0	0,136	4,3

Как было показано в предыдущем разделе 2.2, при заболевании коровы маститом белки сыворотки молока в отличие от казеинов не снижаются, а напротив, повышаются. Этот процесс оказался менее выраженным у коров с генотипами ВВ и АВ. У них повышение общего белка сыворотки составило соответственно 29 и 38 %, а его фракций: альбумина – 291 и 312 %; протезо-пептона – 53 и 94; иммуноглобулина – 168 и 202 %. У коров с генотипом АА эти показатели были значительно выше и составили соответственно 51; 391; 142 и 256 % ($P < 0,001$).

Таким образом, коровы с генотипами ВВ и АВ β – и к – казеинов не только более устойчивы к маститу, но и при заболевании маститом их молоко способно сохранить более высокую долю белков в нативном состоянии, нежели коровы с генотипом АА.

Влияние генотипов локуса β – Lg на белковый состав молока больных маститом коров было выражено в не столь сильной степени, как у локусов β – и к – Сп, однако тенденция сохранилась.

Таблица 5 – Содержание белков в молоке больных маститом коров с разными генотипами по локусу κ– Сп

Белки	Содержание белков в молоке по генотипам κ– казеина					
	АА, n=14		ВВ, n=2		АВ, n=4	
	г/100 мл	%	г/100 мл	%	г/100 мл	%
Общий белок	2,292±0,37***	100	2,948±0,047	100	2,746±0,05**	100
Казеины:	1,220±0,024***	53,2	2,031±0,067	68,9	1,767±0,058**	64,3
F	0,028±0,003	1,2	0,028±0,001	0,9	0,028±0,003	1,0
α _s '	0,054±0,005**	2,4	0,073±0,001	2,5	0,066±0,003*	2,4
α _{s0}	0,076±0,013***	3,3	0,127±0,012	4,3	0,113±0,009*	4,1
α _{s1}	0,327±0,034***	14,3	0,679±0,036	23,0	0,524±0,027**	19,1
α _{s2}	0,168±0,014***	7,3	0,260±0,019	8,8	0,245±0,009*	8,9
β	0,314±0,032***	13,7	0,554±0,018	18,8	0,506±0,015*	18,4
κ	0,111±0,010***	4,8	0,160±0,011	5,4	0,140±0,013**	5,1
γ	0,093±0,008*	4,1	0,088±0,005	3,0	0,089±0,004	3,2
s	0,049±0,005**	2,1	0,062±0,003	2,1	0,056±0,005*	2,0
Белки сыворотки:	1,071±0,025	46,7	0,916±0,006***	31,1	0,979±0,039**	35,7
F	0,026±0,001	1,1	0,026±0,003	0,9	0,026±0,003	0,9
β-Lg	0,108±0,008**	4,7	0,126±0,018	4,3	0,119±0,016*	4,3
α-La	0,093±0,005*	4,1	0,109±0,013	3,7	0,108±0,012	4,0
Al	0,275±0,013	12,0	0,219±0,004**	7,4	0,231±0,014*	8,4
Pp	0,114±0,008	5,0	0,072±0,015***	2,4	0,091±0,011**	3,3
Ig	0,313±0,018	13,7	0,236±0,025***	8,0	0,266±0,028**	9,7
прочие	0,142±0,004	6,2	0,129±0,016*	4,4	0,139±0,044	5,1

Так, молоко больных коров с генотипами ВВ и АВ в сравнении с генотипом АА отличались повышенным содержанием общего белка соответственно 2,537 и 2,510 г/100 мл (77 и 76 % от соответствующего белка здоровых коров), казеина – 1,507 и 1,495 г/100 мл (58 и 57 %) и его фракции; α_{s1} – казеина – 0,451 и 0,423 г/100 мл (53 и 49 %); β – казеина – 0,403 и 0,412 г/100 мл (53 и 54 %); κ – казеина – 0,132 и 0,128 г/100 мл (57 и 55 %). У коров с генотипом АА эти показатели оказались достоверно ниже и составили соответственно 2,304 г/100 мл (70 %); 1,282 г/100 мл (49 %); 0,351 г/100 мл (41 %); 0,335 г/100 мл (44 %); 0,114 г/100 мл (49 %); (P<0,05...0,01).

Влияние генотипов локуса β – Lg на содержание сывороточных белков в молоке больных коров было незначительным. В молоке коров с разными генотипами β – лактоглобулина концентрация белков сыворотки оказалась примерно равной и составила соответственно общего белка сыворотки – 1,013...1,030; β – лактоглобулина – 0,110...0,117; α – лактальбумина – 0,096...0,098; альбумина – 0,248...0,253; протезо-пептона – 0,097...0,112; иммуноглобулина – 0,290...0,295 г/100 мл.

2.5 Генетическая структура здоровых и больных маститом коров по локусам bLTF, bPRL и bGH

У татарстанского типа скота все три исследованных локуса лактоферрина, пролактина и соматотропина оказались полиморфными. Лактоферрин и пролактин обладали средним уровнем полиморфизма, а соматотропин – низким уровнем. В локусе bLTF преобладающим аллелем был аллель А с частотой 0,7, частота другого аллеля В составила 0,3. В исследованной группе коров из возможных трех генотипов выявлены лишь два: АА и АВ, генотип ВВ не обнаружен, что возможно объясняется небольшим числом исследованных животных – 25 голов. Тем не менее группа коров находилась в генетическом равновесии, χ^2 не превышал значения 3,79 при стандартном 6,0 ($P > 0,05$). Частота гомозиготного генотипа составила 40,0 % при теоретически ожидаемой 48,0 %, а гетерозиготного генотипа АВ, соответственно 60,0 и 44 %.

Сравнительное изучение частоты генотипов локуса bLTF у здорового и больного мастита коров показала, что достоверных различий между ними по этому показателю не наблюдается, о чем свидетельствует близкие значения по частоте генотипов у здоровых и больных животных, соответственно АА – 33,3 и 46,2; АВ – 66,7 и 53,8 % (табл. 6). Однако следует отметить наличие у здоровых коров определенной тенденции повышения частоты В-аллеля и гетерозигот АВ соответственно на 23 и 28 %. Возможно присутствие В – аллеля в генотипе животных способствует их устойчивости к маститу.

Локус пролактина обладал аналогичным с лактоферрином уровнем полиморфизма, у этого гормона также преобладающим аллелем был А с частотой 0,78, а аллель В имел частоту значительно ниже – 0,22. У пролактина в отличие от лактоферрина обнаружены все три возможных генотипа: АА, ВВ и АВ. Коровы по этим генотипам находились в генетическом равновесии, χ^2 не превышал значения 1,51. Частота генотипов АА, ВВ и АВ составила 64,0; 8,0; 28 % при теоретически ожидаемой 60; 4; 36 %.

По локусу bPRL, в отличие от лактоферрина, выявлены более значительные различия между здоровыми и больными маститом животными по частоте генотипов. В этом отношении преимуществом обладал гомозиготный генотип АА, его частота была в 1,8 раза выше (83,3 %), чем у больных коров (46,2 %), а частота гетерозигот АВ снизилась в 5,5 раз, т.е. с 46,2 до 8,3 % ($P < 0,001$). В результате значение χ^2 увеличилась до 4,29.

Такие значительные различия между данными группами коров свидетельствуют о том, что генотип АА пролактина обуславливает устойчивость коров к маститу.

Локус соматотропина в отличие от двух предыдущих локусов обладал наименьшей степенью полиморфизма. По данному локусу коровы имели преимущественно гомозиготный генотип LL (92 %), лишь у 2 – х коров обнаружен гетерозиготный тип LV (8 %), а гомозиготный генотип VV вовсе не выявлен.

Таблица 6 - Частота генотипов и аллелей по локусам bLTF, bPRL и bGH у здорового и больного мастита коров

Группа здоровья по маститу	Локус белков	Распредел.	Частота генотипов						Частота аллелей		χ^2
			AA		BB		AB		A	B	
			n	%	n	%	n	%			
Здоровые, n=12	bLTF	ф.	4	33,3	0	0	8	66,7	0,667	0,333	3,09
		т.	5	41,7	1	11,6	6	50,0			
	bPRL	ф.	10	83,3**	1	8,3	1	8,3	0,875	0,125	
		т.	9	75,0	0	1,7	3	25,0			
Больные, n=13	bLTF	ф.	6	46,2	0	0	7	53,8	0,730	0,270	1,64
		т.	7	53,8	1	6,9	5	38,5			
	bPRL	ф.	6	46,2	1	7,6	6	46,2***	0,692	0,308	
		т.	6	46,8	1	9,2	5	38,5			
	bGH		LL		VV		LV		L	V	
Здоровые, n=12		ф.	12	100	0	0	0	0	1,0	0	0
		т.	12	100	0	0	0	0			
Больные, n=13		ф.	11	84,6	0	0	2	15,4	0,923	0,076	0
	т.	11	84,6	0	0	2	15,4				

Поэтому частота V – аллеля была очень низкой и составила 0,04, подавляющее большинство животных обладали аллелем L, его частота была преобладающей – 0,960. По локусу bGH исследованная популяция животных находилась в генетическом равновесии $\chi^2 = 0,16$.

Из-за низкой частоты аллеля V очень трудно судить о наличии какой-либо связи генотипов соматотропина с устойчивостью коров к маститу (табл.6). Кроме того, различия между здоровыми и больными животными по частоте преобладающего генотипа LL оказались менее значительными, соответственно 100 и 84.6 %, что не позволяет делать утвердительные выводы.

2.6 Белковый состав молока у больных маститом коров с разными генотипами по локусу bLTF, bPRL и bGH

Изучали влияние генотипов коров по локусам bLTF, bPRL и bGH на белковый состав молока при мастите вымени. У больных коров по локусу bLTF выявлено 2 генотипа: AA и AB. Их влияние на содержание белков в молоке больных коров было аналогичным тому, что наблюдалось по локусам β - Cn, κ - Cn и β - Lg, т.е. преимущественно обладали гетерозиготы AB. У них при мастите сохранилось больше общего белка и казеинов в нативном состоянии, чем у генотипа AA. Так, в молоке коров с генотипом AB при мастите содержалось 82 % нативного общего белка, 67 % - казеина и его фракций: α_{s1} - казеина – 64 %; β - казеина - 64 %; κ - казеина – 63 %.

Таблица 7 – Содержание белков в молоке у больных маститом коров с разными генотипами по локусу bLTF

Белки	Содержание белков в молоке коров с генотипами			
	AA, n=6		AB, n=7	
	г/100 мл	%	г/100 мл	%
Общий белок	2,484±0,072**	100	2,701±0,061	100
Казеины:	1,486±0,052**	59,8	1,751±0,042	64,8
F	0,028±0,002	1,1	0,028±0,005	1,0
α_s'	0,061±0,007	2,5	0,068±0,007	2,5
α_{s0}	0,093±0,014**	3,7	0,110±0,011	4,1
α_{s1}	0,423±0,036**	17,0	0,539±0,029	20,0
α_{s2}	0,202±0,018*	8,1	0,228±0,015	8,4
β	0,406±0,013*	16,3	0,487±0,018	18,0
κ	0,128±0,016*	5,2	0,146±0,008	5,4
γ	0,092±0,016	3,7	0,089±0,011	3,3
s	0,053±0,009	2,1	0,058±0,004	2,1
Белки сыворотки:	0,998±0,037	40,2	0,950±0,035	35,2
F	0,026±0,002	1,0	0,026±0,002	1,0
β -Lg	0,119±0,010	4,8	0,119±0,012	4,4
α -La	0,102±0,061	4,1	0,102±0,004	3,8
Al	0,237±0,012	9,5	0,227±0,016	8,4
Pp	0,098±0,009	3,9	0,090±0,010	3,3
Ig	0,285±0,021	11,5	0,253±0,024	9,4
прочие	0,132±0,014	5,3	0,133±0,011	4,9

Эти показатели у коров генотипа AA были значительно низкими и составили соответственно 75; 57; 49; 53 и 55 % ($P < 0,05...0,001$; табл. 1; 7). Различия между генотипами локуса bLTF по белкам сыворотки молока были выражены в меньшей степени, чем по казеинам, однако тенденция сохранялась. Учитывая, что при мастите концентрация белков сыворотки в молоке повышается, следовательно, более низкое их содержание свидетельствует об их стабильности. Так, в молоке больных коров с генотипом AB общего белка сыворотки содержалось 0,950 г/ 100 мл, а у генотипа AA – 0,998 г/ 100 мл, соответственно альбумина – 0,227 и 0,237; протезо-пептона – 0,090 и 0,098; иммуноглобулина – 0,253 и 0,285 г/ 100 мл.

По локусу bPRL выявлена несколько иная зависимость содержания белков в молоке от генотипа коров при заболевании их маститом. В данном локусе преимущество имели гомозиготы AA и BB, чем гетерозиготы AB. Их молоко характеризовалось повышенным содержанием казеинов и пониженным – белков сыворотки, что является желательной структурой молочного белка. Так, в молоке больных коров с генотипами AA и BB сохранилось в нативном состоянии общего белка соответственно 81 и 93 %, казеина – 65 и 82 %; его фракций: α_{s1} – казеина – 61 и 76 %; β – казеина – 61 и 82 %; κ – казеина – 59 и 72 %.

Таблица 8 – Содержание белков в молоке больных маститом коров с разными генотипами по локусу bPRL

Белки	Содержание белков в молоке коров с генотипами					
	AA, n=6		BB, n=1		AB, n=6	
	г/100 мл	%	г/100 мл	%	г/100 мл	%
Общий белок	2,670±0,056***	100	3,067	100	2,285±0,125***	100
Казеины:	1,697±0,047***	63,6	2,145	69,9	1,272±0,028***	55,7
F	0,028±0,002	1,0	0,028	0,9	0,027±0,005	1,2
αs'	0,066±0,006*	2,5	0,073	2,4	0,056±0,005**	2,5
αs ₀	0,106±0,012**	4,0	0,137	4,5	0,079±0,014***	3,5
αs ₁	0,519±0,033**	19,4	0,650	21,2	0,345±0,034***	15,1
αs ₂	0,224±0,016**	8,4	0,311	10,1	0,176±0,017***	7,7
β	0,470±0,030***	17,6	0,627	20,4	0,326±0,032***	14,3
κ	0,138±0,010**	5,2	0,168	5,5	0,120±0,009***	5,3
γ	0,090±0,013	3,4	0,087	2,8	0,093±0,014	4,1
s	0,056±0,008*	2,1	0,064	2,1	0,050±0,005*	2,2
Белки сыворотки:	0,973±0,034*	36,4	0,922**	30,1	1,013±0,059	44,3
F	0,026±0,002	1,0	0,026	0,8	0,026±0,002	1,1
β-Lg	0,118±0,009	4,4	0,119	3,9	0,114±0,015	5,0
α-La	0,101±0,005	3,8	0,109	3,6	0,096±0,010*	4,2
Al	0,243±0,003	9,1	0,217*	7,1	0,235±0,018	10,3
Pp	0,089±0,006**	3,3	0,067***	2,2	0,112±0,010	4,9
Ig	0,261±0,017*	9,8	0,260*	8,5	0,297±0,021	13,0
прочие	0,136±0,011	5,1	0,123*	4,0	0,134±0,012	5,9

У генотипа АВ эти показатели оказались значительно ниже и составили соответственно 69; 49; 40; 43; и 52 % ($P < 0,01...0,001$; табл.1; 8).

По белкам сыворотки различия между генотипами были выражены в меньшей степени, чем по казеинам, однако тенденция сохранилась. Белки сыворотки в молоке у генотипов AA и BB оказались более устойчивыми к изменениям, чем у генотипа АВ. Так, в молоке первых генотипов повышение общего белка сыворотки составило соответственно 37 и 30%; протеозо-пептона – 89 и 42 %; иммуноглобулина – 196 и 195 %, а у последнего АВ генотипа эти показатели были ещё выше – соответственно 43; 138 и 237% ($P < 0,05...0,001$).

У коров больных маститом по локусу bGH выявлено лишь 2 генотипа: LL и LV, гомозигот VV не оказалось. Влияние этих генотипов на белковый состав молока при болезни вымени было аналогичным тому, что наблюдалось по локусам β -Cn, κ - Cn, β - Lg и bLTF, т.е. преимущество имели гетерозиготы LV, чем гомозиготы LL. Так, в молоке больных коров с генотипом LV содержалось больше на 0,278 г/ 100 мл общего белка, казеина – 0,387; α_{s1} – казеина - на 0,136; β – казеина – на 0,126; κ – казеина – на 0,031 г/ 100 мл

($P < 0,05 \dots 0,001$) и, напротив – меньше на 0,108 г/ 100 мл общего белка сыворотки, альбумина – на 0,066; протеино-пептона – на 0,026; иммуноглобулина – на 0,038 г/ 100 мл; чем у генотипа LL ($P < 0,05 \dots 0,001$).

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По итогам исследований можно сделать следующие выводы:

1. При фракционном анализе белков молока у здоровых и заболевших маститом коров установлено, что при мастите в молоке по белковому составу происходят значительные изменения, которые характеризуются снижением содержания общего белка (до 40 %), казеина (до 65 %), и повышением концентрации сывороточных белков (до 60 %).

2. При мастите наибольшим изменениям в основном подвергаются главные белки молока: α_{s1} -, β -, κ -, α_{s2} - казеины, альбумин крови, иммуноглобулин, β – лактоглобулин, α – лактальбумин, у последних двух белков изменения носят противонаправленный характер, чем у предыдущих белков. В результате этих изменений при клинической форме мастита молоко из казеиновой группы переходит в аномальную альбуминовую группу с соотношением казеинов и белков сыворотки 45 : 55 % при норме 79 : 21 %. Этот показатель можно предложить, как основной критерий оценки состояния вымени и качества молочной продукции при мастите.

3. При выздоровлении коров болевших маститом, не полностью восстанавливается первоначальный белковый состав молока, который был до болезни, то есть пониженное содержание общего белка, казеина и белка сыворотки сохраняется, однако при этом молоко имеет нормальную белковую структуру с соотношением казеинов и белков сыворотки 79 : 21 %. При заболевании одной доли вымени белковый состав молока в здоровых долях не страдает.

4. У коров татарстанского типа полиморфизм белков молока достаточно хорошо выражен и находится на уровне полиморфизма у других пород молочного скота: холмогорского, черно-пестрого и голштинского. Этот уровень полиморфизма позволяет решать важнейшие вопросы селекции и разведения, в т.ч. по созданию наследственной устойчивости к маститу.

5. Установлено, что резистентность коров к маститу в достаточно сильной степени зависит от их генотипа по белкам молока. Эта связь хорошо выражена с генотипами β - и κ – казеинов, в меньшей степени с β – лактоглобулином. Маститу более устойчивы коровы – гетерозиготы с генотипом АВ β - и κ – казеинов, этой болезни в большей степени подвержены гомозиготы АА.

6. Генотипы коров по локусам β - Сп, κ – Сп и β – Lg оказывают существенное влияние на белковый состав молока при заболевании маститом. При этом преимущество имели генотипы ВВ и АВ, у которых при мастите молоко подвергалось меньшим количественным изменениям, чем у генотипа АА.

7. Методом ПЦР – ПДРФ анализа установлено, что у коров татарстанского типа все три исследованных локуса: bLTF, bPRL и bGH являются полиморфными; из них локусы bLTF и bPRL обладают средним уровнем полиморфизма, а у bGH – низким. О возможной связи этих локусов с устойчивостью к маститу можно утверждать лишь в отношении одного локуса – пролактина, по которому выявлены значительные различия между здоровыми и больными животными по частоте генотипов AA и AB. При этом преимуществом обладал генотип AA.

8. На основе результатов исследований можно утверждать, что генотипы по локусам bLTF, bPRL и bGH также, как генотипы β -Cn, k – Cn и β – Lg, оказывают большое влияние на стабильность молочных белков при мастите вымени. Влияние генотипов локусов bLTF и bGH оказалось аналогичным влиянию локусов β -Cn, k – Cn и β – Lg, т.е. преимуществом по стабильности молочных белков при мастите обладали гетерозиготы. По этому свойству белков локус bPRL имел особенность, у которого, напротив, данное свойство было хорошо выражено у гомозигот AA и BB, чем гетерозиготы AB.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. Для повышения точности диагностики заболевания коров маститом предлагается наряду с клиническим осмотром и определением соматических клеток в молоке использовать результаты наших исследований по белковому составу молока, которые позволяют более объективно оценить степень патологических изменений в вымени и качестве молока.

2. Для повышения эффективности селекции молочного скота на устойчивость к маститу рекомендуется включить в программу селекции в качестве дополнительных критериев оценки генотип коров по локусам β -Cn, k – Cn, β – Lg, bLTF, bPRL и bGH. При этом следует отдавать предпочтение коровам с генотипами BB и AB, а по локусу bPRL – генотипам AA и BB.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Макарова, Н.В. Сравнительный анализ белкового состава молока у коров молочного и мясного направления продуктивности / Н.В. Макарова, И.Н. Камалдинов, Р.А. Хаертдинов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2015. – Т. 224(4). – С. 125-128.

2. Макарова, Н.В. Генетический полиморфизм белков молока у коров татарстанского типа в связи с их устойчивостью к маститу / Н.В. Макарова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2018. – Т. 233(1). – С. 125-128.*

3. Макарова, Н.В. Оценка генов bLTF, bPRL и bGH у коров татарстанского типа на резистентность к маститу / Н.В. Макарова, Р.А. Хаертдинов, А.С. Макаров // Ученые записки Казанской государственной

академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. – 2018. – Т. 233(1). – С. 109-113.*

4. Макарова, Н.В. Изменение белкового состава молока у коров татарстанского типа при их заболевании маститом / Н.В.Макарова, Р.А. Хаертдинов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2018. – Том 234 (2). - С. 129-137.*

5. Макарова, Н.В. Влияние генотипов на стабильность молочных белков при мастите по локусу bPRL коров татарстанского типа / Н.В. Макарова; Э.Д. Насибуллина, А.С. Макаров / Сборник научных трудов по материалам IV - Международной научно-практической конференции ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА: «Повышение уровня и качества биогенного потенциала в животноводстве» – Ярославль, - 2018. – С. 108 - 115.

6. Makarova, N.V. The content of proteins in the milk of cows tatarstan type with their mastitis / N.V. Makarova, R. A. Khaertdinov, I.N. Kamaldinov et al. //Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS) <https://www.rjpbcs.com> // - 2018. - V. 9 (6). – P. 1202-1209.**

* Публикации в изданиях, включенных в перечень ВАК РФ.

** Публикации в изданиях, индексируемого на платформе «Web of Science».