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

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

Диссертация на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научный руководитель –
Хаертдинов Равиль Анварович,
доктор биологических наук,
профессор, заслуженный деятель
науки Республики Татарстан и
Российской федерации

КАЗАНЬ-2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Стр.

ВВЕДЕНИЕ……...…….3
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ…….....8
1.1 Хозяйственно - биологические особенности татарстанского типа скота и его совершенствование……...…….….8
1.2 Мастит коров и проблемы, возникающие в молочном скотоводстве при этом заболевании ……...11
1.3 Молекулярно – генетические маркеры крупного рогатого скота…….....20
2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ……..….....…….……44
2.1 Материалы и методы исследований……....…….……...44
2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ……...…….……....60
2.2.1 Исследования по диагностике мастита коров……...60
2.2.2 Белковый состав молока у здоровых и больных коров маститом….....62
2.2.3 Генетическая структура здоровых и больных маститом коров по белкам молока…….....70
2.2.4 Белковый состав молока у больных маститом коров с разными генотипами по локусам β -, κ - Cn и β – Lg……..75
2.2.5 Генетическая структура здоровых и больных маститом коров по локусам bLTF, bPRL и bGH……..……..……81
2.2.6 Белковый состав молока у больных маститом коров с разными генотипами по локусам bLTF, bPRL и bGH ……..……..…….....85
3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ……..……...91
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ……..……...……....99
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ……...…….100
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ……...101

ВВЕДЕНИЕ

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 это заболевание, приводит к колоссальным потерям молока за счет снижения молочной продуктивности, уменьшает сроки хозяйственного использования коров, ухудшает санитарно-технологическое качество молока и молочной продукции. (В.А. Париков, 1990; А.И. Ивашура, 1991; В.И. Слободяник, 1994; В.Г. Гавриш, 1997; Л.К. Попов, 1998; А. Данкверт, JI. Зернаева, 2003; И. Идельбаев, 2007; Н.Т. Климов и др., 2009; С.И. Ширяев, 2010; Л.Г. Роман, 2010).

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 и др., 1979; В.М. Карташова и др., 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 по результатам многих исследований, клиническая форма мастита диагностируется у 20,0–25,0 %, а субклиническая – у 35,0 – 50,0 % коров молочного стада (А. Ю. Алиев, 2007; В. С. Авдеенко, 2009; Б. К. Акназаров и др., 2009). Причем субклиническая форма мастита может сохраняться в течение 1–2 лактаций при отсутствии своевременного и эффективного лечения (С. С. Вачевский и др., 2005).

Значительные затраты на профилактику и лечение болезни не привели пока к разработке надёжных методов защиты коров от мастита. В настоящие время стало очевидным, что только ветеринарными методами не достигается необходимое снижение заболеваемости животных, о чём говорит опыт всех стран с развитым молочным скотоводством. Полиэтиологичность мастита определяет

необходимость комплексного подхода для борьбы этим заболеванием. Необходимы качественно новые мероприятия с учетом широкого распространения болезни в популяциях. Поэтому в последние годы большое внимание уделяется исследованиям, направленным на поиски 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 на повышение устойчивости к маститу, как и к 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 исследования прогноза эффективности селекции по маститоустойчивости, а оценка реализованных генетических изменений проводится недостаточно, что не позволяет выработать эффективные методы селекции.

Исходя из вышесказанного, в настоящее время наиболее актуальной задачей считается молекулярно-генетическая оценка коров по резистентности к маститу с применением наиболее точных и современных методов. Важность, значение и слабая изученность поставленной проблемы предопределяют 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 были поставлены задачи:

- исследовать изменения белкового состава молока при разных степенях и формах заболевания коров маститом;

- определить генотип здоровых и больных коров маститом по белкам молока: бета-казеину (β – Cn), каппа-казеину (к – Cn), бета-лактоглобулину (β – Lg) и ДНК маркерам: лактоферрину (bLTF), пролактину (bPRL) и соматотропину (bGH);

- определить наличие наследственной обусловленности устойчивости коров к маститу при определенных генотипах по вышеуказанным молекулярно-генетическим маркерам;

- исследовать степень изменения белкового состава молока при маститеу 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, профилактики заболевания маститом коров и 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, к – 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 анормальную альбуминовую группу.

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

3. Определённые 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 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.); на расширенном заседании кафедры биологии, генетики и разведения животных (протокол № 4, 2019).

Материалы диссертации доложены и обсуждены, и одобрены на 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» индексированного 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.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Хозяйственно – биологические особенности татарстанского типа скота и его совершенствование

В племенных хозяйствах Татарстана методом воспроизводительного скрещивания выведен новый молочный тип скота, который объединяет генофонд трех лучших молочных пород: холмогорской, черно-пестрой, голштинской и характеризуется генотипом 1/8Х+1/16ЧП+13/16Г. Новый тип скота удачно сочетал желательные признаки исходных пород. Для осуществления чистопородного разведения и дальнейшего совершенствования нового типа скота сформирована его генеалогическая структура, включающая 6 мужских линий: Элевейшна (30,3%), Астронавта (21,1%), Чифа (20,8%), Бутмэйкера (17,8%), Рокмэна (5,6%), Хоупа (4,4%) и 7 высокопродуктивных семейств Дины 4, Чулпан 846, Канафер 641, Лилии 333, Жидяган 936, Аккош 333, Алчии 384 со средней продуктивностью 5851 кг и 3,83% жира (Р.А. Хаертдинов и др., 2006).

Племенную часть татарстанского типа скота представляют стада 11-и племенных заводов и 32-х племенных репродукторов с общей численностью животных свыше 18 тыс. коров, у которых среднегодовая продуктивность составляет 6525 кг молока и 3,72% жира. Коровы татарстанского типа скота превосходят сверстниц похожей холмогорской породы по удою на 558 - 807 кг, содержанию жира на 0,07 - 0,08%. Путем проведения породоиспытания установлено, что новый тип скота обладает хорошо выраженным молочным направлением продуктивности, правильным экстерьером, высокой приспособленностью к отечественным технологиям, выносливостью, крепкой конституцией, высоким качеством и универсальными технологическими свойствами молока. Отличительными признаками нового типа скота в сравнение с похожей холмогорской породой являются высокая молочность (1 лактация - 5103 кг); крупный рост (высота в крестце — 140,2 см); длинное туловище (косая длина - 158 см); высокая живая масса (1 отел - 518 кг); длинная голова (длина - 52,6 см); широкий лоб (ширина - 21,7 см); отлично

развитая грудь (ширина - 47,1 см; глубина - 72,8 см); длинный крестец (длина - 52,7 см); объемистое широкое вымя (ширина молочного зеркала -20,2 см); высокая термоустойчивость молока (продолжительность - 63,4 мин), которые устойчиво наследуются и животные по ним однородны.

Линейная оценка экстерьера животных татарстанского типа показал, что они по развитию подавляющего большинства признаков телосложения положительно превосходят модельный тип и у них многие экстерьерные недостатки, характерные для холмогорского скота не проявляются (Р.А. Хаертдинов и др., 2007).

Качество молочной продукции у татарстанского типа скота отвечает требованиям высшего сорта и характеризуется отличными свойствами. В ней содержится 3,74% жира, 3,38% белка, 4,74% лактозы, плотность молока составляет 1027,7кг/м^3. Она в равной степени пригодна для производства сыров и стерилизованных молочных продуктов, что представляет превосходство в сравнение с молочной продукцией исходных холмогорской и голштинской пород. Универсальные технологические свойства молока у коров нового типа обусловлены оптимальным соотношением в нем казеина и сывороточного белка, равным 77,19: 22,81% (М.Г. Нургалиев и др., 2007).

Бычки татарстанского типа скота имеют хорошие откормочные и мясные качества. Откорм сверхремонтного молодняка эффективен, и при этом можно добиться достаточно высоких показателей по мясной продуктивности: живой массы в возрасте 16 месяцев — 460 кг; среднесуточного прироста - 800-1100 г; убойного выхода - 58,8%; индекса мясности - 4,47.

Воспроизводительные качества у животных татарстанского типа хорошо выражены. Телки достигают физиологической зрелости и плодотворно осеменяются в возрасте 18,3 месяца со средней живой массой 411 кг. У коров первый отел происходит в возрасте 27,3 месяца с живой массой 518 кг, у них продолжительность беременности составляет 278,3 дня. Выход телят на 100 коров - 94,7 голов.

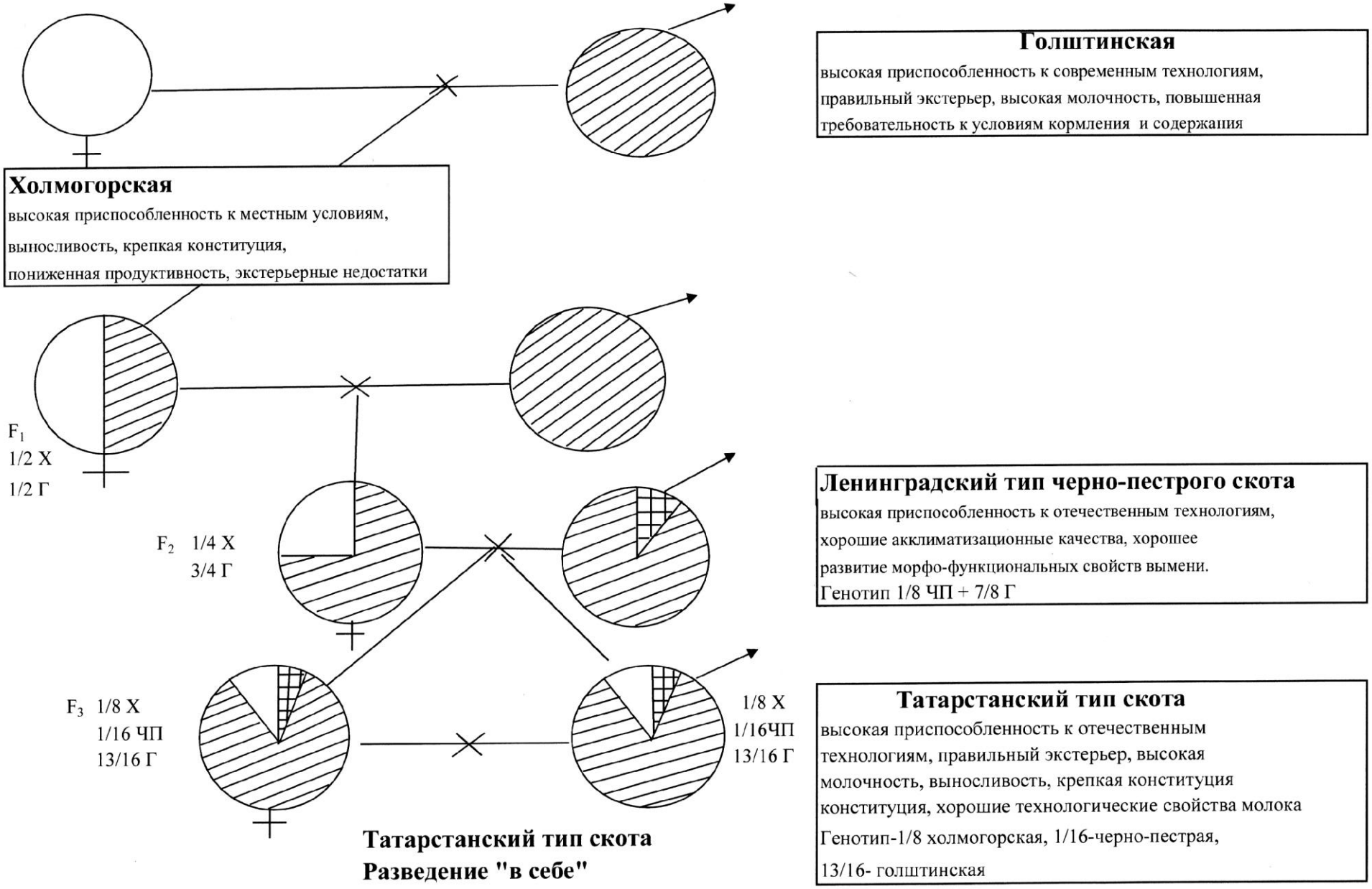


Рисунок 1 - Схема выведения татарстанского молочного типа крупного рогатого скота

Быки-производители татарстанского типа также характеризуются высокими воспроизводительными способностями: объем эякулята - 6,2 мл; концентрация спермиев - 1,04 млрд./мл; активность спермиев - 96,3%; оплодотворяющая способность замороженного семени - 84,5%. За срок использования быков, равного 4,6 лет, накапливается 30,1 тыс. доз семени.

Генофонд татарстанского типа скота по белкам молока и антигенам крови достаточно богатый и представлен 28-ю комплексными генотипами и 63-мя антигенами. Кроме того, у животных нового типа выявлен ряд уникальных генотипов по белкам молока и около десятка антигенов, отсутствующих у похожей холмогорской породы, которые могут быть использованы для успешного решения многих вопросов селекции и совершенствования данного типа скота (Р.А. Хаертдинов и др., 2006).

Разведение животных татарстанского типа скота для хозяйств является, высоко прибыльной отраслью и использование животных этого типа для различных хозяйственных целей обеспечивает рентабельность на уровне 48,5 - 75,6%. Наиболее высокий экономический эффект (чистая прибыль от реализации 1ц продукции - 244,1 рублей) достигается при использовании нового типа скота для производства молока. При этом рентабельность производства в 2 раза выше, нежели в хозяйствах со стадами холмогорского скота (М.Г. Нуртдинов и др., 2006).

1.2 Мастит коров и проблемы, возникающие в молочном скотоводстве при этом заболевании

Мастит является одним из наиболее распространенных заболеваний молочного скота в мире, его доля несмотря на широкое внедрение технологий профилактики мастита остается высокой – до 50% (Г.М. Свириденко, 2003; Л.А. Черепахина Л.А., 2008; Карташова, 1993). Мастит – это воспаление молочной железы, которое ведет к снижению молочной продуктивности и санитарно-технологических качеств молока (В.А. Париков, 1990; А.И. Ивашура, 1991; М.А.

Багманов, 2003; В. А. Париков, 2005; А.Г. Шахов, 2005; Н. Т. Климов, 2009). Экономический ущерб от этого заболевания молочной железы у коров превосходит потери от незаразных и заразных болезней, вместе взятых (Т. Ж. Абдрахманов, 2002; Ю. Г. Анакина, 1989; В. М. Воскобойников, 1981; Н. Т. Климов, 2009; В. И. Слободяник, 2008; J. D. Ferguson, 2007), что обусловливается рядом факторов:

1. Большой охват поголовья (от 20,0 до 50,0 %);

2. Снижение молочной продуктивности как в период болезни, так и после лечения (в целом по стаду оно составляет 10,0–12,0 % годового удоя);

3. Преждевременная (вынужденная) выбраковка части животных из-за необратимых изменений в молочной железе;

4. Снижение генетического потенциала стада, поскольку заболевания молочной железы подвержены наиболее высокопродуктивные животные;

5. Примесь маститного молока к нормальному, снижает его потенциальную ценность и технологические качества, создает угрозу здоровью людей, особенно детей (молозиво и молоко маститных коров служит одной из причин заболеваемости и гибели новорожденных телят от диспепсии);

6. Осуществление комплекса лечебно-профилактических мероприятий при мастите сопряжено со значительными финансовыми и трудовыми затратами.

Причины возникновения мастита самые разнообразные (неблагоприятное воздействие на молочную железу механических, термико-химических и биологических факторов, сопровождающееся проникновением в нее различных патогенных микроорганизмов).

Возбудителем заболевания могут быть различные микроорганизмы: бактерии, микоплазмы, дрожжи и водоросли. Выделяют более 137 видов микроорганизмов, которые могут послужить причиной его возникновения (И. С. Коба, 2013), но только 20 из них хорошо изучены. Маститы могут быть классифицированы по двум типам: инфекционного патогенеза и патогенеза, связанного с окружающей средой (L. T. Cao, 2007).

Возбудители инфекционного патогенеза существуют внутри зараженных долей вымени. Они приводят к возникновению субклинического мастита, который, как правило, проявляется в виде увеличения числа соматических клеток лейкоцитов [преимущественно нейтрофилы] и эпителиальных клеток, в молоке из пораженной четверти (В. С. Авдеенко, 2012; В. М. Карташова, 1993; S. C. Nickerson, 1989).

Возбудители передаются от коровы к корове или от одной доли вымени к другой, а также во время доения через ветошь для вытирания рук доярок и доильных аппаратов. Наиболее распространенными патогенными организмами этого типа являются Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Streptococcusdis dysgalactiae, Corynebacterium bovis (Г. Н. Кузьмин, 1990.).

Возбудители из окружающей среды – бактерии. Наиболее распространенные микроорганизмы, связанные с окружающей средой – это Esherichia coli и Streptococcus uberus (В. С. Авдеенко, 2012; Г. Б. Дикке, 2000; Н. Т. Климов, 2009; И. С. Коба, 2013).

Подавляющее большинство маститов, имеющих бактериальное происхождение, в 80,0 % случаев вызываются пятью видами бактерий (Escherichia coli, Streptococcus uberis, Staphylococcus aureus, Streptococcus dysgalactiae и Streptococcus agalactiae) (В. К. Копытин, 1999). Бактерии попадают в молочную железу тремя путями (галактогенно, гематогенно и лимфогенно). Проникшие в молочную железу бактерии могут размножаться в количестве, достаточном, чтобы вызвать серозное или катаральное воспаление (В. С. Авдеенко, 2012; Л. Г. Роман, 2011; В. С. Шипилов, 1988).

В связи с этим происходит вазодилатация, которая приводит к увеличению притока крови к молочной железе, что увеличивает сосудистую проницаемость альвеолярного аппарата вымени. Этому способствуют такие воспалительные медиаторы, как простогландины, лейкотриены, протеазы и токсические метаболиты кислорода. Они увеличивают капиллярную порозность железистой ткани в молочной железе (В. С. Авдеенко, 2012; В. М. Воскобойников, 1981). Отек происходит из-за инфильтрации жидкости в железистую ткань. Фагоциты

оставляют кровеносные сосуды и выходят за их пределы (диапедез). Первоначально полиморфноядерные нейтрофилы входят в железистую ткань, в последующем преобладают макрофаги, происходит фагоцитоз и разрушение бактерий (И. И. Балковой, 1993; N. Klastrup, 2002). По мнению (А. С. Баркова, 2012; A. J. Bradley, 2002), регенерация железистой ткани происходит после разрушения бактерий. Однако секретирующая молоко альвеолярная ткань может разрушаться, что приводит к образованию рубца.

По данным (Е. П. Болдырев, 2001; В. М. Гамаюнов, 2009; A. J. Bradley, 2000), факторами, влияющими на способность молочной железы сопротивляться инфекции, являются полиморфноядерные нейтрофилы, но некоторые лейкоциты при этом могут быть слишком стары, чтобы быть максимально эффективными, особенно те, которые вступили в воспалительную реакцию первыми.

Когда же происходит большой выброс нейтрофилов в молочную железу, некоторые из них могут быть слишком незрелыми, чтобы быть максимально эффективными. Некоторые полиморфноядерные нейтрофилы будут заглатывать бактерии, но не убивать их, защищая, таким образом, от дальнейшего разрушения и обеспечивая источник хронической инфекции (А. А. Ганиев, 2003; В. М. Карташова, 1992; B. Kikkers, 2004; Д. Абдессемед, 2014).

Компоненты липидов молока и фракции летучих жирных кислот могут блокировать иммуноглобулиновые рецепторы (Fc-рецепторы) на лейкоцитах. Блокировка Fc-рецепторов может привести к дополнительному выбросу в железистую ткань гидролитических ферментов, осложняя воспаление в железистой ткани (Н. Н. Желавский, 2012; М. Г. Лебедева, 2003).

По данным А. С. Барковой (2012), Н. Т. Климова (2012), И. Г. Конопельцева (2005), кислород необходим для кислородзависимой микробоцидной системы, которая является частью фагоцитоза, но концентрация его в молоке низка (в 100 раз меньше, чем в крови). Поэтому фагоциты во время фагоцитоза используют большое количество энергии, глюкоза – ее первичный источник. В молоке концентрация глюкозы низкая, фагоциты не способны использовать лактозу (лейкоциты, найденные в молоке, содержат приблизительно на 38,0 % меньше

гликогена, чем найденные в крови) (В. В. Подберезный, 1994; В. И. Слободяник, 2009).

В то же время молоко относительно бедно опсонинами, такими как иммуноглобулины и комплемент (А. Н. Петров, 2000; В. И. Слободяник, 2009).

Молоко коровы имеет по существу низкую лизоцимную активность (лизоцим – антимикробный гидролитический фермент, найденный в высоких концентрациях в молоке других видов животных) (Н. В. Рогожина, 2012; Л.К. Семина, 2009; А. П. Солдатов, 1991).

Мастит могут вызвать многие патогены. У лактирующих коров нет специфических антител против патогенов (Н. П. Мещеряков, 2004; А. Н. Савостин, 1983; H. J. Andersen 2003). Некоторые бактерии сопротивляются перевариванию внутриклеточному Staphylococcus aureus. Это позволяет им жить в молочной железе, быть защищенными от механизмов иммунитета и реинфицировать лактирующее вымя.

По данным А. П. Студенцова (1949), Г. В. Зверевой (1979), Д. Д. Логвинова (1971) динамике развития мастита (патогенезу) присущи общие закономерности воспалительной реакции. Следовательно, воспаление молочной железы имеет комплекс местных признаков воспаления (гиперемия, припухлость, повышенная температура, болезненность, нарушение функции) или хотя бы отдельные из них. При мастите, как и при всяком воспалении, протекают следующие основные взаимосвязанные процессы: раздражение и повреждение тканей, местное расстройство кровообращения с процессами экссудации и эмиграции, выхода из сосудов лейкоцитов, фагоцитоз и пролиферация. Эти явления приводят к накоплению в поврежденных тканях молочной железы воспалительного экссудата и клеточного инфильтрата, по составу которых и определяют характер воспалительного процесса. По выраженности клинических признаков воспалительного процесса А.П. Студенцов (1949) предложил следующую классификацию маститов:

1. Серозный
2. Катаральный: а) катар цистерны и молочных ходов; б) катар альвеол
3. Фибринозный

4. Гнойный: а) гнойно-катаральный; б) абсцесс вымени; в) флегмона вымени

5. Геморрагический

6. Специфические: а) ящур вымени; б) актиномикоз вымени; в) туберкулез вымени

Осложнения маститов:

а) индурация вымени; б) гангрена вымени

В основу этой классификации положены следующие факторы:

- воспалительный процесс в молочной железе проявляется не только как местная реакция, но и как общая реакция всего организма;

- воспаление молочной железы вследствие инфекционных болезней (ящур, актиномикоз, туберкулез, оспа);

- возбудитель, морфологически принадлежащий к одному и тому же виду, в зависимости от патогенности и реактивности тканей молочной железы и организма в целом может вызвать разнообразные формы воспаления.

Течение маститов:

1. Острый.

2. Подострый.

3. Хронический.

Проявление заболевания:

1. Клинически выраженный.

2. Скрытый (субклинический).

Диагноз состояния вымени ставят по клиническим признакам или, когда они слабо выражены, путем сочетания клинического и лабораторного исследования (реакции с 5%-ным раствором ди-мастина, 2%-ным и 10%-иым растворами мастидина, пробой отстаивания и бактериологически). Такое комплексное исследование позволяет четко определить состояние молочной железы.

Серозный мастит. Серозное воспаление вымени характеризуется гиперемией, большим выпотом серозного экссудата и эмиграцией лейкоцитов,

преимущественно в междольковую ткань. Этот вид воспаления вымени развивается после травм, вследствие неправильного машинного доения, как осложнение застойного отека, при проникновении микробов через кожные покровы, гематогенным или лимфогенным путем из половых органов, желудочно-кишечного тракта. Возбудителями серозного мастита могут быть стрептококки, стафилококки, кишечная палочка и др. Острый мастит чаще развивается впервые дни послеродового периода при атонии матки с задержкой и разложением лохий, при воспалительных процессах эндометрия гнойного, фибринозного и дифтеритического характера. У 63 % таких коров микрофлора матки и вымени была идентичной (В.И. Рубцов, 1980).

В. И. Мутовин (1974) отмечает, что у коров подострые и хронические серозные и серозно-катаральные маститы обычно протекают с неясно выраженными клиническими признаками, поэтому он назвал их субклиническими или скрытыми. Таких маститов им выявлено около 80 %. Их обнаруживают с помощью лабораторных исследований молока.

Клинические признаки. Пораженная четверть увеличена, горячая на ощупь и болезненная. Отек может локализоваться преимущественно в какой-либо одной четверти вымени. Иногда он захватывает правую или левую половину вымени и редко все вымя.

Клинические признаки имеют много общего с застойным отеком, но отличаются от последнего сильной красноты кожи, повышением местной температуры и болезненностью. Кроме того, при отеке ткани молочной железы тестоваты, что легко установить ощупыванием, а при серозном мастите консистенция вымени каменистая, плотная. Нередко увеличиваются надвыменные лимфатические узлы.

У переболевших коров субклиническим маститом происходит снижение молочной продуктивности на 7-32% за лактацию (Л.К. Попов,1998). Подытоживая, можно заключить, что любые формы мастита (со скрытыми и клиническими признаками) неблагоприятно сказываются на качестве молока и

экономике хозяйства (А. П. Брылин, А.Б. Бойко, 2006; В. А. Бычкова, 2010; Т. Зимина, 2012; И. В. Коренник, 2010; А. Олейник, 2006).

Получение молочных продуктов высокого качества не может быть осуществлено без учета физиологического состояния животного и изменяющихся состава и свойств молока. Анормальным, считают молоко, полученное от коров с нарушениями состояния организма, при которых изменяется химический состав, биологические и технологические свойства и увеличивается число соматических клеток (М.С. Уманский, 2001). Воспалительные процессы характеризуются, прежде всего, резким увеличением в секрете соматических клеток, формирующихся из эпителиальных клеток (около 90%), лейкоцитов и лимфоцитов (около 8%) и макрофагов (около 1%) (А. Колчев, О. Симанович, 2010). По утверждению J.B. Coulon, увеличение содержания соматических клеток в молоке до 200000 тыс./см^3 уже приводит к уменьшению соотношения казеин : общий белок (J.B. Coulon, 1998). Содержание соматических клеток в молоке зависит от ряда факторов: взаимодействия животного с окружающей средой (его стрессоустойчивостью) (M.A. Brown, 2001; H. Castillo-Juarez, 2000).

В странах Евросоюза установлены общие требования к молоку по содержанию соматических клеток. Их количество должно быть до 300000 ед./см^3. Некоторые молочные заводы в Европе установили собственные стандарты, в соответствии с которыми количество соматических клеток составляет до 200000 и даже до 150000 ед/см^3 (М. Балодис, 2005; Г.П. Дегтерев, 2005). По количеству соматических клеток судят о состоянии здоровья животного и, соответственно, о качестве и технологических особенностях его молока. Свириденко Г.М. (2004) рассматривает границу риска как 3*10^5/1мл, так как уже в этом случае, по мнению автора, можно говорить о 10% примеси маститного молока. Раманаускас Р.И. (2001) указывает, что 10*10^5/1мл соматических клеток свидетельствует о выраженных изменениях химического состава молока. Содержание сухих веществ в нем снижается на 5-13%, в частности - за счет гликолиза (количество лактозы снижается на 10-20% и более). Так же, снижается содержание витаминов, жира на 5-12 %, фосфора и кальция на 20 % и 25 % соответственно, α- и β-

казеина, а количество γ-казеина и сывороточных белков возрастает. Вместе с тем повышается содержание, бактерий, энзимов, хлоридов, увеличивается хлор-сахарное число. Вследствие глубоких изменений химического состава молока его кислотность понижается до 12 - 15 °Т, pH увеличивается до 6,83 - 7,19, плотность снижается до 1024-1025 кг/м^3, появляется солено-горький вкус, хлопья и тянущиеся субстанции.

Выявлено, что в анормальном молоке преобладают жировые шарики с диаметром 2 мкм, тогда как в молоке здоровых коров – с диаметром 4-5 мкм. Кроме того, жировые шарики имеют тенденцию агрегироваться (М.С. Уманский, 2001). Безусловно, столь значительные изменения жировой фракции молока определяют нецелесообразность использования его для сепарирования и производства высокожирных продуктов: сметаны, масла сливочного и пр.

В анормальном молоке за счет большого количества энзимов, повышена их активность. В частности, в сыром молоке, полученном от здоровых животных, активность каталазы - фермента, не продуцируемого молочнокислой микрофлорой - составляет 4-16 Е, в молозиве - 50-94 Е, в стародойном молоке - 37-50 Е, в маститном - 62 Е и более (К.Д. Буткус, 1977). Поэтому хранение молока с содержанием соматических клеток должно быть строго ограничено.

Молоко коров больных маститом меняется в зависимости от степени заболевания. При субклиническом мастите снижается количество сухих веществ, жира, молочного сахара, витаминов, кальция, содержания казеина, а количество сывороточных белков возрастает. В молоке повышается содержание лейкоцитов и других соматических клеток, бактерий, ферментов, хлоридов, кислотность понижается до 12 – 15 °Т, повышается электропроводимость. Выраженное маститное молоко имеет пониженную концентрацию ионов водорода (pH 6,83 – 7,19) и кислотность (8 – 12 °Т). Химический состав его изменяется: количество казеина, сухих веществ, лактозы, кальция, жира понижается, а альбумина, глобулина, хлоридов - повышается. Вследствие этого оно значительно медленнее свертывается сычужным ферментом, сгусток получается неплотным, дряблым, сыворотка плохо отделяется. Зерно мягкое, трудно поддается обсушке, долго не

принимает нужной формы. Замедляется в нем и развитие молочнокислых бактерий. Приготовленный из него сыр имеет горький вкус и грубую консистенцию (Н.Т. Васильев, 1966).

1.3 Молекулярно-генетические маркеры в селекции крупного рогатого скота

Молоко является самым полноценным продуктом питания. Питательные свойства молока обусловлены его химическим составом и высокой степенью переваримости (на 95…98%) всех органических веществ. В состав молока входит большое количество весьма сложных по химической структуре компонентов, многие из которых природа не повторила ни в одном из продуктов.

В состав молока входят белки, липиды, углеводы, витамины, макро- и микроэлементы, и другие соединения. В среднем в молоке коров содержится 87,5 % воды, 12,5 % сухих веществ, 3,6 % жира, 3,2 % белка, 4,9 % лактозы и 0,7 % минеральных веществ. По современным научным данным, в молоке сосредоточено свыше 200 ценнейших компонентов: 20 благоприятно сбалансированных аминокислот; много (более 40) жирных кислот; молочный сахар – лактоза; богатый ассортимент минеральных веществ; микроэлементы; все виды витаминов, известные в настоящее время; другие вещества, необходимые организму для поддержания нормальной жизнедеятельности. В наибольшем количестве в молоке содержатся углеводы, жиры, белки и минеральные соли. Витамины, ферменты, микроэлементы, гормоны, иммунные тела и другие вещества, содержащиеся в очень малых количествах, обладают высокой биологической активностью и роль их в питании человека огромна. (А. Тепел, 1979; Н.Данилов, 2003).

На состав и качество молока влияют как генетические, так и зоотехнические факторы: порода животного, возраст и стадия лактации, условия кормления и содержания, состояние здоровья и др. Под влиянием этих факторов меняются не только физико-химические показатели, но и технологические

свойства молока. Иногда влияние факторов становится настолько значительным, что молоко становится непригодным к переработке (А.Ю. Золотин, В.П. Тищенко, Е.В. Малышева, 2003; Т.В. Малафеева, 2003; К.К. Горбатова, 2004; В.В. Рогожин, 2006; И.В. Коренник, 2010).

Основное значение молока в том, что оно дает полноценный белок животного происхождения. Биологическую роль молочного белка трудно переоценить. В нем содержится полноценный набор незаменимых аминокислот, которые не образуются в организме человека и должны поступать с пищей. По количеству незаменимых аминокислот молоко превосходит другие продукты питания (А.А. Снопова, 1986).

Белки молока, как и все другие белковые вещества, представляют собой высокомолекулярные азотистые соединения. В их состав входят: углерод – 50,6…54,5; кислород – 21,5…23,5; водород – 6,5…7,3; азот – 15,0…17,6; сера – 0,3…2,5 %. Несмотря на один и тот же элементарный состав, белки молока различаются между собой не только в количественном отношении, но и по ряду физико-химических и других свойств (А.Г. Тараненко, 1986).

Одним из важнейших свойств белков молока является то, что они содержатся в растворенном и взвешенном состоянии, легко атакуются и перевариваются протеолитическими ферментами пищеварительного тракта. Образующиеся в результате расщепления белков аминокислоты идут на построение клеток организма, ферментов, защитных тел, гормонов и т.д. (З.Х. Диланян,1979).

Белки молока состоят из сывороточного белка и казеина. В молоке содержится в среднем 3,2% белка, с колебаниями от 2 до 5%. Основную массу белков молока составляют казеины. На их долю приходится 75-85% общего белка (А. Тёпел, 1979; Р.А. Хаертдинов, 1990; М.П. Афанасьев, 1996; К.Ф. Сайфутдинов, 1998; Г.М. Закирова, 2002; М.М. Харисов, 2003; И.Н. Камалдинов, 2013).

В молоке, казеин находится в виде специфических частиц, или мицелл, представляющих собой сложные комплексы фракций казеина с коллоидным

фосфатом кальция (К.К. Горбатова, 2004). Частицы казеина имеют приблизительно сферическую форму и полидисперсны (П.Ф. Дьяченко, 1974).

Среди пищевых белков казеины имеют наибольшую ценность, так как в их составе содержится полный набор незаменимых аминокислот, а также кальций и фтор (D. Waugh, 1958). Казеин придаёт молоку белый цвет и натуральность, обладает рядом особенностей, обуславливающих его практическое применение. Под действием сычужного фермента, кислот и солей он коагулирует, образуя плотный, сладкий на вкус сгусток и сыворотку. Эта особенность используется при переработке молока на сыр и творог. Особенно ценным в сыроделии считается молоко с высоким содержанием казеина и мицеллами большого диаметра.

Мицеллы состоят из сотен субмицелл, связанных друг с другом гидрофобными взаимодействиями и кальций-фосфатными связями. Благодаря образованию мицелл достигается высокая концентрация Ca и P и аминокислот в малом объёме и легко усвояемой форме. Казеиновый комплекс состоит из агломерата основных фракций: α_{s1} –, β –, k – казеинов. Казеины подразделяются на чувствительные к Ca^{2+} (α_{s1} – , β – Cn) и нечувствительные к нему (к – Cn). На долю кальцийчувствительных казеинов приходится 45 % всего казеина молока (А.М. Машуров, 1980). Казеины играют ведущую роль в процессе связывания и последующего транспорта ионов Ca^{2+} (A. Fiat, P. Jolles, 1989).

Классическая классификация белков молока основана на данных о различной чувствительности их к изменению водородных ионов кальция, а также их осаждаемости с помощью солей.

В настоящее время для фракционирования белков молока используется преимущественно метод электрофореза на соответствующих носителях как крахмал, агароза, полиакриламид и др. (Г. Маурер, 1971), который отличается высокой разрешающей способностью и позволяет выявить более 20 различных белковых компонентов в молоке. (А. Тёпел, 1979; Р.А. Хаертдинов, А.М. Гатауллин, 2000).

Фракции казеина синтезируются в клетках молочной железы, имеют генетические варианты, являются фосфопротеидами, а к-казеин принадлежит к

гликофосфопротеидам; α_{s1}-, α_{s2} и β-казеины чувствительны к ионам кальция, к-казеин не чувствителен, но осаждается сычужным ферментом (К.К. Горбатова, 2004).

После осаждения казеина в сыворотке остаётся 0,6% белков, которые называются сывороточными. Они состоят из β-лактоглобулина, α-лактальбумина, иммуноглобулинов, альбумина сыворотки крови, компонентов протеозо-пептонной фракции и других белков (К.К. Горбатова, 2001). Установлено, что сывороточные белки содержат больше незаменимых аминокислот и серы, чем казеин, и с точки зрения физиологии питания более полноценны. По этой причине, а также по физическим свойствам белки сыворотки имеют исключительную ценность при производстве молочных смесей для питания человека. При нагревании до 90°С сывороточные белки денатурируют и при подкислении до pH 4,6 вместе с казеином выпадают в осадок (А. Тёпел, 1979).

Гены казеинов у крупного рогатого скота локализованы в регионе q31- 33 шестой хромосомы. Они образуют кластер из четырех тесно связанных генов, расположенных в следующей последовательности: αS1, β, αS2 и к. Длина всего кластера – 250 т. н.п. (Ferretti L. et al., 1990; Threadgill D.W. and Womack J.E., 1990; Rijnkels M. et al. 1997; А.В. Кузнецов, 2011). На рисунке 2 представлена общая геномная организация казеинов крупного рогатого скота (Martin P. et al., 2002).

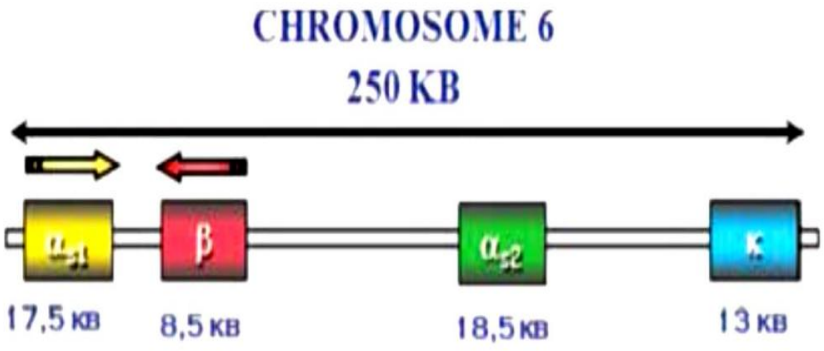


Рисунок 2 - Общая геномная организация казеинов крупного рогатого скота (Martin P. et al., 2002)

Три гена, кодирующих кальций чувствительные казеины αS1, β, αS2, возникли из общего гена путем внутри – и межгенной дупликации, перемещения экзонов и разделения общих регуляторных последовательностей в 5` фланкирующей области (Jones W.K. et al., 1985; Groenen M.A.et al., 1992, 1993). Ген каппа-казеина эволюционно не относится к этим генам и отличается в организации 5` фланкирующей области (Alexander L.J. et al., 1988).

α_{s0}-Казеин (α_{s0}-Cn). Наиболее высокой электрофоретической подвижностью из казеиновых фракций отличается αs_0-казеин. Считалось, что α_{s0}-казеин является не подлинной фракцией, а фрагментом α_{s1}-казеина (W. Manson., et al., 1977). Это утверждение было сделано на основании идентичности рисунка α_{s0}-казеина и α_{s1}-казеина, а также сходству по наличию фосфатной группы на сериновом остатке 41. Поэтому длительное время α_{s0}-казеин изучался в составе α_{s1}-казеина. Впервые абсолютное содержание α_{s0}-казеина, как самостоятельной фракции, в молоке коров разных пород определено Р.А. Хаертдиновым (1992), а затем М.П. Афанасьевым (1996), К.Ф. Сайфутдиновым (1998), Г.М. Закировой (2002), Р.Р. Исламовым (2007), А.Р. Мухаметшина (2009), Д.В. Башаевой (2010).

α_{s1}-Казеин. В структуре полипептидной цепи молекулы α_{s1}-казеина содержится 199 аминокислотных остатков с молекулярной массой 23616 (J.C. Mercier, 1971). Известна и аминокислотная последовательность α_{s1}-казеина (F. Grosclaude, 1976).

Содержание α_{s1}-казеина в молоке коров разных пород составляет 0,85-0,95 г/100 мл (D.M. Mc Lean, 1984; K.F. Ng-Kwai-Hang, 1984.; Р.А. Хаертдинов, 1992). По сообщениям отечественных учёных доля α_{s1}-фракции относительно общего казеина составляет 46 %, а по данным зарубежных авторов - около 50 %.

В настоящее время описано 6 молекулярных форм α_{s1}-казеина, обозначенных в порядке уменьшения их электрофоретической подвижности как A, B, C, D, E, F.

Установлено, что генетические варианты α_{s1}-казеина оказывают влияние на технологические свойства молока. Животные, обладающие в локусе α_{s1}-казеина А-аллелью, дают молоко низкой сыропригодности. Наличие В-аллеля

положительно влияет на скорость свёртывания молока под действием сычужного фермента (D.M. Mc Lean, 1984). Присутствие в генотипе коров С-аллеля улучшает сыродельческие свойства молока (E. Jakob, 1994). Вариант С α_{s1}-казеина обеспечивает получение более плотного сгустка по сравнению с вариантом В. Сочетание в генотипе В и С аллелей увеличивает выход сыра (D. Samarzija, 1992).

К.Ф. Сайфутдинов (1998) в своей работе отметил, что относительное содержание главной α_{s1}-казеиновой фракции оказывает незначительное влияние на технологические свойства молока. По данным М.П. Афанасьева (1996) при низком уровне α_{s1}-казеина наблюдалась устойчивая тенденция повышения выхода плотной казеиновой массы.

α_{s2}-Казеин. Молекула α_{s2}-казеина состоит из 207 аминокислотных остатков. Существуют несколько аллельных форм α_{s2}-казеина – A, B, C и D. α_{s2}-Казеин по электрофоретической подвижности распологается после α_{s1}-казеина (F. Grosclaude, 1978). Содержание этой фракции казеина в молоке коров разных пород составляет 0,32-0,35 г/100 мл.

β-Казеин - вторая по величине фракция казеина в молоке. По массе белка она уступает лишь α_{s1}-казеину. В полипептидной цепи молекулы β-казеина насчитывается 209 аминокислотных остатков, из которых пять принадлежат фосфосерину. Молекулярная масса составляет 23982. Встречаются несколько молекулярных форм β-казеина (A_1, A_2, A_3, B, C, D, E), которые различаются по аминокислотному составу и электрофоретической подвижности (R.F. Peterson, 1966). В настоящее время известно 11 вариантов β-казеина.

Установлено, что В-аллель β-казеина благоприятно влияет на сыродельческие свойства молока (M. Rampilli, 1988; P.S. Tong, 1994). Аллель-С β-казеина также предпочтима для выработки сыра. Молоко, содержащее β-казеин типа ВВ, более термоустойчиво по сравнению с молоком, где имеется АА тип.

М.П. Афанасьевым (1996) было установлено, что В-аллель β-казеина обладает самостоятельным положительным влиянием на сыродельческие свойства молока и усиливает аналогичное действие В-аллеля κ-казеина. Он же установил устойчивую

тенденцию повышения выхода плотной массы при низком уровне β-казеина, а К.Ф. Сайфутдинов (1998) при низком и среднем уровнях данного белка.

Абсолютное содержание β-казеина в молоке коров разных пород изучено в исследованиях разных авторов. Оно составило 0,7-1,0 г/100 мл.

Таблица 1 - Биологически активные пептиды, полученные из β-казеина

Физиологическая функция пептидов	Фрагмент	Последовательность аминокислот в пептидах
Сердечно-сосудистая система		
Гипохолестеринемическая	99-101	Val-Pro-Pro
Нервная система		
Опиоидная	60-70	Tur-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-IIe-Pro-Asn-Ser-Leu
	60-66	Tur-Pro-Phe-Pro-Glu-Pro-IIe
	60-64	Tur-Pro-Phe-Pro-Gly
Пищеварительная система		
Стимулирование и усвоение минеральных веществ	1-25	Arg-Glu-Leu -Glu-Glu-Leu-Asn-Val-Pro-Gly-Glu-IIe-Val-Glu-Ser(P)-Leu-Ser(P)Ser(P)- Ser(P)-Glu-Glu-Ser-IIe-Thr-Arg
Антимикробная	28-29	Lys-Lys
Иммунная система		
Иммуномоделирующая активность	169-175	Lys-Val-Leu-Pro-Val-Pro-Gln
	63-68	Pro-Gly-Pro-IIe-Pro-Asn
	191-193	Leu-Leu-Tyr

Выдеяемые из β-казеина пептиды демонстрируют иммуномоделирующие свойства, антимикробную, минералсвязывающую и опиоидную активность. Примеры биологически активных пептидов, полученных из β-казеина, проведены в таблице 1 (S. Bouhallab, 2004).

κ-Казеин. Молекула κ-казеина содержит в полипептидной цепи 169 аминокислотных остатков. Фрагмент с 1 по 105 аминокислоты этой цепи назван пара-κ-казеином, а фрагмент с 106 по 169 - гликомакропептидом или казеинмакропептидом. Молекулярная масса макропептидной части составляет 6754, а парапептидной – 12269 (J.H Woychik, 1966; C. Hill, 1972).

κ-Казеин не осаждается ионами кальция и в казеиновых мицеллах, распологаясь на поверхности, выполняет защитную роль по отношению к чувствительным α_s- и β-

казеину. к-Казеин представляет собой единственный компонент молока, на который действует сычужный фермент. Он содержит чувствительную к сычужному ферменту пептидную связь, образованную остатками фенилаланина и метионина (К.К. Горбатова, 2004). к-Казеин, в отличии от α_{s1}- и β-казеинов, является гликопротеидом и содержит около 5 % углеводов. Присутствие углеводов частично обеспечивает способность к-казеина стабилизировать мицеллы казеина в молоке и повышает растворимость этого белка в солевых растворах, в частности, в растворе Са. Поэтому, роль к-казеина в мицеллообразовании чрезвычайно велика. В полипептидных цепях казеинов существуют зоны повышенной полярности и строго гидрофобные зоны, что имеет большое значение для образования устойчивого конформационного состояния казеиновых мицелл. Диаметр казеиновой мицеллы в среднем составляет 100 нм и колеблется от 40 до 300 нм (А. Г. Тараненко, 1986.).

Предполагается, что к-казеин располагается на поверхности мицелл в виде выступающих цепей и стабилизирует мицеллу, как целое (N.A. Bringe, 1987).

При ферментативном расщеплении к-казеина образуются биологически активные пептиды, действие которых подобно механизму действия гормонов (A. Fiat, 1989; H. Chiba, 1989). Под действием сычужного фермента молекула к-казеина распадается на 2 части: гидрофобный пара-казеин и гидрофильный макропептид. При этом гликомакропротеиды отщепляются от к-казеина и переходят в сыворотку (К.К. Горбатова, 2001). Таким образом, стабилизирующие свойства к-казеина теряются и он коагулирует. В первую очередь сычужный фермент расщепляет к-казеин, разрывая, по-видимому, не пептидную, а фосфатидную связь.

Существуют четыре аллельных формы к-казеина - А, В, С и Е. Молоко, содержащее В-вариант, по сравнению с А-вариантом к-казеина быстрее свёртывается под воздействием сычужного фермента, даёт сгусток лучшего качества и увеличивает выход сыра (G. Damiani, 1990; R. Vegarud, 1990; H.O. Gravert, 1991; M. Ron, 1992). По способности стабилизировать мицеллы казеина к-казеин-В более эффективен, чем его А-вариант. Влияние к-казеина-Е на

сыродельческие свойства молока очень сходное с вариантом А. Наличие В-аллеля к-казеина повышает температурную устойчивость молока, тогда как А-аллель снижает данное технологическое свойство.

к-Казеин – одна из фракций казеина, уровень которого оказывает существенное влияние на технологические свойства молока. Так, в исследованиях проведённых М.П. Афанасьевым (1996) во всех группах коров при высоком содержании к-казеина продолжительность образования сырной массы уменьшилась на 1,8-8,2 мин., чем при среднем и низком его содержании. Высокий уровень к-казеина в молоке способствовал также увеличению выхода отличной сырной массы. К.Ф. Сайфутдинов (1998) обнаружил хорошую свёртываемость молока под действием сычужного фермента при среднем содержании к-казеина (K.F. Ng-Kwai-Hang, 1984; K. Walawski, 1994).

Абсолютное содержание к-казеина в молоке коров составляет (0,22-0,34 г/100 мл).

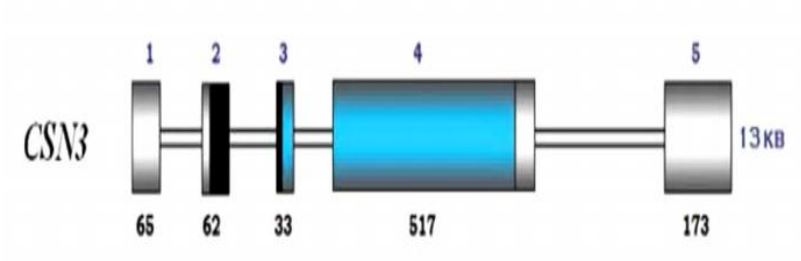


Рисунок 3 - Структура гена каппа-казеина. Открытые полосы - интроны. Экзоны, обозначенные серым цветом - 5' и 3' не транслируемые последовательности; черным цветом – части экзонов, кодирующие сигнальный пептид; синим – части экзонов, кодирующие зрелый пептид. Размер экзонов дается в парах оснований (Martin P. et all., 2002)

Ген каппа-казеина (анг. kappa-casein gene (CSN3)) наиболее изучен отечественными и зарубежными учеными (Капелинская Т.В., 1989; Кириленко С.Д., 1995; Глазко В.И., 2012; Кийко Е.И., 2009; Graml R., 1988; Alexsander L.J., 1988). Локус каппа-казеина относится к синтенной группе 30 U15 и расположен на шестой хромосоме. Размер гена составляет 13,5 т.п.н. (здесь и далее п.н. – пар

нуклеотидов, анг. base pair, b.p.) и состоит из 5 экзонов общей длиной 850 п.н. и 4 интронов (Галлямова А., 2008; Alexander L.J., 1988; Mercier J.C. et al., 1972; Taha F., 1993; Ciampolini R. et al., 1995). Следует отметить, что большая часть белок-кодирующей последовательности находится в одном большом экзоне IV, кодирующем функционально важный участок белка, расщепление которого приводит к разрушению мицеллярной структуры казеинового комплекса и створаживанию молока (Bringe N.A.,1987).

Генотип каппа-казеина у животного наследуется по законам Менделя по типу кодоминирования и служит пожизненным маркером, практически не зависящим от изменения внешней среды и состояния организма (Зиновьева Н.А., 2010). На сегодняшний день описано 13 аллелей каппа-казеина: A, B, C, D, E, F, G, Az, H, X, I, A(l), J (Калашникова Л.А. и др., 2003; Ельчанинов В.В., 2008; Erhardt G., 1998; Soria L.A., 2003).

Наиболее часто у крупного рогатого скота распространены А и В аллельные варианты каппа-казеина (CSN3) (Nelin J.M., 1964; Pipalia D.L., 2001; Schmidt D.G., 1964; Woychik J.H., 1965). Варианты аллелей А и В каппа-казеина различаются двумя аминокислотными заменами в 136' (треонин (Thr)→изолейцин (Iso)) и 148' (аспартат (Asp)→аланин (Ala)) положениях полипептидной цепи и вызваны соответствующими точечными мутациями в позициях 5309 (C→T) и 5345 (A→C) в нуклеотидной последовательности гена (Grosclaude F. et al., 1972).

γ-Казеин – выпадает в осадок при концентрации раствора мочевины 1,7-3,3 М и pH 4,7 после добавления сульфата аммония. На фореграмме γ-казеин располагается после κ-казеина. γ-Казеин входит в группу казеинов с малым содержанием белка и является фрагментом β-казеина. γ-Казеин образуется в результате расщепления β-казеина под действием протеолитических ферментов молока. Образование γ-казеина ухудшает технологические свойства молока, так как при выработке сыра и творога они не свёртываются сычужным ферментом и “теряется” с сывороткой (К.К. Горбатова, 2004). Поэтому в сыроделии особенно

ценным является молоко с наименьшим количеством γ-фракции (Н.В. Баробанщиков, 1990).

γ-Казеин по сравнению с другими фракциями казеина содержит много фосфора (0,11%) и серы. В локусе γ-казеина выявлены две аллельные формы γ-Cn A и γ-Cn B (Е.К. Меркурьева, 1977).

Доля γ-казеина в молоке коров небольшая - около 5% от общего белка. В качестве самостоятельной фракции γ-казеин изучали немногие авторы. В их исследованиях абсолютное содержание этой фракции составило – 0,07- 0,24 г/100 мл.

s-Казеин - TS (термочувствительный) также является фрагментом β-казеина.Содержание s-фракции в молоке коров разных пород определено только несколькими авторами (М.П. Афанасьев, 1996; К.Ф. Сайфутдинов, 1998.; Г.М. Закирова,2002). По их данным в молоке коров на долю s-казеина приходится 0,075-0,120 г/100 мл.

Белки молочной сыворотки. Белки молочной сыворотки лактальбумин и лактоглобулин, как оказалось, представляют собой комплекс белков. Из них были выделены несколько белковых фракций вначале методом осаждения в изоэлектрической точке, позже методом электрофореза в крахмальном и полиакриламидном гелях.

A.Palmer (1934) из лактальбумина выделил бета-лактоглобулин, который составил 50-60 % от всей альбуминовой фракции. Автор показал, что β-лактоглобулин выкристаллизовывается при диализе концентрированного раствора лактоальбумина при pH 5,2, а под действием сернокислого аммония из оставшегося после кристаллизации маточного раствора выпадает в осадок альбумин крови (Al) и α-лактальбумин.

Диализ лактоальбуминовой фракции приводит к разделению её на две части – эвглобулин (истинный глобулин) и псевдоглобулин (ложный глобулин). Первая часть представляет из себя осадок, а вторая – коллоидный раствор белка. Общее название этих глобулинов – иммуноглобулины. Иммуноглобулины являются носителями иммунологических свойств и антител в молоке.

Электрофорез в крахмальном или полиакриламидном гелях позволяет дифференцировать все вышеперечисленные белковые фракции (S. Kaminski, 1994; E.H. Reimerdes, 1978).

β-Лактоглобулин, α-лактальбумин и иммуноглобулины выполняют важные биологические функции и имеют большое значение в производстве продуктов питания. Из сыворотки их выделяют в нативном состоянии с помощью ультрафильтрации и применяют для обогащения различных пищевых продуктов.

β-Лактоглобулин (β-Lg) представляет собой очень ценный компонент молока, необходимый для роста и развития молодняка (А. Тепел, 1979). Предполагают, что β-лактоглобулин участвует в транспорте ряда веществ, например витамина А, а также является ингибитором плазмина. В сыром молоке β-лактоглобулин находится в виде димера, состоящего из двух полипептидных цепей с молекулярной массой 18000 каждая. Молекула β-лактоглобулина содержит 162 аминокислотных остатка (G. Frank, 1967).

В настоящее время известно 11 аллелей β-лактоглобулина, обозначенных как A, B, C, D, E, F, G, H, X, Dr и W. Вариант B считается основным (А.М. Машуров, 1980). Генетические варианты β-лактоглобулина могут влиять на способность молока образовывать сгусток. Некоторые исследователи сообщили, что молоко содержащее BB тип β-Lg, по сравнению с AA типом, характеризуется более коротким временем образования сгустка и большей его плотности (P. Mariani, 1982; J. Liberatori 1990). Другие авторы получили противоположные результаты (M. Rampilli, 1988; H.L. Tervala, 1985).

K.R. Kristiansen (1990) сообщил о более высокой термоустойчивости молока с β-Lg BB, по сравнению β-Lg AA. В противоположность этому утверждению G. Berg et al. (1990) заявили о лучшей устойчивости молока к температурному воздействию с β-Lg AA, и уменьшения этой способности в следующей последовательности AA>AB>BB.

Хорошо изучено, что в течение теплового воздействия на молоко, к-казеин и β-лактоглобулин объединяются в комплекс (W.H. Sawyer, 1969). Взаимная

реакция генетических вариантов этих белков в молоке и термоустойчивость образцов с различными полиморфными состояниями κ-Cn / β-Lg были изучены в нескольких исследованиях. Mc. Kenzie et al. (1971) изучили скорость реакции β-Lg A и B с κ-казеином в буферном растворе при pH 6,6 и температуре 74°C и заключили, что κ-казеин связывается крепче с β-Lg B, нежели с β-Lg A. Была установлена более прочная структура комплекса β-Lg / κ-Cn для β-Lg B, чем β-Lg A (E. Parnell-Clunies, 1988). Однако, колориметрические исследования Y. Ma et al. (1990), в отношении влияния на системы содержащие все возможные комбинации A и B вариантов β-Lg и κ-Cn в присутствии кальция хлорида, показали, что комбинации β-Lg B / κ-Cn A и β-Lg AB / κ-Cn типа A образуют более стойкие системы в отношении теплового воздействия.

По данным Р.А. Хаертдинова (1992), М.П. Афанасьева (1996), К.Ф. Сайфутдинова (1998), Г.М. Закировой (2002), Н.Н. Мухаметгалиев (2006), Р.Р. Исламова (2007), Д.В. Башаевой (2010) на долю β-лактоглобулина приходится 10,2 % общего белка а его абсолютное содержание в молоке коров в зависимости от породы колеблется от 0,25 до 0,40 г/100 мл.

β – Лактоглобулин участвует в передаче пассивного иммунитета от матери новорожденному, регуляции метаболизма фосфора, обмене жиров и транспорте ретинола, обладает антивирусной активностью и др (L.F. Sutton, B. Alston-Mills, 2006). Благодаря признанной высокой биологической ценности этот белок рассматривают в качестве ингридиента в рецептурах продуктов питания функциональной направленности.

Пищевые белки, являясь источником биологически активных пептидов, способны опосредованно играть в организме специфическую биологическую роль. В процессе естественной обработки белков в пищеварительном тракте в ходе ферментативногогидролиза пептиды высвобождаются из структуры белков и начинают действовать как самостоятельные регуляторные единицы, способные проявлять активность, сходную с гормональной. Активность биологически активных пептидов связана с составом и последовательностью аминокислот.

Размер активного участка белковой молекулы может варьировать от 2 до 20 аминокислотных остатков.

Пептиды Лактоглобулина, полученные путем лимитированного гидролиза ферментами ЖКТ (трипсином, химотрипсином, пепсином, панкреатином), обладают иммуномодуляторным и антимикробным действием. Фрагменты, получвемые гидролизом лактоглобулина алкалазой, пепсином или трипсином, обладают бактериостатической активностью в отношении *E.coli, Bacillus и Staphylococcus aureus*. Протеолиз лактоглобулина трипсином приводил к высвобождению из структуры белка четырех пептидов (f 15-20, f 25-40, f 78-83, f 92-100) с бактерицидной активностью в отношении грамположительных бактерий. На проявление бактериостатических свойств гидролизатами Лактоглобулина в существенной мере влияют их заряд влияют их заряд и гидрофобность. Отрицательно заряженные пептиды обладают слабым антимикробным действием против грамотрицательных бактерий, чьи мембраны содержат отрицательно заряженный липополисахарид (G.A. Biziulevicius, et al., 2006). Некоторые короткоцепочные пептиды (менее 5 кДа) эффективны в отношении стимуляции пролифераи иммунных клеток (A. Mercler, S.F. Gauthler, I. Fliss, 2004).

Ген β-LGB крупного рогатого скота находится в 11 хромосоме, состоит из 7 экзонов и 6 интронов (Martin P. et al., 2002). Структура гена приведена на рис. 4.

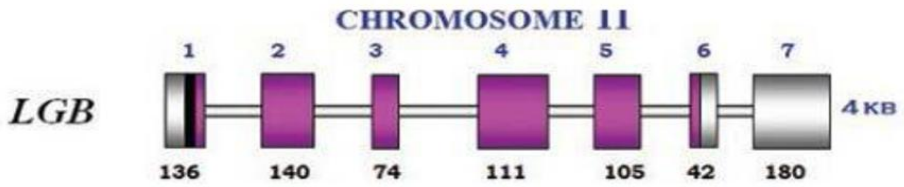


Рисунок 4 - Структура гена β-LGB крупного рогатого скота. Интроны представлены открытыми полосами. Серым цветом обозначены - 5' и 3' не транслируемые последовательности экзона; черным цветом – часть экзона, кодирующая сигнальный пептид; сиреневым – части экзонов, кодирующие зрелый пептид. (Martin P. et al., 2002)

Полиморфизм гена β - лактоглобулина был обнаружен в 1957 году (Aschaffenburg R., Drewry J., 1957), у рода Bos (Bos taurus, Bos javanicus and Bos grunniens) известно 14 генетических вариантов β-Lg – A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, W и три неунифицированных по номенклатуре варианта X14712, EU883598 и M19088. Возникновение полиморфизма связано с нуклеотидными заменами, которые находятся во 2 экзоне у вариантов C, D, F, W; в 3 экзоне – у вариантов A, H, X14712, EU883598 и M19088; в 4 экзоне – у вариантов A, G, H, I, X14712, EU883598 и M19088; в 5 экзоне у F и J; в 6 – E, F, G (Caroli A. et al., 2009). Ген бета-лактоглобулина (β-Lg) отвечает за белковомолочность и показатель биологической ценности молока (Хабибрахманова Я.М., 2009). Вариант β-Lg B связан с высоким содержанием в молоке казеиновых белков, высоким процентом жира, а вариант β-Lg A характеризуется высоким содержанием сывороточных белков. Вариант – B, бета-лактоглобулина может быть принят как основной, поскольку он является наиболее частым у большинства пород. Генетические различия между ним и другим распространенным вариантом - A заключаются в наличии двух аминокислотных замещений: 64 Гли→Асп и 118 Ала→Вал. (Ахметов и др 2010).

α-Лактальбумин (α-La). α-Лактальбумин имеет молекулярную массу около 14000, его молекула представляет собой одну полипептидную цепь, состоящую из 123 аминокислотных остатков. Выяснено, что он является специфическим белком, необходимым для синтеза лактозы из галактозы и глюкозы (К.К. Горбатова, 2004).

α-Лактальбумин имеет три полиморфных состояния - A, B и C (M. Baranyi, 1993). Однако, полиморфизм обнаруживается только у зебувидного скота и некоторых других пород (Е.К. Меркурьева, 1977; Ф. Гроклод, 1979).

α-Лактальбумин устойчив к нагреванию, он является самой термостабильной частью сывороточных белков. Он полностью теряет растворимость при нагревании молока до 96°C и выдерживании при этой температуре в течение 30 минут (К.К. Горбатова, 2004). При нагревании сывороточных белков выше 70°C, α-лактальбумин не денатурирует при pH >7, но быстро изменяет свою структуру в кислой среде.

Альбумин крови (Al), протеозо-пептон (Pp), иммуноглобулин (Ig). В научной литературе вопрос содержания в молоке коров альбумина, протеозо-пептонной фракции и иммуноглобулина мало освещён. По данным А.Тёпела (1979) на долю этих сывороточных белков приходится соответственно 1,0; 4,0 и 2,25 %, а по Р.А. Хаертдинову (1992), М.П. Афанасьеву (1996) и К.Ф. Сайфутдинову (1998) – 1,57; 1,5 и 3,0 %. Таким образом, результаты по содержанию протеозо-пептонной фракции значительно расходятся. Возможно, это объясняется различной методикой определения данной фракции. Первый автор проводил исследования, используя метод осаждения, а последние – электрофоретический метод, который является более точным. По этой методике, абсолютное содержание этих белков составило 0,048-0,057; 0,05-0,06; 0,08-0,10 г/100 мл.

В результате применения более тонких аналитических методов иммуноглобулины были подразделены на IgG, IgM, IgA, IgD, и IgE с дальнейшим делением на подклассы. Основным иммуноглобулином коровьего молока является IgG_1, хотя естественные антитела к грамотрицательным бактериям, таким как E.coli, связаны с IgM. Кроме того, в молозиве имеется в намного меньших количествах секреторный IgA, который, как полагают, синтезируется в тканях вымени, а не переходит из кровотока. Различные компоненты иммуноглобулинов в молозиве встречаются в следующих количествах: IgA – 4,4, IgG_1 – 75, IgG_2 – 1,9, IgM – 4,9 г/л (Д.Х. Рой, 1982).

В молозиве коров содержание иммуноглобулинов достигает своего максимального значения. Н. Шульга и др. (2005) выявили значительное колебание уровня иммуноглобулинов в сыворотке молозива в зависимости от времени прошедшего после отела. По их данным, максимальное количество иммунноглобулинов (54,2 %) содержалось в молозиве первого удоя, затем уровень иммуноглобулинов постепенно уменьшался. Так, в течение первых суток после отела снижение к уровню в молозиве первого удоя составляло 11,8 %, на вторые сутки – 17,7 %, на третьи – 33,2 % и достигало уровня иммуноглобулинов содержащегося в молоке. Исследованиями Г.Н. Левина и др. (2005) установлен уровень иммуноглобулинов равный 128,48 г/л.

Кроме перечисленных белков сыворотки в её составе присутствуют белки, обозначенные как “другие”, обладающие ферментативными и гормональными свойствами. К ним относятся белки, являющиеся структурными элементами оболочек жировых шариков и способствующие их стабильности во время технологической обработки. Это, как правило, гликопротеиды молекулярной массой от 15000 до 240000, содержащие 15-50 % углеводов и характеризующиеся различной растворимостью в воде. Их относительная доля в структуре общего белка около 1,62 %, а абсолютное содержание 0,049-0,067 г/100 мл это подвердили и Р.А. Хаертдинов (1992); М.П. Афанасьев (1996); К.Ф. Сайфутдинов (1998).

В последние годы в практику селекции молочного скота наряду с электрофорезом белков широко внедряется ДНК-технологии генотипирования животных по конкретным генам, положительно коррелируюмым с продуктивными признаками.

При оценке животных по ДНК - генотипу применяется метод ПЦР - ПДРФ анализа, так как он имеет высокую чувствительность, точность, быстроту и простоту выполнения (Е.А. Арнаут, 2008). Использование метода генетического маркерирования при разведении животных имеет ряд преимуществ перед традиционными методами селекции. Маркер направленная селекция делает возможным провидения отбора животных в раннем возрасте, независимо от пола и внешних условий, что в конечном итоге повышает эффективность селекции. Определение генотипа методами молекулярной генетики способствует идентификации и быстрому введению предпочтительных аллелей из ресурсных популяций в популяции реципиентов с целью повышения продуктивности и устойчивости к заболеваниям улучшаемых пород животных (И.А. Смазнова, 2014).

На роль генов устойчивости крупного рогатого скота к маститам претендуют целый спектр генов-кандидатов. Среди них особое место занимают гены лактоферина, гормона роста и пролактина, а также гены основных белков молока (лактоглобулинов, лактальбуминов и казеинов).

Лактоферрин молока (LTF) принадлежит к семейству белков-трансферринов, осуществляющих перенос железа в клетки и контролирующих

уровень свободного железа в крови и во внешних секретах (B. Johansson, 1960). Ген LTF локализован на 22q 24 хромосомы, состоит из 17 экзонов и полная последовательность гена 34,5 тыс. п. н. Лактоферрин относят к системе врожденного иммунитета, существуют данные о том, что лактоферрин опосредованно вовлечен в процессы клеточного иммунитета.

Главной биологической функцией белка является связывание и транспорт ионов железа, однако лактоферрин кроме того обладает антибактериальной, антивирусной, антипаразитарной, различными каталитическими активностями, а также противораковым, антиаллергическим, иммуномодулирующим действиями и радиопротективными свойствами. Поэтому считается, что основная функция лактоферрина – это защита молочной железы (A. Sharilzaden; A. Doosti, 2011).

Наиболее изученным является механизм антибактериальной активности лактоферрина. Антибактериальные свойства белка обусловлены способностью лактоферрина, связывать железо и тем самым лишать бактериальную микрофлору необходимого для её роста и жизнедеятельности микроэлемента. Бактерицидные свойства белка также обусловлены наличием специфических лактоферриновых рецепторов на клеточной поверхности микроорганизмов. Показано, что лактоферрин связывает липополисахариды (ЛПС) бактериальных стенок, а входящая в состав белка окисленная форма железа инициирует их перекисное окисление. Это приводит к изменению мембранной проницаемости и последующему лизису клеток (S. Farnaud, R.W. Evans, 2003).

Все вышеперечисленные механизмы антибактериального действия лактоферрина напрямую зависят от железосвязывающих свойств белка. Вместе с тем в основе антиинфекционной активности лактоферрина могут лежать и другие механизмы, не зависящие от способности белка связывать ионы железа, например стимулирующее действие лактоферрина на фагоцитоз и влияние на активность комплемента (M. Xanthou, 1998).

Наиболее изученным механизмом антибактериального действия белка, не зависящим от его железосвязывающей способности, является специфическое взаимодействие лактоферрина с наружной бактериальной мембраной, которое

приводит к гибели клеток бактерий (E.W. Odell, R. Sarra, et al., 1996). Авторами было показано, что белок разрушает бактериальную мембрану и даже проникает внутрь клетки. За специфическое связывание с бактериальной стенкой ответственен лактоферрицин — пептид, расположенный на N-конце молекулы лактоферрина и получаемый *in vitro* протеолитическим расщеплением белка трипсином (H. Kuwata, T.T. Yip, 1998;H.T. Sojar, N Hamada et al., 1998).

Исследованиями ряда ученых установлена частота генетических вариантов АА, ВВ и АВ лактоферрина у коров голштинской породы, 32,5, 10 и 57,5 % соответственно. Авторы рекомендуют использовать генетические варианты лактоферрина в качестве ДНК - маркера для прогнозирования содержания соматических клеток в молоке и заболеваемости маститом, аллель А гена LTF связана с заболеваемостью маститом у коров (M. Schwerin, S. S. Toldo, A. Eggen, R. et al., 1994).

Гормона роста (GH, соматотропин) – продуцируется передней долей гипофиза и является одним из важнейших регуляторов соматического роста животных, обладающий, в том числе лактогенным, инсулиноподобным, диабетогенным, жиромобилизующим и нейротропным действием (Р. Эккерт, 1991; В.Н. Балацкий, 1998.).

Регуляторная функция соматотропного гормона реализуется не только в прямом действии на органы-мишени, клетки которых имеют специальные рецепторы на плазматических мембранах, но и в модифицирующем, "пермиссивном" влиянии на эффекты других гормонов и биологически активных соединений (Л.А. Калашникова, 1999.). Молекулы гормона роста у разных видов животных насчитывают от 190 до 199 аминокислотных остатков (D. Wood, 1989; И.Ю. Долматова, 2011).

Синтез соматотропина крупного рогатого скота контролируется геном, локализованном в 19 хромосоме, состоящим из пяти экзонов и четырех интронов, имеющим размер порядка 2 тыс. п. о. (R. Hediger, 1990). В гене GH было идентифицировано несколько мутаций. Наиболее изучена взаимосвязь продуктивности с мутацией в пятом экзоне. Данная мутация представляет собой

CG трансверсию в нуклеотидной последовательности, приводящей к замене аминокислоты лейцин на валин в 127 позиции белка (M.C. Lucy, 1993). Эта мутация приводит к образованию двух аллелей: L-GH и V-GH, определяемых с помощью эндонуклеазы рестрикции Alu I (P. Schlee, 1994; В.А. Балацкий, 1998; Я.А. Хабибрахманова, Л.А. Калашникова, 2008; A. Lagziel, E. Lipkin, E. Ezra. et al., 1990; B.K. Lee, G.F. Lin, B.A. Crooker et al., 1993).

Другая мутация локализована в третьем интроне этого гена и приводит к возникновению дополнительного сайта для рестриктазы MspI (C.M. Cowan, et al., 1989; A. Mitra, et al., 1995).

В работе, проведённой M.C. Lucy et al. (1993) на животных голштинской, швицкой, гернзейской, джерсейской и айрширской пород скота было установлено следующее распределение частот L и V аллелей: 1,0 и 0 для швицкой, 0,93 и 007 для голштинской, 0,92 и 0,08 для гернзейской, 0,79 и 0,21 для айрширской, 0,56 и 0,44 для джерсейской, соответственно. При этом животные гомозиготные по V-аллелю имели более высокую молочную продуктивность, хотя по процентному содержанию белка и жира в молоке коров разных генотипов различий не наблюдалось.

Исследования, проведённые на коровах словацкой пятнистой породы (N. Moravčikova et al., 2012) было показано следующее распределение частот генотипов: VV – 0,094, LV – 0,425 и LL – 0,481. Результаты анализа ассоциаций между AluI-полиморфизмом и признаками молочной продуктивности коров (удой (кг), выход молочного белка и жира (кг)) показали, что животные с генотипами LL и LV продуцировали больше молока по сравнению с животными с генотипом VV. Выход белка и жира был выше у коров с гетерозиготным генотипом LV. Хотя статистически достоверных различий не было выявлено. (N. Moravčikova, 2012.).

В исследованиях проведённых российскими учёными (И.Ю. Долматова и И.Г. Ильясов, 2011) по изучению AluI-полиморфизма гена bGH на чёрно-пёстрой, бестужевской и симментальской породах скота были выявлены следующие частоты аллелей V и L: 0,28 и 0,72, 0,62 и 0,38, 0,44 и 0,56, соответственно. Анализ ассоциаций генотипов с величиной надоев показал, что у симментальской породы самыми большими надоями характеризуются коровы с генотипами VV

(P<0,001), а у чёрно-пёстрой породы животные с генотипами LV (P<0,001, P<0,01). Самый низкий показатель надоев у всех трех изученных пород отмечен в группе животных с генотипами LL. По содержанию молочного жира в чёрно-пёстрой и бестужевской породах превосходство имели животные с гетерозиготным генотипом LV (P<0,001), в то время как в симментальской превосходство по этому показателю имели коровы с гомозиготным генотипом VV (P<0,001). При исследовании И.В. Лазебной с соавторами (2012) генетической структуры ярославского скота было установлено следующее распределение частот генотипов: VV – 0,159, LV – 0,558 и LL – 0,283. Авторами работы с использованием метода дисперсионного анализа были выявлены достоверные ассоциации между комплексными генотипами генов гормона роста (RsaI-маркер) и пролактина (AluI-маркер) с процентным содержанием в молоке белка и жира. Согласно их данным животные с генотипом ABVV (P<0,008) характеризовались высоким процентным содержанием жира и низким – белка. Противоположная зависимость наблюдалась у особей с генотипом ABLL (P=0,008). Этим же коллективом авторов был разработан и запатентован «Способ определения генетического потенциала крупного рогатого скота по качеству молока».

Учитывая, что ген bGH играет важную роль в стимуляции роста, в литературе встречаются работы по изучению ассоциаций данного полиморфизма с живой массой молодняка. Так, в исследованиях, проведённых P. Schlee et al. (1994) на животных симментальской породы, было установлено, что быки с генотипами LV статистически превосходили сверстников с генотипами LL и VV по живой массе (P<0,01). В работе R. Grochowska et al. (2001) быки польской фризской породы с генотипом LL имели большую живую массу (P<0,05), чем быки с генотипом VV, а животные с гетерозиготным генотипом LV обладали промежуточными показателями. Таким образом, ген bGH, без сомнения, является QTL и может использоваться в качестве генетического маркера для прогнозирования продуктивности крупного рогатого скота.

Пролактин (PRL, лактогенный гормон, маммотропин, лютеотропный гормон) – один из самых универсальных гормонов гипофиза с точки зрения его

биологической активности. В настоящее время установлено более 100 разнообразных физиологических функций этого гормона (N. Ben-Jonathan, l996; C. Bole-Feysot, 1998).

Он участвует в дифференцировке эпителиальных клеток молочной железы, инициации и поддержании лактации у млекопитающих, регуляции синтеза молочных белков и жиров лактозы и других основных компонентов молока (R.M. Akers, 1981; E. Le Provost, 1994). Эксперименты по удалению гена пролактина доказали его роль в развитии молочной железы, образовании молока и экспрессии генов молочных белков (N.D. Horseman, 1997). Таким образом, ген пролактина является потенциальным генетическим маркером признаков молочной продуктивности.

Пролактин является полипептидным гормоном, секретируемым главным образом передней долей гипофиза (C. Bole-Feysot et al., 1998). Гормон пролактина состоит из 199 аминокислот (M. Wallis, 1974). Его ген (bPRL) расположен в области q21 23-й хромосомы и состоит, как и ген (bGH) из пяти экзонов и четырёх интронов, имеет размер около10 тыс. п.н. (N.E. Cooke N.E. et al., 1981; S. Camper, et al., 1984 ; P. Brym, S. Kaminski, E. Wojcik, 2005) рис. 5).

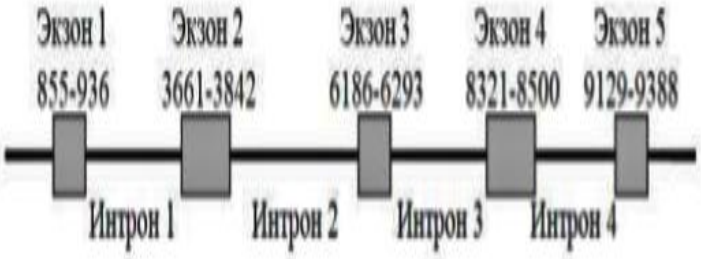


Рисунок 5 - Экзон-интронная структура гена bPRL (S.A. Camper et al., 1984). Цифрами обозначены размеры экзонов в п.н. (пар нуклеотидов).

Установлено, что ген bPRL тесно сцеплен с генами класса I и класса II главного комплекса гистосовместимости (A. Xu, 1991; A.B. Dietz, M. Georges, 1992). Наиболее тесное сцепление отмечено между генами bPRL и BoLA- DRB3 (A.B. Dietz et al., 1992; H.A. Lewin, 1992; M.J. Van Eijk, 1995).

На основании анализа последовательности кДНК гена bPRL четырёх различных клонов (N.L. Sasavage, 1982) было установлено семь возможных нуклеотидных замен. Одной из них является описанная H.A. Lewin с соавт. (1992) "молчащая" A→G замена в экзоне III гена, возникающая в кодоне для 103 аминокислоты и приводящая к появлению полиморфного RsaI-сайта. Этими же авторами впервые показано влияние данной замены на такие показатели молочной продуктивности коров как величина удоя, процентное содержание белка и жира в молоке. Позднее было подтверждено это влияние на показатели молочной продуктивности и другим автором (E.R. Chung, 1996).

Распределение частот генотипов и аллелей по RsaI-полиморфизму гена bPRL у КРС изучалось многими исследователями. В работе A. Dybus et al. (2005), проведённой на животных чёрно-пёстрой и джерсейской пород, было установлено, что в чёрно-пёстрой породе преобладал аллель A (85,33%), в то время в джерсейской породе преобладал аллель B (69,19%). Такое различие частот аллельных вариантов определило и различия в распределениях генотипов у этих пород. Так, в чёрно-пёстрой породе частота генотипа AA составила 71,07%, генотипа BB – 0,42%, в джерсейской – 9,19% и 47,57%, соответственно. (A. Dybus, 2005). I.V. Lazebnaya et al. (2013) установили у таких аборигенных российских пород, как якутская, ярославская, бестужевская и костромская, частоты генотипов bPRL-RsaI. Так частота генотипа AA для этих пород составила 0,561, 0,425, 0,474, 0,556, генотипа AB – 0,341, 0,442, 0,421, 0,387, генотипа BB – 0,098, 0,133, 0,105, 0,056, соответственно. При этом частота аллеля A (0,646-0,750) во всех четырёх породах превосходила частоту аллеля B (0,250-0,354) в среднем в 2-2,5 раза. В голштинской породе частота аллеля A, по данным М.Е. Михайловой и Е.В. Белой (2011) находилась на уровне 89,0%, по данным P. Chrenek et al. (1998) – 95,0%.

Участвуя в инициации и поддержании лактации у млекопитающих, пролактин может служить потенциальным генетическим маркером молочной продуктивности, а как следствие и дополнительным критерием отбора при селекции (М.Е. Михайлова, Е.В. Белая, 2011; P. Chrenek, 1998).

Проведенный обзор научной литературы позволяет сформулировать следующие основные направления наших исследований:

1. Из обзора следует, что мастит коров является наиболее распространенным заболеванием и наносит большой экономический ущерб молочному скотоводству. Ветеринарные мероприятия по профилактике и лечению мастита не всегда высокоэффективны, следовательно, необходимо разработать селекционные методы, обеспечивающие наследственную устойчивость к этому заболеванию.

2. Обзор показал, что в этом направлении весьма перспективны исследования по поиску молкулярно-генетических механизмов, обеспечивающих данную устойчивость. В обзоре приведены материалы, доказывающие, что основные белки молока, их фрагменты (пептиды) и некоторые гормоны, ферменты, присутствующие в нем, обладают антимикробным действием, тем самым профилактируют мастит, а определенные генотипы этих белковых веществ создают врожденный иммунитет к данному заболеванию. Поэтому в нашей работе предусмотрено проведение аналогичных исследований в отношении татарстанского типа скота.

3. Татарстанский тип молочного скота является новой породной группой, которая исследована недостаточно полно в плане заболевания коров маститом. Наша работа восполняет имеющиеся пробел в этом вопросе.

2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

2.1 Материалы 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 им. Н.Э. Баумана» и племенном заводе «Бирюли», где исследовали 92 коровы татарстанского типа, из них 57 головы здоровых, 35 – больных разными формами мастита. У коров в молоке определяли количество соматических клеток, содержание 19 белковых фракций, устанавливали генотип животных по 6-и локусам белков: β - , к – казеинам, β – лактоглобулину, лактоферрину, пролактину и соматотропину.

Для исследования пробы молока брали из суточного удоя полновозрастных коров, находящихся на 3-4 месяцах лактации. У больных маститом коров молоко 2-3 раза сцеживали предварительно прежде чем взять пробу. Пробы молока помещали в пластиковые баночки объемом 100 мл и пронумеровывали. соответственно инвентарным номерам коров и хранили в холодильнике при +4ºС. Молоко консервировали 20% - ным раствором тиомерсала, конечная концентрация которого в молоке составила 0,003%. Такие пробы молока для электрофореза были пригодны в течении 15 суток.

Кровь для ПЦР – ПДРФ анализа генотипа коров по лактоферрину, пролактину и соматотропину брали из подхвостовой вены в объеме 5 мл в вакуумные пробирки с сухим ЭДТ8 КЗ (ООО «ГЕМ», Россия). ДНК у 25 животных выделяли из 200 мкл цельной крови с использованием набора реагентов, из них 12 коров были здоровыми, 13 – больными маститом.

Объем проведенных исследований проведен в таблице 2. Всего исследовано 180 проб молока, 75 – крови. Основные направления и результаты исследований изображены на рисунке 6.

Таблица 2 – Объем проведенных исследований

Группа животных	Порода	Объект исследования	Состояние здоровья	Белок	Число проб
Коровы, n=92	Татарстан-ский тип	Молоко	Здоровые	β-Казеин	27
				к-Казеин	27
				β- Лакто-глобулин	27
			Больные	β-Казеин	33
				к-Казеин	33
				β- Лакто-глобулин	33
		Кровь	Здоровые	Лакто-феррин	12
				Пролактин	12
				Сомато-тропин	12
			Больные	Лакто-феррин	13
				Пролактин	13
				Сомато-тропин	13
Всего					255

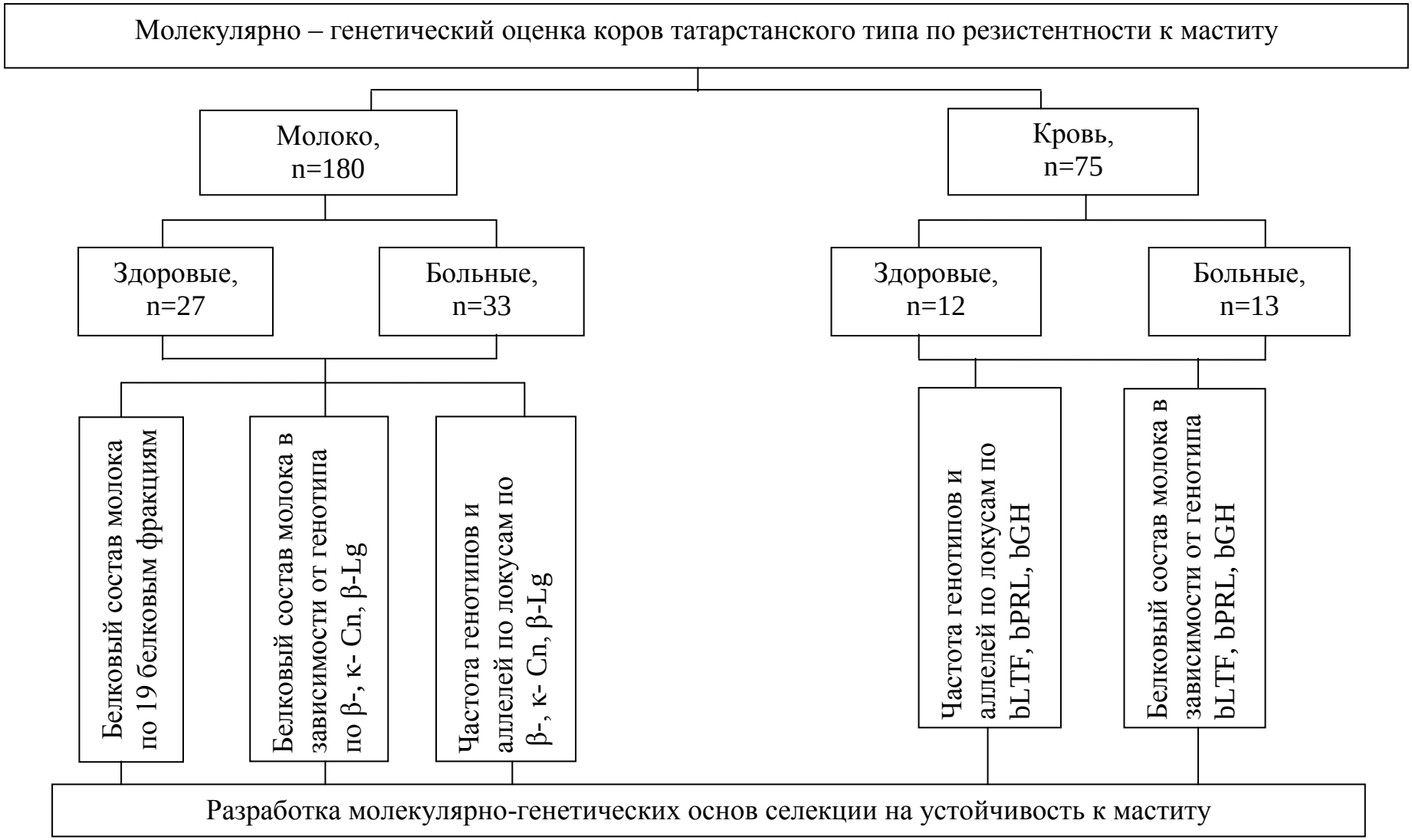


Рисунок 6 – Схема основных направлений и результатов проведенных исследований

Исследование молока на содержание соматических клеток

Количество соматических клеток в анализируемом сыром молоке определяли визуальным методом по действующему стандарту ГОСТ 23453-2014 «Молоко сырое. Методы определения соматических клеток».

Метод основан на воздействии сульфанола (поверхностно-активного вещества, входящего в состав препарата "Мастоприм") на клеточную оболочку соматических клеток, приводящем к нарушению ее целостности и выходу содержимого клеток во внешнюю среду. При этом изменяется вязкость (консистенция) сырого молока, что оценивают визуально.

Подготовка к анализу

Для приготовления водного раствора препарата «Мастоприм» массовой концентрацией 25 г/дм.2,5 г препарата вносят в мерную колбу или цилиндр вместимостью 100 см и доливают до метки дистиллированной водой (или питьевой свежекипяченой водой), нагретой до температуры 30-35 °С. Раствор перед применением взбалтывают до равномерного распределения осадка. Срок годности раствора - 1 сутки при температуре хранения 10-30 °С.

Проведение анализа

1. В луночку пластинки ПМК – 1 добавляют 1 см водного раствора препарата "Мастоприм". Молоко с препаратом интенсивно перемешивают деревянной, пластмассовой или стеклянной палочкой в течение 10 с. Полученную смесь из луночки пластинки при непрерывном интенсивном перемешивании поднимают палочкой вверх на 50-70 мм, после чего в течение не более 60 сек. оценивают результаты анализа. Для достоверности данных, молоко положительно реагирующее, проверяют пробой отстаивания. Пробы молока, ставят на 16-18 часов в холодное место (в холодильник, при температуре от +4 до 10°С), чтобы молоко не прокисло. Реакцию читают на второй день у источника света. Исследуют: цвет молока, наличие осадка, толщину и характер слоя сливок. Молоко от здоровой коровы белого или слегка синеватого цвета, осадок не образуется. Молоко от больной коровы - водянистое, консистенция сливок

изменена (тягучие, слизистые, хлопьевидные). Главный признак - наличие осадка высотой 1 мм и более. Слой сливок толщиной более 1,5 см - нет мастита, слой менее 5 мм - есть мастит.

Таблица 3 – Оценка молока визуальным методом

Характеристика консистенции молока	Количество соматических клеток в 1 см молока
Однородная жидкость или слабый сгусток, который слегка тянется за палочкой в виде нити	До 500 тыс
Выраженный сгусток, при перемешивании которого хорошо видна выемка на дне луночки пластинки. Сгусток не выбрасывается из луночки	От 500 тыс. до 1 млн.
Плотный сгусток, который выбрасывается палочкой из луночки пластинки	Св. 1 млн.

2. Нижний предел точности визуального метода – 500 тыс. соматических клеток в 1 см сырого молока, что соответствует международно признанной границе физиологической нормы и свидетельствует об отсутствии или незначительной примеси (до 6%) маститного молока в сборном. Для определения в сыром молоке меньшего количества соматических клеток и получения конкретных числовых значений необходимо применять инструментальные методы.

Качественный и количественный анализ белков молока методом электрофореза в полиакриламидном геле

В молоке определяли содержание общего белка, казеина, белка сыворотки и их 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, β - лактоглобулина (β-Lg), α - лактальбумина (α-La), альбумина сыворотки крови (Al), протеозо-пептонной фракции (Pp), 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. Электрофорез белков молока проводили в системе геля №1 по Г. Мауреру (1971) с модификацией Р.А. Хаертдинова (1989) применительно к белкам молока (табл. 4). Для электрофоретического анализа белков использовали обезжиренное молоко. В центрифужные пробирки наливали 10 мл молока. Центрифугировали его в течение 5 минут при 1000 об/мин. Затем шприцем отбирали обезжиренное молоко и переливали его во флаконы на 15 мл. На флаконы наклеивали лейкопластырь с номером пробы.

Получение казеинов и сыворотки осуществляли по Р.А. Хаертдинову (1989), для чего в центрифужные пробирки наливали 5 мл обезжиренного молока и в них казеины осаждали подкислением молока с помощью 0,25 мл ацетатного буферного раствора (25 мл уксусной кислоты, 35 г трехводного уксуснокислого натрия, 100 мл воды, pH 4,6). Смесь перемешивали и до полного осаждения казеинов оставляли в водяной бане при 38-40ºС на 30 мин. Затем смесь центрифугировали 20 минут при 8000 об/мин. Сыворотку сливали в другую посуду, а осажденные казеины, растворяли в буфере, состоящем из 86 мл уксусной и 25 мл муравьиной кислот, 4,5 М мочевины и 1 л воды, pH 3,0. Буфер доливали до прежнего объема молока. В таком же растворе готовили стандартный образец из казеинов по Гаммерстену в концентрации 2,5 г на 100 мл. Его перемешивали до полного растворения казеинов.

Разделение казеина на фракции проводили методом электрофореза с добавлением в гель 9 М мочевины и 2-меркаптоэтанола. Идентификацию фракций казеина осуществляли по Р.А. Хаертдинову (2009; рис. 7).

Для разделения белков молочной сыворотки использовали ту же систему геля № 1, что и казеинов, но без мочевины и 2-меркаптоэтанола. Идентификацию белковых фракций в сыворотке молока проводили согласно сообщению E.H. Reimerdes, H.A. Mehrens (1978; рис. 8).

Количество белка во фракциях определяли путем сравнения со стандартными образцами (казеинами по Гаммерстену). По стандартным образцам вычисляли коэффициенты перевода условных единиц (мг бумаги под пиками соответствующих фракций). Для этого содержание белков в стандартном образце делили на массу бумаги под пиками всех фракций белка этого образца (рисунки 9 и 10). Далее массу бумаги под пиками соответствующей фракции белка в исследуемых образцах умножали на переводной коэффициент и получали содержание белка в г/100 мл. Суммируя содержание белка во фракциях, находили общее количество казеинов, белков сыворотки и общего белка в исследуемой пробе молока.

Относительное содержание белковых фракций определяли, как процентное соотношение белка в исследуемой фракции к общему белку в молоке.

Оценку и статистическую обработку данных проводили на персональном компьютере по формулам и алгоритмам, приводимым в хорошо известных руководствах Н.А. Плохинского (1970), П.Ф. Рокицкого (1974), с использованием программы EXCEL-2016. При этом вычисляли общеизвестные биометрические велечины, как средняя арифметическая (M), ошибка средней арифметической (m), среднее квадратическое отклонение (σ), коэффициент вариации (Cv), критерий достоверности (t), достоверность (P).

Таблица 4 – Система геля для электрофореза казеинов при pH 8,9

Система геля	pH		Раствор геля								Электродный буферный раствор		Полюса	
			разделяющего				концентрирующего							
	концен-триро-вание	разде-ление	№	составные части на 100 мл раствора	pH	соотношение растворов в смеси	№	составные части на 100 мл раствора	pH	соотношение растворов в смеси	составные части на 100 мл раствора	pH	верх-ний	ниж ний
pH 8,9 7,5% (средне-пори-стый)	8,3	9,5	1	1н HCl 48,0 мл Трис 36,6г ТЕМЕД 0,5мл	8,9	1 часть №1 2 части №2 1 часть H_2O 4 части №3 0,1% 2-меркап-тоэтанола	4	1М H_3PO_4 – 25,6 мл Трис 5,7 г ТЕМЕД 1,0 мл	6,9	1 часть №4 2 части № 5 5частей №3 0,1% 2-меркап-тоэтанола	Трис 6,0 г Глицин 28,8 г Исполь-зуют 10% водный раствор	8,3	-	+
			2	Акриламид 30,0 г МБА 1,0 г			5	Акриламид 15,0 г МБА 2,5 г						
			3	ПСА 0,28г 9М мочевина										

Принятые сокращения: трис (оксиметил) аминометан; ПСА – персульфат аммония $(NH_4)_2S_2O_8$; ТЕМЕД – N,N,N',N' – тетраметилэтилендиамид; МБА – NN – метиленбисакриламид

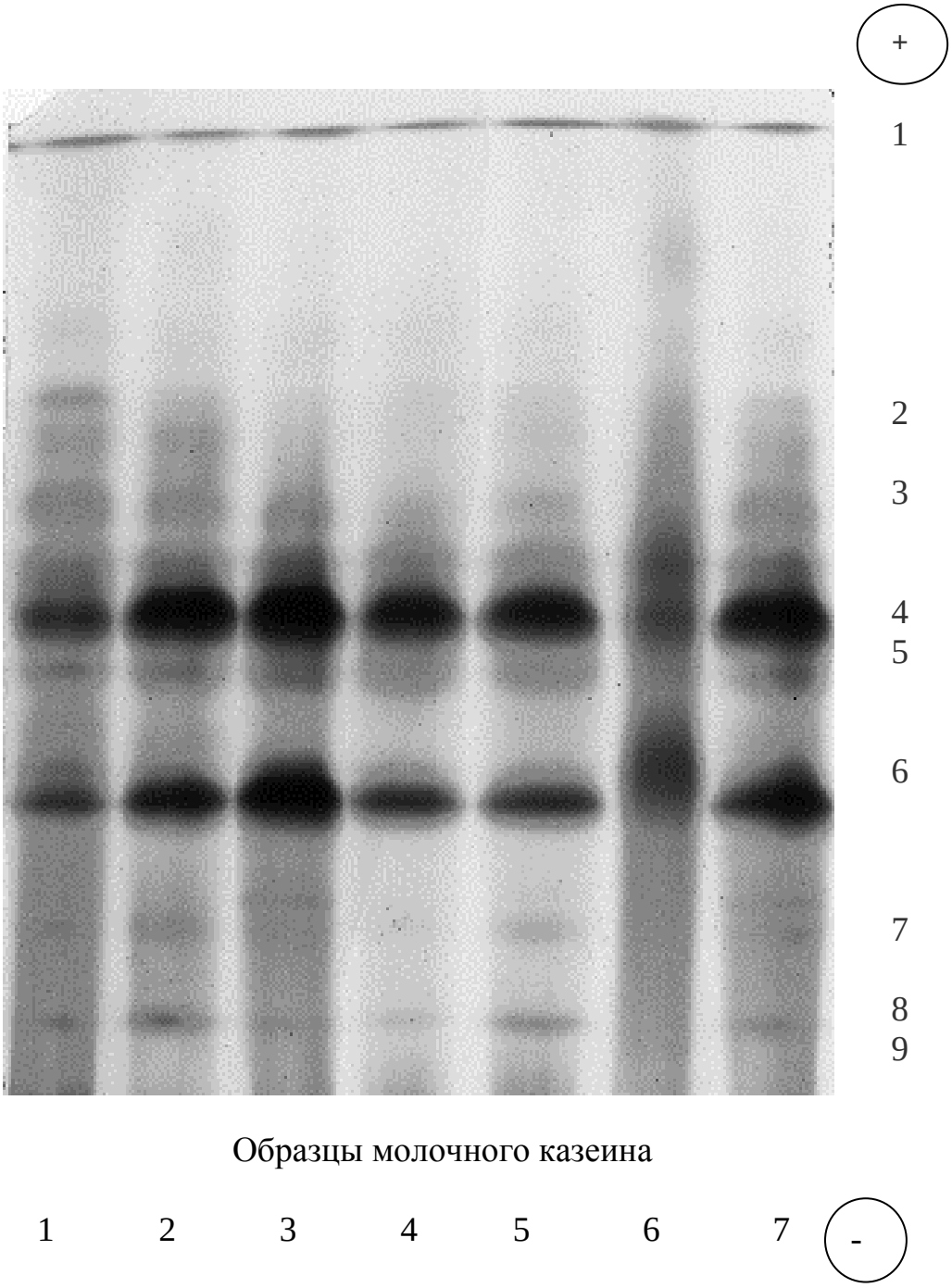
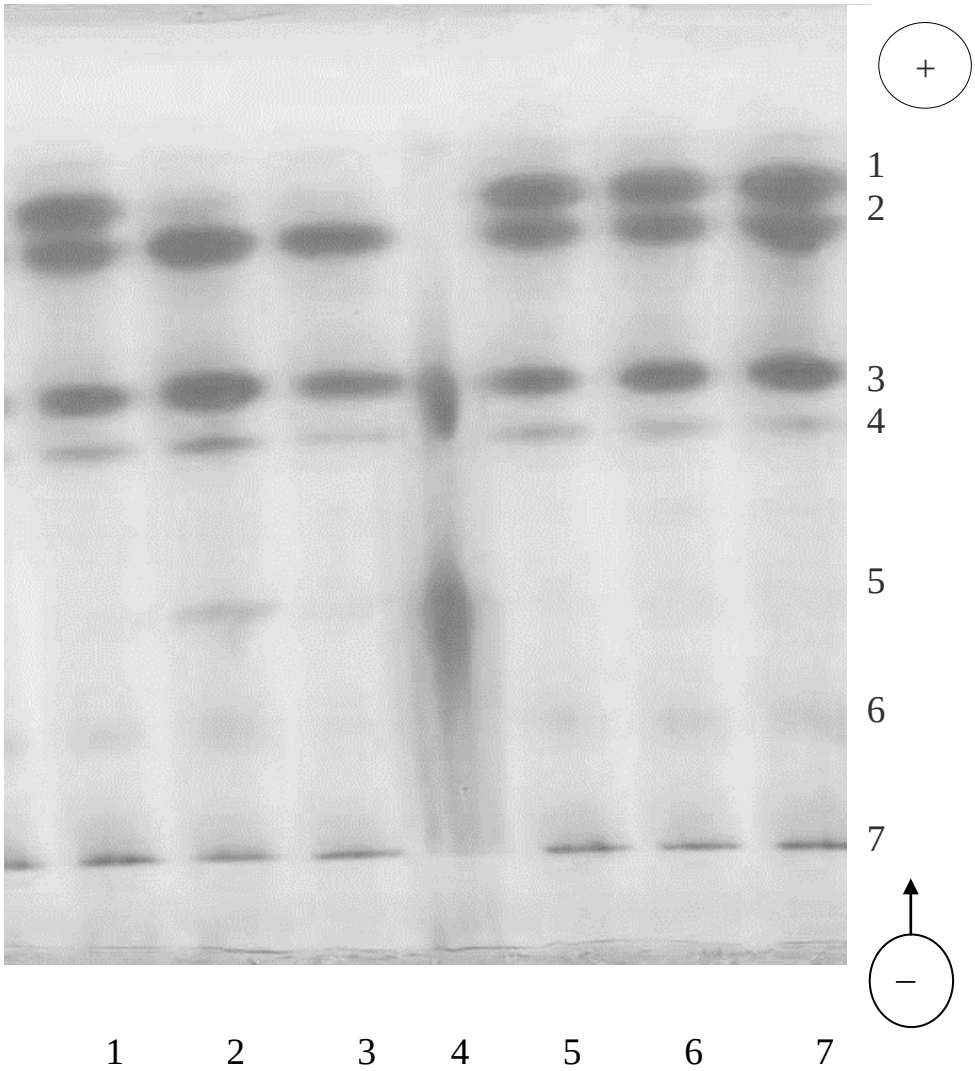


Рисунок 7 – Фореграмма казеинов молока после электрофореза в 7,5 %-м полиакриламидном геле, pH 8,9

Справа указаны фракции казеина: 1 – F, 2 – α_s', 3 – α_{s0}, 4 – α_{s1}, 5 – α_{s2}, 6 – β, 7 – κ, 8 – γ, 9 – s. По горизонтали: 1, 2, 3, 4, 5, 7 – образцы "сырого" казеина у индивидуальных коров; 6 – стандартный образец – казеин по Гаммерстену в концентрации 2,5 г сухого казеина в 100 мл раствора.



Образцы молочной сыворотки

Рисунок 8 – Фореграмма белков молочной сыворотки после электрофореза в 7,5 %-м полиакриламидном геле, pH 8,9

Справа указаны белковые фракции молочной сыворотки. 1 – F-фракция, 2 – β-лактоглобулин, 3 – α-лактальбумин, 4 – альбумин сыворотки крови, 5 – прочие, 6 – протеозо-пептонная фракция, 7 – иммуноглобулин. По горизонтали: 1, 2, 3, 5, 6, 7 – образцы молочной сыворотки у индивидуальных коров с генотипами по β – лактоглобулину АВ, ВВ, ВВ, АВ, АВ, АВ; 4 – стандартный образец – казеин по Гаммерстену в концентрации 0,75 г сухого казеина в 100 мл раствора.

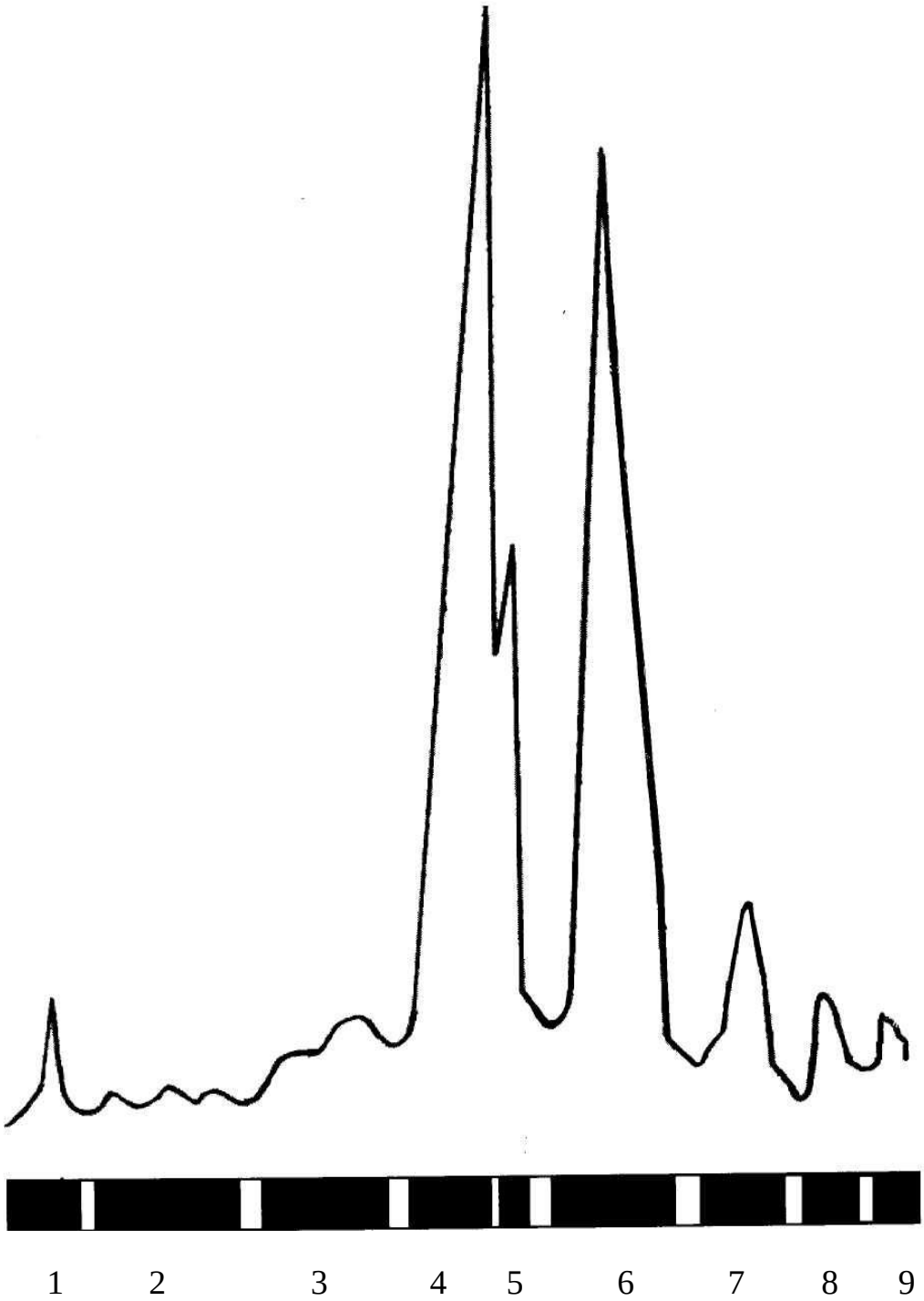


Рисунок 9- Денситограмма казеинов молока после электрофореза в 7,5 % полиакриламидном геле, pH 8,9

1 – F - казеин, 2 – α_s' - казеин, 3 – α_{s0} - казеин, 4 – α_{s1} - казеин, 5 – α_{s2} - казеин, 6 – β-казеин, 7 – к - казеин, 8 – γ-казеин, 9 – s - казеин.

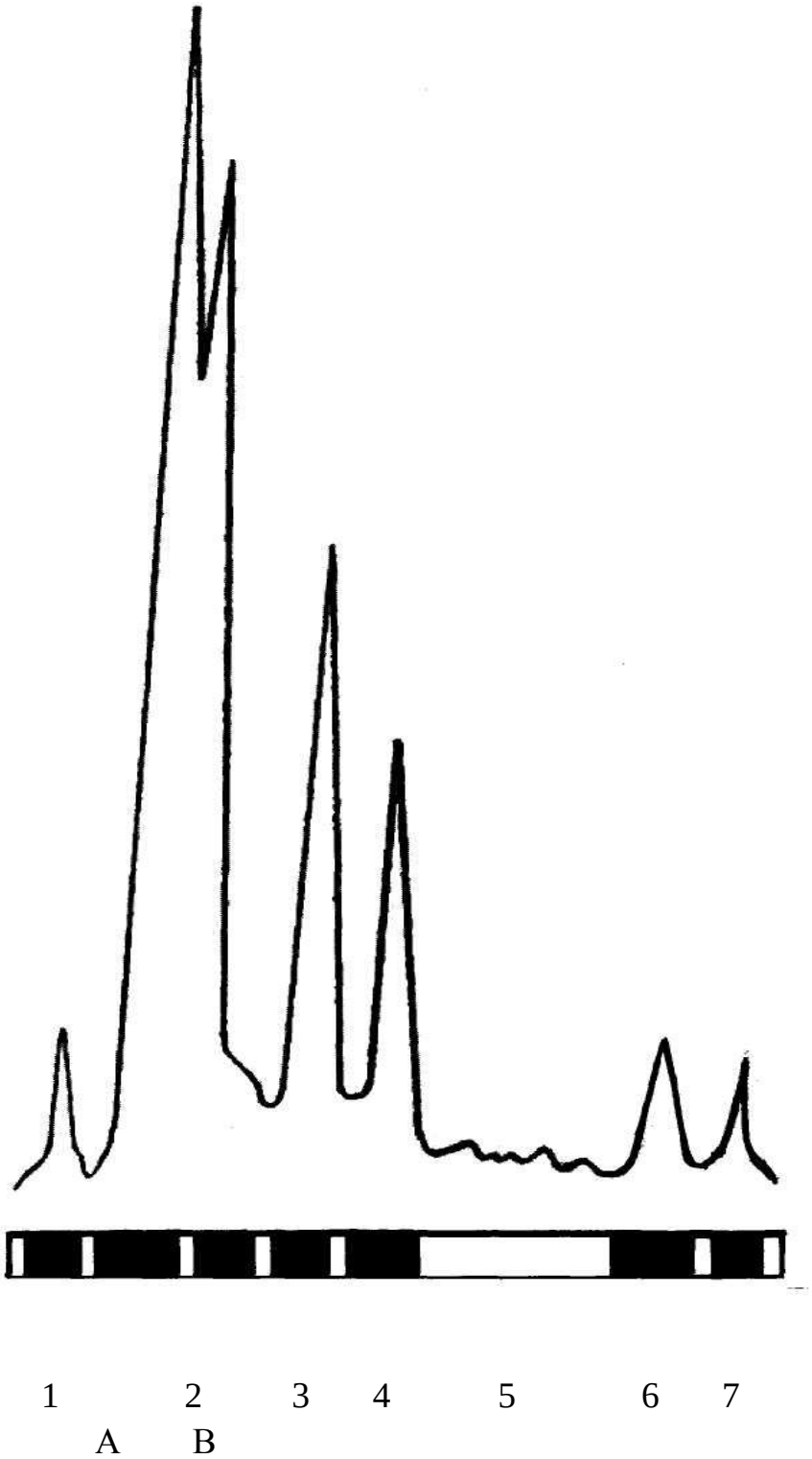


Рисунок 10 - Денситограмма белков молочной сыворотки после электрофореза в 7,5 %-м геле, pH 8,9

1 – F-фракция, 2 – β-лактоглобулин и его генетические варианты А и В, 3 – α-лактальбумин, 4 – альбумин сыворотки крови, 5 – минорные фракции, 6 – протеозо-пептонная фракция, 7 – иммуноглобулин.

Исследование генов bLTF, bPRL и bGH методом ПЦР – ПДРФ анализа

При оценке животных по генотипу применяли метод ПЦР - ПДРФ анализа, так как он имеет высокую чувствительность, точность, быстроту и простоту выполнения.

Исследования проведены в лаборатории ФГБУ «Татарская межрегиональная ветеринарная лаборатория», (Казань, Республика Татарстан). Материалом для исследований послужила выборка коров (n=25), полученная методом отбора животных по состоянию здоровья. Выборку составили коровы, переболевшие и больные маститом, а также здоровые, у которых при жизни не наблюдался мастит.

Анализ гена лактоферрина. ПЦР проводили на программируемом термоциклере «Терцик» (Россия) в объеме 20 мкл, содержащей буфер (60 мМ трис-HCl (pH 8,5), 1,5 мМ $MgCl_2$, 25 мМ KCl, 10 мМ меркаптоэталол; 0,1 мМ тритон X-100), 0,25 мМ dNTP, 0,5 ед. Taq ДНК полимеразы, 0,5 мкМ праймера LTF-F: 5/-GCCTCATGACAACTCCCACAC-3/ и LTF-R: 5/-CAGGTTGACACATCGGTTGAC-3/ предложенных Seyfert H.M., Kühn C., (1994), для амплификации фрагмента гена лактоферрина длиной 301 пары нуклеотидов, 1 мкл пробы ДНК в следующем режиме:

×1: 94 ^{0}C – 4 мин; ×40: 94 ^{0}C – 30 сек, 68 ^{0}C – 30 сек, 72 ^{0}C – 30 сек;

×1: 72 ^{0}C – 5 мин; хранение: 10 ^{0}C.

Для определения полиморфизма гена лактоферрина по вариантам *A* и *B* 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 20 ед. эндонуклеазы рестрикции *EcoRI* в 1×буфере «О» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 ^{0}C.

Для визуализации фрагментов ДНК пробы вносили в лунки 2,5% агарозного геля с содержанием этидия бромида (0,5 мкг/мл) и проводили горизонтальный электрофорез при 15 В/см в течение 40 мин в 1×TBE буфере. После электрофореза гель просматривали в УФ-трансиллюминаторе при длине волны 310 нм. Идентификацию генотипов определяли по количественным и качественным признакам ПЦР-ПДРФ (рис. 11).

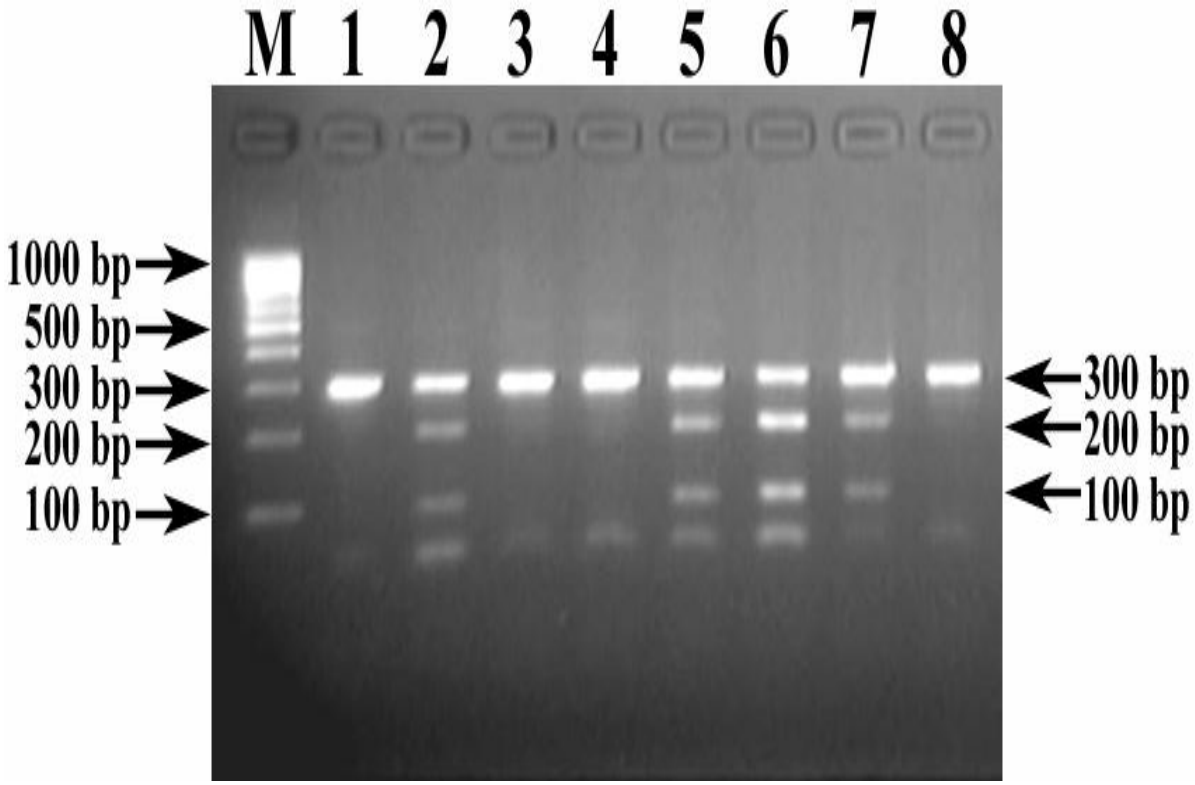


Рисунок 11 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ анализа гена *LTF* с праймерами LTF-F+LTF-R и эндонуклеазным расщеплением ферментом *EcoRI*

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp (СибЭнзим); 1, 3, 4, 8) генотип *AA* (300 bp); 2, 5, 6, 7) генотип *AB* (300/200/100 bp).

Анализ гена пролактина. ПЦР проводили по выше описанной методике с использованием праймера PRL1: 5′-CGA GTC CTT ATG AGC TTG ATT CTT-3′ и PRL2: 5′-GCC TTC CAG AAG TCG TTT GTT TTC-3′, сконструированных A. Dybus (2002) для амплификации фрагмента гена пролактина длиной 156 пары нуклеотидов.

Для определения полиморфизма гена пролактина по вариантам *A* и *B* 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 5 ед. эндонуклеазы рестрикции *RsaI* в 1×буфере «В» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 ^{0}С (рис.12).

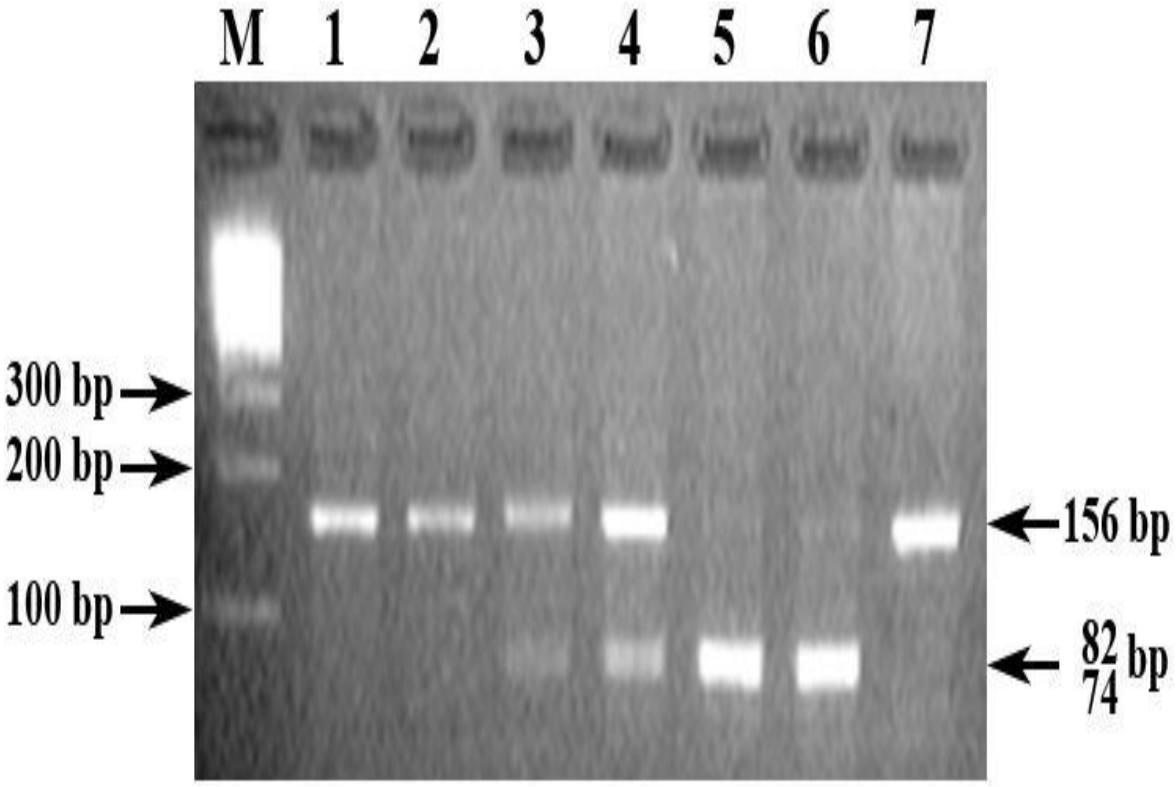


Рисунок 12 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ анализа гена пролактина крупного рогатого скота с праймерами PRL1+PRL2 и эндонуклеазным расщеплением ферментом *RsaI*

Обозначения: М) ДНК-маркеры 1000-100 bp (СибЭнзим); 1, 2) генотип *AA* (156 bp); 3, 4) генотип *AB* (156/82/74 bp); 5, 6) генотип *BB* (82/74 bp); 7) цельный ПЦР-фрагмент гена пролактина (156 bp).

Анализ гена соматотропина. ПЦР проводили по вышеописанной методике с использованием праймера GH5F: 5′-GCT GCT CCT GAG GGC CCT TC-3′ и 0,5 мкМ праймера GH5R: 5′-CAT GAC CCT CAG GTA CGT CTC CG-3′, сконструированных D.F. Gordon et al. (1983) для амплификации фрагмента гена соматотропина длиной 211 пары нуклеотидов.

Для определения полиморфизма гена соматотропина по вариантам *V* и *L* 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 2 ед. эндонуклеазы рестрикции *AluI* в 1×буфере «Y» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 ^{0}С (рис. 13).

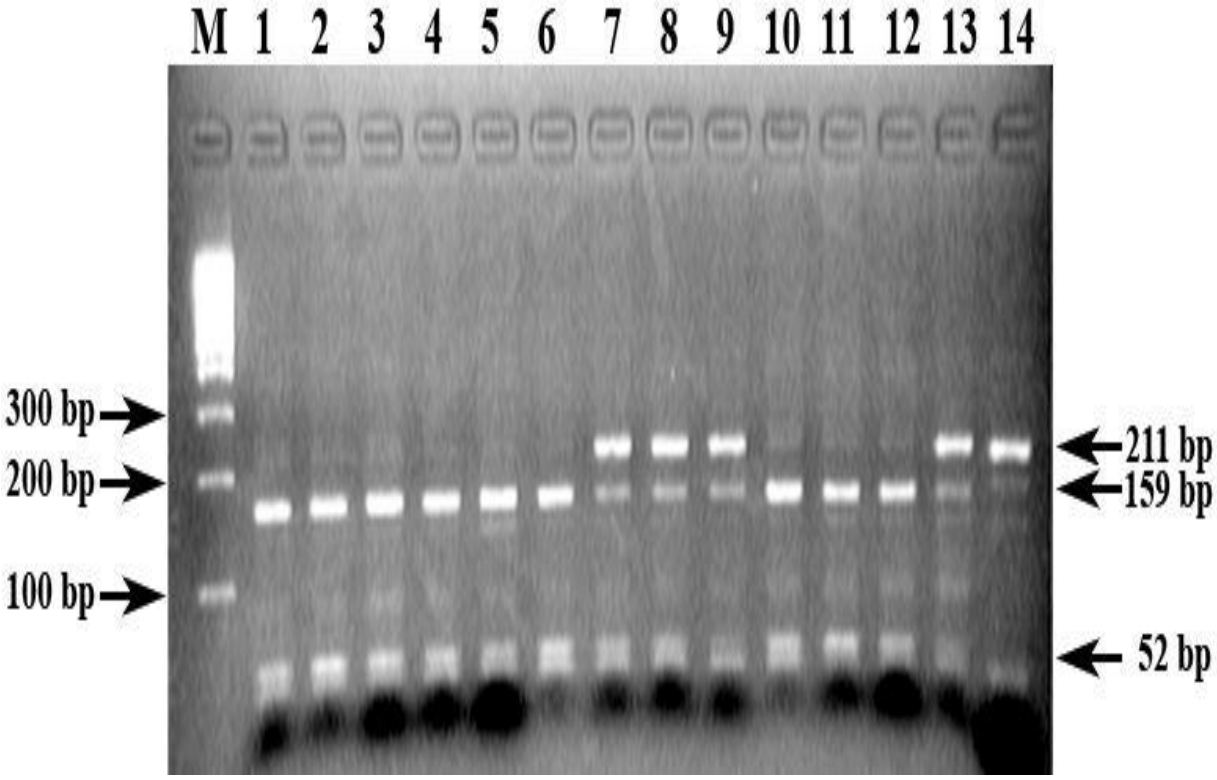


Рисунок 13 - Электрофореграмма результата ПЦР-ПДРФ анализа гена соматотропина крупного рогатого скота с праймерами GH5F+GH5R и эндонуклеазным расщеплением ферментом *AluI*

Обозначения: М) ДНК-маркеры 1000-100 bp (СибЭнзим); 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 11, 12) генотип *LL* (159/52 bp); 7, 8, 9, 13) генотип *VL* (211/159/52 bp); 14) цельный ПЦР-фрагмент гена соматотропина (211 bp).

2.2 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.2.1 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». Результаты этих исследований приведены в таблице 5. У здоровых коров вымя при наружном осмотре и прощупывании имеет чашеобразную форму с равномерно развитыми и симметрично расположенными долями, доли мягкие, эластичные, безболезненные, после доения значительно уменьшаются, правые и левые доли вымени четко разделены друг от друга бороздой, которая одновременно является поддерживающей связкой вымени. При лабораторном исследовании в молоке здоровых коров обнаруживается не более 500 тыс./см^3 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 появляется припухлость и болезненность пораженных долей вымени, нарушается их равномерность и симметричность (рис. 14). Однако субклиническая форма мастита может протекать скрытно без четко выраженных этих признаков. Как было отмечено в обзоре литературы, мастит имеет инфекционную патологию, поэтому в молоке резко возрастает количество бактерий, лейкоцитов, нейтрофилов и других клеток, характерных для воспалительного процесса – тем самым повышается уровень соматических клеток. Их число при субклинической форме мастита составило от 500 тыс. до 1 млн./см^3, а клинической - более 1 млн./см^3. В наших исследованиях субклинической формой мастита болели 18 голов, а клинической – 17. Их болезнь была подтверждена повторными лабораторными исследованиями.

а)

б)

Рисунок 14 – а) маститное вымя; б) здоровое вымя.

Таблица 5 – Результаты клинического осмотра и лабораторных исследований молока у коров

Группа по состоянию здоровья	Число коров	Клинические признаки	Число соматических клеток
Здоровые	57	---	не более 500тыс./см^3
Больные:	35		более 500тыс./см^3
в т.ч. субклиническим маститом	18	клинические признаки слабо выражены или отсутствуют	от 500тыс./см^3 1 млн./см^3
клиническим маститом	17	- увеличение пораженных четвертей вымени; - местное повышение t^0 , иногда повышение общей t^0 ; - вымя отёчно; - гиперемия; - болезненность при пальпации; - подвыменные лимфатические узлы увеличены; - снижение молокоотдачи; - серозные и катаральные выделения из пораженных четвертей вымени.	более 1млн./см^3

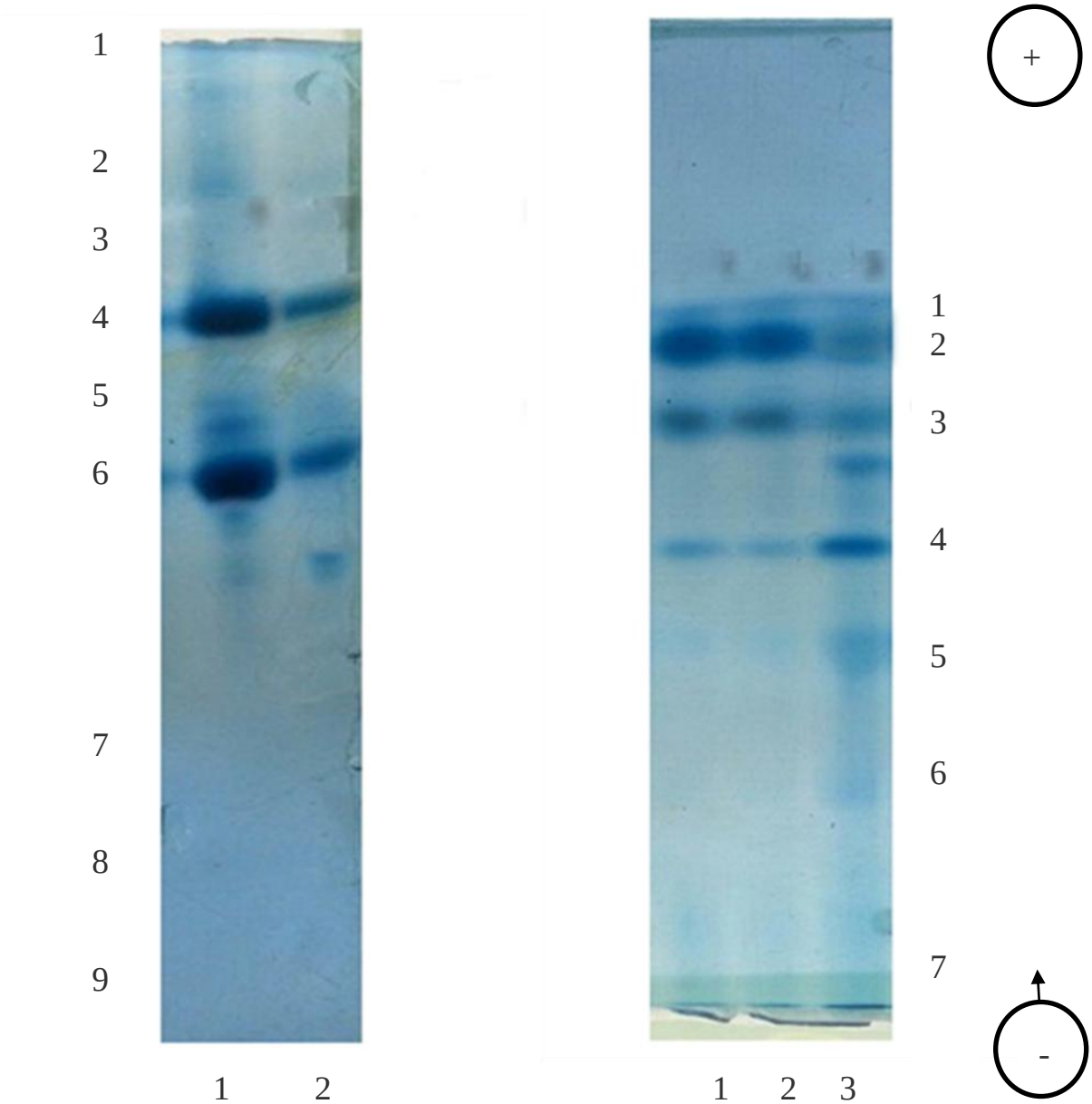
2.2.2 Белковый состав молока у здорового и больных коров маститом

В молоке больных маститом коров идентичные с молоком здоровых животных 16 белковых фракций, каких-либо дополнительных фракций не выявлено, т.е. воспалительные процессы в молочной железе не приводят к появлению новых фракций белка и не наблюдается распад существующих фракций (табл. 6; рис. 15 и 16). Различия между здоровыми и больными животными по белкам молока в основном носили количественный характер. Эти различия затрагивали все белковые фракции в молоке, начиная с общего белка кончая его «малыми» фракциями, все они подвержены количественным изменениям. 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: αs_1, β, к. Они при мастите потеряли от 24 до 75% белка (P < 0,001). Аналогичные изменения произошли с фракциями среднего уровня и некоторыми «малыми» фракциями: αs_0, αs_2, αs' и s (табл. 4). 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 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). В этом плане изменение концентрации γ – казеина при мастите 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 … 0,001).

Наиболее устойчивой к воспалительным процессам вымени оказалась F – фракция, ее концентрация была постоянной в нормальном и анормальном 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 молока превратилось в анормальное альбуминовое с соотношением казеинов и сывороточных белков соответственно 45 : 55%.



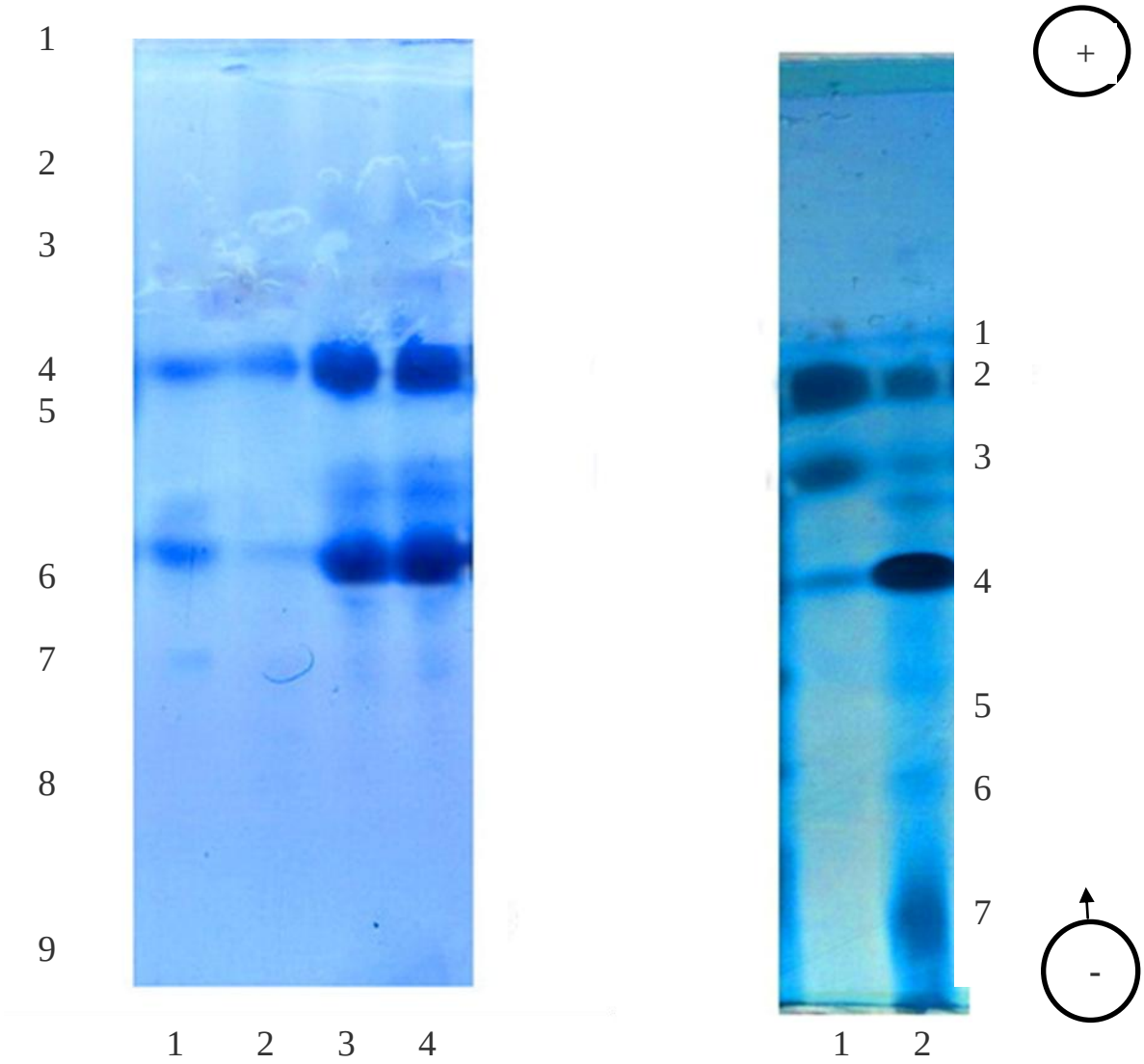
а) Образцы казеина:
1- здоровая корова;
2 - коровы больные субклиническим маститом;

б) Образцы молочной сыворотки:
1, 2 – здоровые коровы;
3 – корова больная субклиническим маститом;

Рисунок 15 - Фореграмма белков молочной сыворотки и казеина у здоровых коров и больных субклиническим маститом после электрофореза в 7,5-ом полиакриламидном геле, pH 8,9.

а) слева указаны фракции казеина: 1 – F, 2 – α_s', 3 – α_{s0}, 4 – α_{s1}, 5 – α_{s2}, 6 – β, 7 – к, 8 – γ, 9 – s.

б) справа указаны белковые фракции молочной сыворотки. 1 – F-фракция, 2 – β-лактоглобулин, 3 – α-лактальбумин, 4 – альбумин сыворотки крови, 5 – прочие, 6 – протеозо-пептонная фракция,7 – иммуноглобулин.



а) Образцы молочного казеина:
1, 2 – коровы больные клиническим маститом;
3, 4 – здоровые коровы;

б) Образцы молочной сыворотки:
1 – здоровая корова;
2 – корова больная клиническим маститом;

Рисунок 16 – Фореграммы белков молочной сыворотки и казеина у здоровых коров и больных клиническим маститом после электрофореза в 7,5-ом полиакриламидном геле pH 8,9.

а) слева указаны фракции казеина: 1 – F, 2 – α_s', 3 – α_{s0}, 4 – α_{s1}, 5 – α_{s2}, 6 – β, 7 – κ, 8 – γ, 9 – s.

б) справа указаны белковые фракции молочной сыворотки. 1 – F-фракция, 2 – β-лактоглобулин, 3 – α-лактальбумин, 4 – альбумин сыворотки крови, 5 – прочие, 6 – протеозо-пептонная фракция,7 – иммуноглобулин.

Таблица 6– 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	100,0	2,949±0,046***	100,0	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
αs'	0,091±0,002	2,8	0,077±0,005*	2,6	0,046±0,004**	2,2
$αs_0$	0,158±0,009	4,8	0,134±0,011***	4,6	0,055±0,004***	2,7
$αs_1$	0,857±0,029	25,9	0,652±0,036***	22,1	0,216±0,012***	10,6
$αs_2$	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.

Этот показатель должен стать основным критерием оценки состояния вымени при мастите и качества молочной продукции, молоко с таким показателем можно считать анормальным. 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 7 (см. также рис. 17). 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 ($P < 0,01 \ldots 0,001$).

При этом в наибольшей степени пострадал синтез главных белков молока: αs_1 -, αs_2 -, β -, κ – казеинов и β – лактоглобулина, α - лактальбумина сыворотки. Их концентрация снизилась от 7 до 21% ($P < 0,05 \ldots 0,01$). 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. 7).

Таблица 7 – 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	100,0	2,860±0,073***	100,0	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
αs'	0,091±0,002	2,8	0,094±0,006	3,3	0,093±0,007	2,9
$αs_0$	0,158±0,009	4,8	0,140±0,006*	4,9	0,154±0,006	4,8
$αs_1$	0,857±0,029	25,9	0,678±0,045**	23,7	0,831±0,041	25,6
$αs_2$	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

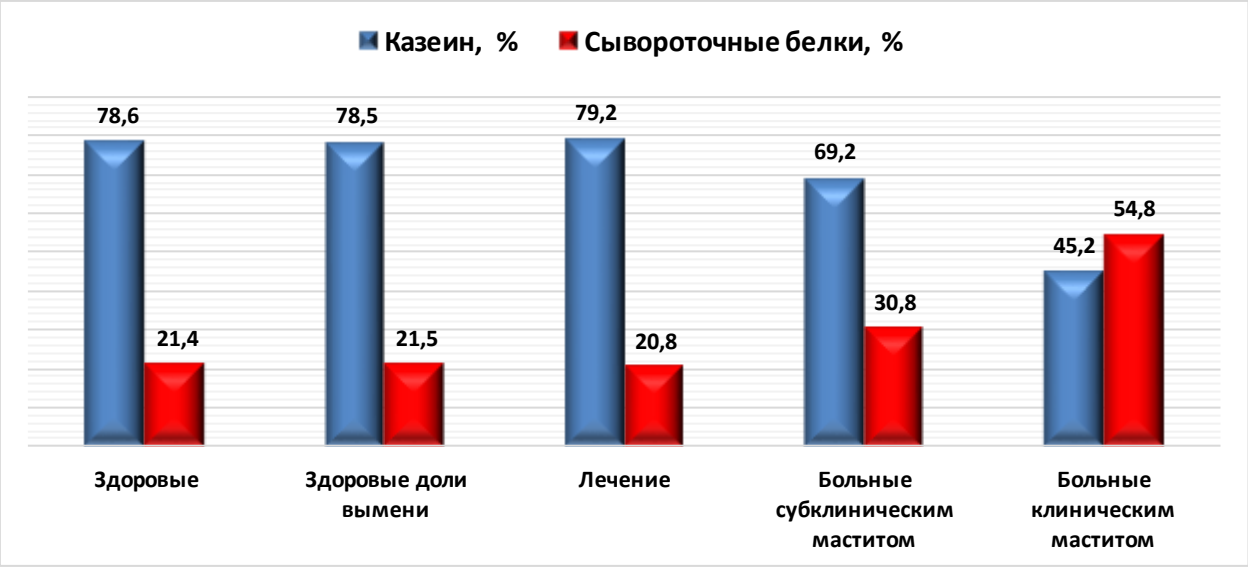


Рисунок 17 - Диаграмма процентного соотношения казеинов и белков молочной сыворотки у здоровых коров и больных маститом

Например, содержание αs_1 – 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; к – 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.

Таким образом, при заболевании коров маститом в их 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 %). Наибольшим изменениям в основном подвергаются главные белки молока: αs_1 - , β - , к - , αs_2 – казеины, альбумин крови, иммуноглобулин, β – лактоглобулин, α - лактальбумин, у последних двух белков изменения носят противонаправленный характер. В результате этих изменений при клинической форме мастита молоко из казеиновой группы переходит в анормальную альбуминовую группу с соотношением казеинов и белков сыворотки 45 : 55 %. Этот показатель может стать основным критерием оценки состояния вымени и качества молочной продукции при мастите.

По результатам исследований можно заключить, что выздоровление коров болевших маститом, не полностью восстанавливает 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 %. Исследованиями также показано, что при заболевании одной доли вымени белковый состав молока в здоровых долях не страдает.

2.2.3 Генетическая структура здоровых и больных маститом коров по белкам молока

В молоке коров татарстанского типа полиморфными оказались три белка: β –, к – 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 (табл. 8). 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 и0,543 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%. 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.

Таким образом, 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 животных, в т.ч. по созданию наследственной устойчивости к маститу.

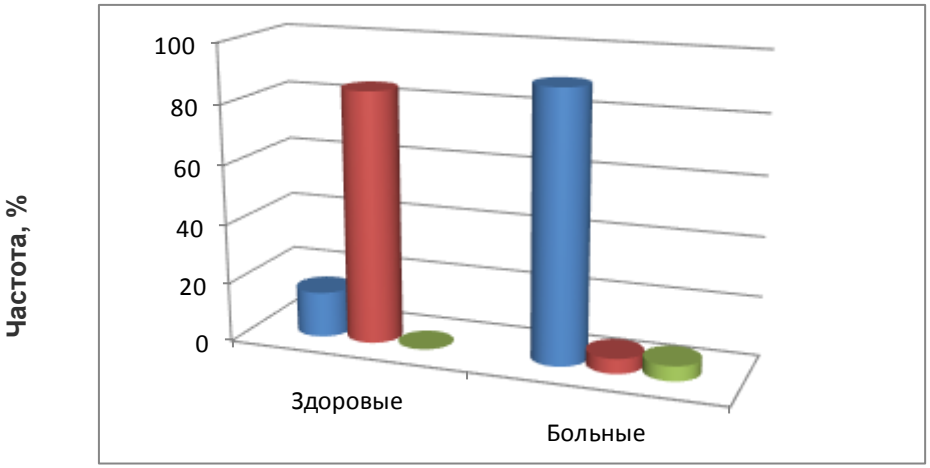
В связи с вышеизложенным изучали возможную связь заболеваемости коров маститом в зависимости от их генотипа по белкам молока, для чего определяли частоту генотипов и аллелей у здоровых и больных коров.

Результаты исследований представлены в таблице 9 (см. также рис. 18). 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% (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 АА. 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 к – 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 А в локусах β - и к – Сп 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 к – Сп (χ^2 = 13,2 и 15,9; P< 0,01 и 0,001).

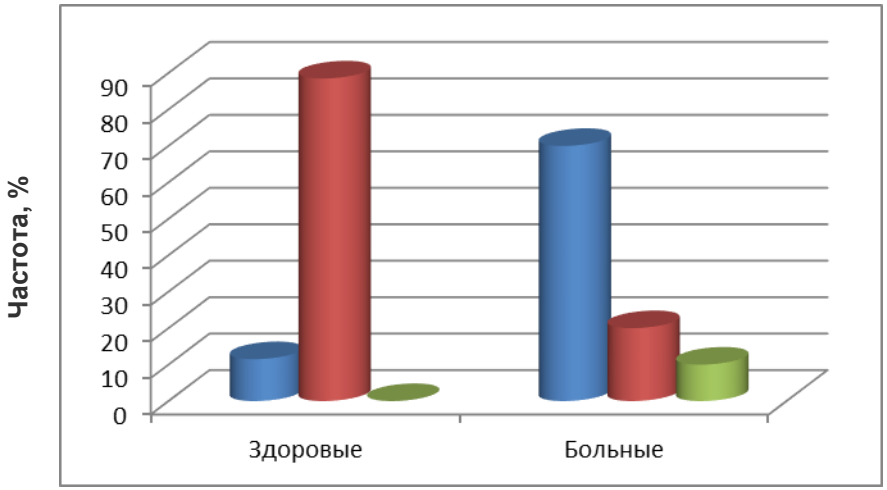
Таблица 8 – Частота генотипов и аллелей по белкам молока в исследованной группе коров

Группа животных	Локус белка	Распредел.	Частота генотипов						χ2	Частота аллелей	
			AA		BB		AB			A	B
			n	%	n	%	n	%			
Коровы, n=46	β -Cn	ф.	22	47,9	1	2,2	23	49,9	3,1	0,728	0,272
		т.	25	54,4	3	6,5	18	39,1			
	к - Cn	ф.	17	37,0	2	4,3	27	58,7	4,0	0,663	0,337
		т.	20	43,5	5	10,9	21	45,6			
	β - Lg	ф.	12	26,1	16	34,8	18	39,1	2,2	0,457	0,543
		т.	10	21,7	13	28,3	23	50,0			

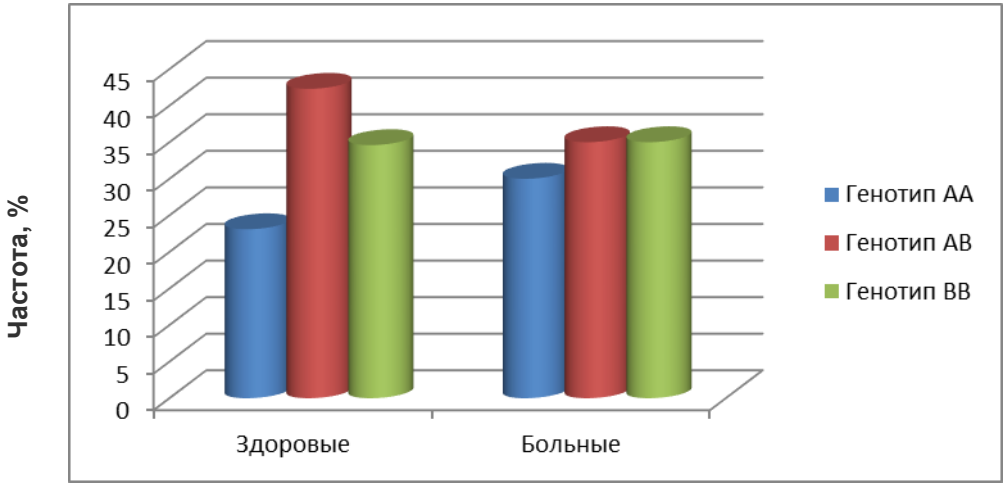
*Примечание: здесь и в последующих таблицах ф. - фактическое; т. – теоретическое ожидаемое число животных по закону Харди-Вайнберга



β - Казеин



к - Казеин



β - Лактоглобулин

Рисунок 18 – Диаграмма частот генотипов белков молока у коров здоровых и больных маститом

Таблица 9 – Частота генотипов и аллелей белков молока у коров здоровых и больных маститом

Группа здоровья по маститу	Локус белка	Распределение	Частота генотипов						χ2	Частота аллелей	
			AA		BB		AB				
			n	%	n	%	n	%		A	B
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			

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

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

Из заключения предыдущего раздела следует, что генотипы по локусам β -, к - 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 6, 10, 11 и 12, подтвердили это предположение. Так, молоко коров с генотипами ВВ и АВ 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%; к – казеина – 72 и 74% (табл. 10). Как было отмечено в предыдущем разделе, коровы с такими генотипами отличались устойчивостью к маститу, а с генотипом АА 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 ВВ и АВ при мастите и белки сыворотки подверглись меньшим изменениям, нежели у коров с генотипом АА. 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 %, протезо пептона – 14-15 и 130%; иммуноглобулина – 160-195 и 237 % (P<0,05…0,01).

Таким образом, коровы с генотипами ВВ и АВ β – казеина 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 по локусу к – 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 ВВ и АВ 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 %; к – казеина – 69-60 % (табл.11). У больных коров с генотипом АА эти показатели были значительно ниже, соответственно 69; 47; 38; 48 % (P<0,001).

Как было показано в предыдущем разделе 2.2.2, 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).

Из результатов предыдущего раздела следует, что коровы с генотипами ВВ и АВ характеризуются повышенной резистентностью к маститу, а результаты настоящих исследований, кроме того, показали их высокую способность при заболевании маститом сохранить большую долю белков в нативном состоянии, нежели с генотипом АА. Таким образом, при заболевании коров маститом имеют преимущество генотипы ВВ и АВ к – казеина в сравнении с генотипом АА, поскольку они способствуют сохранению большой части молочного белка в нативном состоянии.

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 – Cn, однако тенденция сохранилась.

Таблица 10 – Содержание белков в молоке больных маститом коров с разными генотипами по локусу β - Cn

Белки	Содержание белков в молоке по генотипам β - казеина					
	AA, n=18		BB, n=1		AB, 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
αs'	0,056±0,005**	2,4	0,073	2,4	0,084	2,7
$αs_0$	0,082±0,013***	3,5	0,137	4,5	0,143	4,5
$αs_1$	0,370±0,035***	15,7	0,650	21,2	0,702	22,2
$αs_2$	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
κ	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

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 %); к – казеина – 0,132 и 0,128 г/100 мл (57 и 55 %); (табл. 12). 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 маститом коров было незначительным (табл. 12). 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.

Следовательно, генотипы локуса β – Lg при заболевании коров маститом оказывают меньшее влияние, чем генотипы локусов β - и к – Cn – на белковый состав молока, однако тенденция преимущественного значения генотипов ВВ и АВ при мастите сохраняется. Эта тенденция хорошо проявляется в отношении концентрации казеинов, в меньшей степени – по белкам молочной сыворотки.

Таким образом, генотипы коров по локусам β -Cn, к - Cn и β – Lg оказывают существенное влияние на белковый состав молока при заболевании маститом. При этом преимущество имеют генотипы ВВ и АВ, у которых при мастите молоко подвергается меньшим количественным изменениям, нежели у генотипа АА.

Таблица 11 – Содержание белков в молоке больных маститом коров с разными генотипами по локусу к– Cn

Белки	Содержание белков в молоке по генотипам к– казеина					
	AA, n=14		BB, n=2		AB, 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±0,0,024***	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
αs'	0,054±0,005**	2,4	0,073±0,001	2,5	0,066±0,003*	2,4
$αs_0$	0,076±0,013***	3,3	0,127±0,012	4,3	0,113±0,009*	4,1
$αs_1$	0,327±0,034***	14,3	0,679±0,036	23,0	0,524±0,027**	19,1
$αs_2$	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
к	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

Таблица 12 – Содержание белков в молоке больных маститом коров с разными генотипами по локусу β – Lg

Белки	Содержание белков в молоке по генотипам β – лактоглобулина					
	AA, n=6		BB, n=7		AB, n=7	
	г/100 мл	%	г/100 мл	%	г/100 мл	%
Общий белок	2,304±0,076**	100	2,537±0,056	100	2,510±0,066*	100
Казеины:	1,282±0,051**	55,6	1,507±0,057	59,4	1,497±0,056	59,6
F	0,028±0,003	1,2	0,027±0,006	1,1	0,028±0,003	1,1
αs'	0,057±0,007	2,5	0,061±0,007	2,4	0,058±0,007	2,3
$αs_0$	0,081±0,011*	3,5	0,094±0,014	3,7	0,096±0,013	3,8
$αs_1$	0,351±0,036**	15,2	0,451±0,036	17,8	0,423±0,038*	16,9
$αs_2$	0,174±0,015**	7,6	0,196±0,017*	7,7	0,209±0,019	8,3
β	0,335±0,034**	14,5	0,403±0,032	15,9	0,412±0,036	16,4
κ	0,114±0,011*	4,9	0,132±0,009	5,2	0,128±0,006	5,1
γ	0,093±0,002	4,0	0,089±0,003	3,5	0,092±0,009	3,6
s	0,049±0,005	2,1	0,052±0,004	2,0	0,052±0,006	2,1
Белки сыворотки:	1,022±0,061	44,4	1,030±0,054	40,6	1,013±0,042	40,4
F	0,026±0,001	1,1	0,026±0,003	1,0	0,026±0,001	1,0
β-Lg	0,112±0,008	4,9	0,117±0,011	4,6	0,110±0,017	4,4
α- La	0,096±0,005	4,2	0,096±0,005	3,8	0,098±0,005	3,9
Al	0,248±0,018	10,8	0,253±0,017	10,0	0,251±0,019	10,0
Pp	0,112±0,005	4,9	0,103±0,009	4,1	0,097±0,004*	3,9
Ig	0,290±0,024	12,6	0,295±0,021	11,6	0,292±0,025	11,6
прочие	0,139±0,08	6,0	0,141±0,011	5,6	0,139±0,013	5,5

2.2.5 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 (табл. 13). 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 здоровых и больных маститом 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. 14). 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 (табл. 13). У пролактина в отличии 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% ($P < 0,001$; табл.14). 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. Поэтому частота V– аллеля была очень низкой и составила 0,04, подавляющее большинство животных обладали аллелем L, его частота была преобладающей – 0,96. 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. 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.

Таким образом, у коров татарстанского типа все три исследованных локуса белков оказались полиморфными; из них локусы bLTF и bPRL обладали средним уровнем полиморфизма, а 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 АА и АВ. При этом преимуществом обладал генотип АА.

Таблица 13 - Частота генотипов и аллелей по локусам bLTF, bPRL и bGH в исследованной группе коров

Группа животных	Локус белка	Распредел.	Частота генотипов						χ2	Частота аллелей	
			AA		BB		AB			A	B
			n	%	n	%	n	%			
Коровы, n=25	bLTF	ф.	10	40,0	0	0	15	60,0	3,79	0,70	0,30
		т.	12	48,0	2	8,0	11	44,0			
	bPRL	ф.	16	64,0	2	8,0	7	28,0	1,51	0,78	0,22
		т.	15	60,0	1	4,0	9	36,0			
	bGH		LL		VV		VL			L	V
		ф.	23	92,0	0	0	2	8,0	0,38	0,96	0,04
		т.	22	88,0	0	0	3	12,0			

Таблица 14 - Частота генотипов и аллелей по локусам bLTF, bPRL и bGH у здоровых и больных маститом коров

Группа здоровья по маститу	Локус белков	Распредел.	Частота генотипов						Частота аллелей		χ2
			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	4,29
		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	0,33
		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	0,077	0
		т.	11	84,6	0	0	2	15,4			

2.2.6 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: АА и АВ. Их влияние на содержание белков в молоке больных коров было аналогичным тому, что наблюдалось по локусам β - Cn, к - Cn и β – Lg, т.е. преимуществом обладали гетерозиготы АВ. У них при мастите сохранилось больше общего белка и казеинов в нативном состоянии, нежели у генотипа АА. Так, в молоке коров с генотипом АВ при мастите содержалось 82 % нативного общего белка, 67 % - казеина и его фракций: α_{s1} – казеина – 64 %; β – казеина - 64 %; к – казеина – 63 %. Эти показатели у коров генотипа АА были значительно низкими и составили соответственно 75; 57; 49; 53 и 55 % (P < 0,05…0,001; табл. 6, 15). 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 АВ общего белка сыворотки содержалось 0,950 г/ 100 мл, а у генотипа АА – 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. Таким образом, генотипы локуса bLTF оказывают определенное влияние на белковый состав молока коров при их заболевании маститом. При этом преимущество имеют гетерозиготы АВ, которые способны сохранить больше белка в молоке в нативном состоянии, нежели гомозиготы АА.

По локусу bPRL выявлена несколько иная зависимость содержания белков в молоке от генотипа коров при заболевании маститом. В данном локусе преимущество имели гомозиготы АА и ВВ, чем гетерозиготы АВ. Их молоко характеризовалось повышенным содержание казеинов и пониженным – белков сыворотки, что является желательной структурой молочного белка при мастите.

Таблица 15 – 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		BB, n=0		AB, n=7	
	г/100 мл	%	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
αs'	0,061±0,007	2,5	-	-	0,068±0,007	2,5
αs_0	0,093±0,014**	3,7	-	-	0,110±0,011	4,1
αs_1	0,423±0,036**	17,0	-	-	0,539±0,029	20,0
αs_2	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

Так, в молоке больных коров с генотипами АА и ВВ 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 %; к – казеина – 59 и 72 %. У генотипа АВ эти показатели оказались значительно ниже и составили соответственно 69; 49; 40; 43; и 52 % (P < 0,01…0,001; табл. 16).

По белкам сыворотки различия между генотипами были выражены в меньшей степени, чем по казеинам, однако тенденция сохранилась. Белки сыворотки в молоке у генотипов АА и ВВ оказались более устойчивыми к изменениям, чем у генотипа АВ. Так, в молоке первых генотипов повышение общего белка сыворотки составило соответственно 37 и 30%; протезо-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).

Таким образом, генотипы локуса bPRL оказывают существенное влияние на концентрацию белков в молоке коров больных маститом. При этом гомозиготные генотипы АА и ВВ способствуют сохранению больше белка в нативном состоянии, нежели генотипы АВ. Эта способность хорошо выражена по содержанию общего белка и казеинов и в меньшей степени по белкам сыворотки.

У коров больных маститом по локусу bGH выявлено лишь 2 генотипа: LL и LV, гомозигот VV не оказалось (табл. 17). Влияние этих генотипов на белковый состав молока при болезни вымени было аналогичным тому, что наблюдалось по локусам β -Cn, к – 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; к – казеина – на 0,031 г/ 100 мл (P < 0,05…0,001) и, напротив – меньше на 0,108 г/ 100 мл общего белка сыворотки, альбумина – на 0,066; протезо-пептона – на 0,026; иммуноглобулина – на 0,038 г/ 100 мл; чем у генотипа LL (P < 0,05…0,001).

Таблица 16 – 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

Таблица 17 – Содержание белков в молоке больных маститом коров с разными генотипами по локусу bGH

Белки	Содержание белков в молоке коров с генотпами					
	LL, n=11		VV, n=0		LV, n=2	
	г/100 мл	%	г/100 мл	%	г/100 мл	%
Общий белок	2,583±0,073***	100	-	-	2,861±0,053	100
Казеины:	1,576±0,055***	61,0	-	-	1,963±0,068	68,6
F	0,028±0,003	1,1	-	-	0,028±0,001	1,0
αs'	0,062±0,002*	2,4	-	-	0,073±0,001	2,6
$αs_0$	0,098±0,011**	3,8	-	-	0,129±0,005	4,5
$αs_1$	0,465±0,033**	18,0	-	-	0,601±0,028	21,0
$αs_2$	0,214±0,016*	8,3	-	-	0,260±0,019	9,1
β	0,433±0,017**	16,8	-	-	0,559±0,013	19,5
κ	0,131±0,011*	5,1	-	-	0,162±0,015	5,7
γ	0,091±0,005	3,5	-	-	0,088±0,007	3,1
s	0,054±0,009	2,1	-	-	0,063±0,008	2,2
Белки сыворотки:	1,006±0,064	38,9	-	-	0,898±0,024**	31,4
F	0,026±0,002	1,0	-	-	0,026±0,002	0,9
β-Lg	0,115±0,016*	4,5	-	-	0,134±0,018	4,7
α- La	0,100±0,013*	3,9	-	-	0,116±0,007	4,1
Al	0,252±0,014	9,8	-	-	0,186±0,019**	6,5
Pp	0,098±0,004	3,8	-	-	0,072±0,001**	2,5
Ig	0,278±0,012	10,8	-	-	0,240±0,021**	8,4
прочие	0,138±0,017	5,3	-	-	0,123±0,011*	4,3

Следовательно, генотипы локуса bGH оказывают определенное действие на белковый состав молока коров больных маститом, также аналогично генотипам локусов β -Cn, κ – Cn, β – Lg и bLTF, т.е. при этом преимуществом обладаютгетерозиготы, чем гомозиготы. Они при болезни вымени способны сохранить больше белков в нативном состоянии, нежели гомозиготы.

Таким образом, по локусам bLTF, bPRL и bGH генотипы также, как генотипы локусов β -Cn, κ – Cn и β – Lg, оказывают большое влияние на стабильность молочных белков при мастите вымени. Влияние генотипов локусов bLTF и bGH оказались аналогичным влияние локусов β -Cn, κ – Cn, 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 АА и ВВ, чем гетерозигот АВ.

3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ведение молочного скотоводства в современных условиях, выдвигает задачу создания животных, отличающихся высокими продуктивными и воспроизводительными качествами, приспособленностью к промышленной технологии, повышенной естественной резистентностью и устойчивостью к заболеваниям, среди которых наиболее распространенным является мастит коров.

В этиологии мастита важным фактором является состояние общей резистентности организма животного. Известно достаточное количество данных, указывающих на наследование защитных свойств организма (Бороздин Э.К., Клееберг К.В., Зимин Г.Я., 1993). Однако, как отметили ранее (Солдатов А.П., Остроухова В.И., 1992), что попытки создать искусственный иммунитет к маститу не принесли положительных результатов. Недавно в этом направлении достигнуты определенные успехи. Испанские ученые (Гуччионе Я., Песе А., Паскаль М. и др. 2017) сообщили о первом исследовании клинической эффективности вакцинации против инфекций *Staphylococcus aureus* на средиземноморских буйволах. Были получены обнадеживающие результаты сокращения количества случаев мастита и числа соматических клеток в молоке. Они считают что, поливалентная вакцина против мастита может стать дополнительным инструментом против инфекции *Staphylococcus aureus* в стаде и должна быть связана с другими противоэпизоотическими мероприятиями, дабы максимизировать её профилактические свойства.

Тем не менее повышение наследственной резистентности сельскохозяйственных животных к болезням всё больше привлекает внимание учёных и практиков. Вопрос о селекции крупного рогатого скота на устойчивость к заболеваниям стал особенно актуален в последнее время в связи с созданием крупных высокомеханизированных ферм, в которых сосредоточено большое поголовье. Любое заболевание в этих условиях быстро распространяется. Заболеваемость маститом в стадах составляет 11,7 - 40,3%

(А.Е. Болгов, 1985; А.П. Солдатов с соавт., 1986; Л.Н. Муравья, 1992; В.К. Копытин, О.Г. Новиков, 1999; О. А. Калмыкова, 2000). В отдельных стадах мастит может поражать до 50-75 % животных (В.М. Карташова, А.И. Ивашура, 1988). Поэтому в России и в других странах мастит продолжает оставаться одной из распространённых и дорогостоящих болезней молочных коров (С.М. Ларина, В.Н. Мушкарёв, Л.В. Яковленко, 1988.; А.Е. Болгов с соавт., 1996; S. Van der Beek, 1999; P.J. Boettcher P.J., B.J. Van Doormaal, 1999). В наших исследованиях у коров татарстанского типа заболеваемость коров маститом выражена несколько в меньшей степени и составила 8,6 %.

В России, как и в ближнем зарубежье, научных исследований, посвященных оценке коров по резистентности к маститу с применением наиболее точных методов, проведено мало. Первые исследования в этом направлении выполнены Л.К.Эрнстем в 1998 году, он проводил испытания малекулярно – генетических механизмов к резистентности к лейкозам и маститам и продуктивности крупного рогатого скота. В его работе исследовано разнообразие по антигенам BoLA-A в отобранных группах животных и определена функциональная модель иммуногенетического статуса каждой популяции методом статусметрии в связи с устойчивостью и восприимчивостью к данным заболеваниям у животных черно-пестрой, айрширской, бурой латвийской и костромской пород.

Сравнительно недавно Н.В. Федотова в своей работе 2011 года, проводила испытания на эффективность использования – молекулярно - генетических маркеров, в селекции черно-пестрой породы по молочной продуктивности и устойчивости к маститам. В частности, исследовались полиморфизмы локусов бета-лактоглобулина, соматотропина и главного комплекса гистосовместимости BoLA для прогнозирования молочной продуктивности и отбора коров, устойчивых к маститу.

В 2015 году С.Н. Прошиным с соавторами было проведено исследование на предмет изучения полиморфизма гено bLTF и GDF-9 у млекопитающих (Bos Taurus L) методом ПЦР-ПДРФ анализа для решения задач фармакогенетики,

где была установлена тесная взаимосвязь между полиморфизмом гена лактоферрина (LTF) с заболеваемостью маститом и содержанием соматических клеток в молоке у млекопитающих.

В Белоруссии в 2010 году Т.И. Епишко с соавторами изучал ДНК-диагностику возбудителей и маркеры устойчивости к маститам. Они проверяли гипотезу: о влиянии полиморфизма гена CSN3 на устойчивость к маститу, коров белорусской черно-пестрой породы

В Украине в 2013 году учеными Г.М. Супровичем и В.В. Влизло в работе 2013 года определяли BoLA-антигены связанные с маститом, которые предположительно, могут быть предложены, как маркеры определяющие восприимчивость и резистентность к маститу.

Нами проведены аналогичные с вышеуказанными авторами исследования в отношении татарстанского типа скота, для которого также установлены маркерные гены и генотипы, обеспечивающие устойчивость коров к маститу. Результаты наших исследований хорошо согласуются с научными данными предыдущих, что создаёт уверенность в организации селекции татарстанского типа скота на устойчивость к маститу по-новому, т.е. с использованием установленных нами ген-маркеров.

Новым направлением наших исследований является изучение и анализ белкового состава молока, у коров больных разными формами мастита, при этом изучался состав молока как из больных долей вымени, так и со здоровых. Эти исследования проводились впервые в целом по отрасли молочного скотоводства, поскольку белковый состав молока в основном изучался у здорового молочного скота (Хаертдинов Р.А. и др., 2009). В научной литературе данные о содержании белков в маститном молоке коров весьма скудные. По этому направлению имеется несколько сообщений лишь об общих данных по белковому составу маститного молока (В.А.Бычкова, 2010; А.И. Любимов, 2013).

В наших исследованиях, получены новые данные о том, что молоко коров больных маститом существенно отличается от здоровых повышенным

содержанием сывороточных белков. В отличие от здоровых коров, в молоке коров с субклиническим маститом сывороточный белок был выше на 0,198 г/100мл и на 0,409 г/100мл - при клиническом мастите.

Содержание казеина и общего белка напротив, было резко снижено в сравнении со здоровыми животными. Казеин в молоке коров с субклиническим маститом оказался ниже на 0,560 г/100мл и при клиническом мастите - на 1,679 г/100мл; соответственно общий белок при субклиническом маститом был ниже на 0,362 г/100мл и при клиническом мастите - на 1,270 г/100мл. Поэтому структура молочного белка у больных маститом животных, была несколько иной, нежели у здоровых. Доля соотношений казеина и сывороточного белка у коров составило соответственно: у здоровых 79:21 %, с субклиническим маститом 69:31% и с клиническим маститом 45:55 %.

Нами так же впервые были проведены исследования по изучению белкового состава молока от коров, прошедших лечение против мастита и молока из здоровых долей вымени больных маститом коров. При этом показано, что общий белок молока из здоровых долей коров больных маститом снижается, но не значительно, а у коров, прошедших терапию против мастита это снижение достаточно сильное. Так, у здоровых коров общий белок молока составил 3,311 г/100мл, а у больных коров в молоке с не маститной доли этот показатель был равен 3,240 г/100мл и у коров, прошедших терапию против мастита - 2,860 г/100мл. Эти результаты оказались новыми, мы в доступной литературе не нашли сообщений о такой зависимости белкового состава молока при разном состоянии вымени.

Следующим направлением наших исследований являлось изучение и анализ генетической структуры белков молока у здоровых и больных маститом коров. Сравнение полученных результатов с имеющимися в литературе данными других авторов показало, что наши материалы вносят новые представления о связи генов белков молока с устойчивостью коров к маститу. Так, из литературных источников известно об антимикробной и иммуномоделирующей активности двух белков молока: β – казеина и β –

лактоглобулина (S. Bouhallab, 2004; G.A. Biziulevicius et all, 2006), которая получила подтверждение в наших исследованиях в отношении обеспечения устойчивости коров к маститу при определённых генотипах этих белков, в частности, по локусам β – Cn и β – Lg преимущество имели гетерозиготы АВ, нежели гомозиготы АА. У здоровых от мастита коров наблюдалось достоверное повышение частоты гетерозигот, соответственно на 80 и 7%.

В отношении к – казеина пока еще не установлено наличие полипептидов, обладающих антимикробным и иммуномоделирующим действием. Однако, судя по данным наших исследований можно предположить, что таким действием также должен обладать к – казеин, поскольку нами в отношении этого локуса выявлено аналогичное с локусами β – Cn и β – Lg положительное влияние гетерозигот на устойчивость к маститу.

Следовательно, вышеизложенное позволяет заключить, что генов белков молока с успехом можно использовать как дополнительные маркеры при отборе коров на резистентность к маститу.

Как уже отмечалось в обзоре литературы, в настоящее время интенсивно ведутся исследования по поиску связи (ассоциации) генов ряда белков, гормонов и ферментов, как пролактина, соматотропина, лактоферрина и других с хозяйственно – полезными признаками животных, в т.ч. с устойчивостью к маститу. Особый интерес у ученых вызывает лактоферрин, в отношении которого установлена антибактериальная, антивирусная, антипаразитарная активность. Например, M. Schwerin et all. (1994) сообщили о том, что генетические варианты лактоферрина можно рекомендовать в качестве ДНК – маркера для прогнозирования содержания соматических клеток в молоке и заболеваемости маститом, при этом аллель А гена bLTF оказался связанным с восприимчивостью коров к этой болезни. В наших исследованиях это предположение получило частичное подтверждение, поскольку обнаружена у здоровых коров тенденция повышения частоты В – аллеля и гетерозигот АВ. Соответственно на 23 и 28 %, что дало нам основание предположить, что

возможно присутствие В – аллеля в генотипе животных способствует их устойчивости к маститу, а А – аллеля – восприимчивости к этой болезни.

В доступной нам литературе мы не обнаружили сообщений о возможной связи других, исследованных нами генов, как пролактина и соматотропина с заболеваемостью коров маститом. В этом отношении результаты наших исследований по вышеуказанным локусам оказываются новым материалом. В наших исследованиях получены убедительные данные о связи генотипов локуса bPRL с заболеваемостью коров маститом. При этом преимуществом обладал гомозиготный генотип АА, его частота у здоровых коров была в 1,8 раза выше (83,3 %), чем у больных (46,8 %). Следовательно, на основании этого предполагается, что аллель А связан с устойчивостью коров к маститу, а аллель В – их восприимчивостью к этой болезни. Эта связь локуса bPRL с заболеваемостью маститом возможно объясняется тем обстоятельством, что ген bPRL тесно сцеплен генами I и II главного комплекса гистосовместимости, отвечающего, как известно, за иммунные свойства организма (A. Xu, 1991; A.B. Dietz, M. Georges, 1992). В отношении гена соматотропина такие сведения в литературе отсутствуют. Известно лишь о влиянии этого гена на рост и живую массу животного, а также на содержание жира и белка в молоке коров (R. Grochowska et al., 2001; И.В. Лазебная и др., 2012).

Материалы исследований, представленные в разделах 2.2.4 и 2.2.6, о свойствах стабильности молочных белков при заболеваемости маститом коров с разными генотипами по локусам β -Cn, к – Cn, β – Lg, bLTF, bPRL и bGH являются совершенно новыми и не имеют аналогии, поскольку в научной литературе об этих свойствах молочных белков сведения отсутствуют.

Таким образом, нами выполнены новые исследования в области молочного скотоводства, при этом получены материалы, способствующие повышению эффективности отбора животных по резистентности к маститу путем использования ген - маркеров в локусах β -Cn, к – Cn, β – Lg, bLTF, bPRL и bGH.

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 концентрация сывороточных белков (до 60 %).

2. При мастите вымени наибольшим изменениям в основном подвергаются главные белки молока: αs_1 -, β -, к - , αs_2 - 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 анормальную 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 к – казеинов, в меньшей степени с β – лактоглобулином. Маститу более устойчивы коровы – гетерозиготы с

генотипом АВ β - и к – казеинов, этой болезни в большей степени подвержены гомозиготы АА.

6. Генотипы коров по локусам β -Cn, к – Cn 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 АА и АВ. При этом преимуществом обладал генотип АА.

8. На основе результатов исследований можно утверждать, что генотипы по локусам bLTF, bPRL и bGH также, как генотипы β -Cn, к – 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, к – 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 АА и ВВ, чем гетерозиготы АВ.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

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 критерий оценки генотип коров по локусам β -Cn, к – 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 СОКРАЩЕНИЙ

M – средняя арифметическая

m – ошибка

σ – среднее квадратическое отклонение

± – само отклонение

Cv – коэффициент вариации

t – критерий достоверности

p – достоверность

Σ – сумма

n – количество животных

КРС – крупный рогатый скот

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

п.н. – пара нуклеотидов (base pair, b.p.)

bGH – ген гормона роста (Bovine Growth Hormone)

bPRL – ген пролактина (Bovine Prolactin Gene)

bLTF– ген лактофферин (Bovine Lactotransferrin Gene)

QTL –локусы количественных признаков (Quantitative Trait Loci)

МБА – NN – метиленбисакриламид

ПСА – персульфат аммония

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота (deoxyribonucleic acid, DNA)

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

ТЕМЕД – N,N,N’,N’ – тетраметилэтилендиамид

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдесамед, Д. Субклинический мастит у коров в послеродовой период (верификация диагноза и терапия): дис. … канд. биол. наук: 06.02.06 / Абдесамед Далия. - Саратов, 2014. – 122 с.

2. Абдрахманов, Т. Ж. Разработка способов диагностики, терапии, профилактики послеродового гнойно-катарального эндометрита и субклинического мастита у коров: дис. … д-ра вет. наук: 16.00.07 / Абдрахманов Талгат Жунусович. – Астана, 2002. – 300 с.

3. Авдеенко, В. С. Рекомендации по диагностики, терапии и профилактики мастита у коров / В. С. Авдеенко // Саратов. - 2009. – 71 с.

4. Авдеенко, В. С. Новый подход к патогенезу и лечению заболеваний молочных желез у животных / В. С. Авдеенко // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г.А. Черемисова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер. – Воронеж: Истоки. - 2012. – С. 28–31.

5. Акназаров, Б. К. Профилактика маститов и послеродовых заболеваний матки у коров / Б. К. Акназаров, М. М. Джангазиев, О. С. Ибраимов // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. В.А. Акатова. – Воронеж: Истоки. -2009. – С. 38–41.

6. Алиев, А. Ю. Лечебная и профилактическая эффективность и фармакологические свойства доксимаста при субклиническом мастите у коров: дис. … канд. вет. наук: 16.00.07, 16.00.04 / Алиев Аюб Юсупович. – Воронеж, 2007 – 126 с.

7. Анакина, Ю. Г. Анализ зарубежных программ борьбы с маститом коров / Ю. Г. Анакина. – М., 1989. – 13 с.

8. Арнаут, Е.А. Использование метода ПЦР-ПДРФ для выявления наследуемых генотипов в популяциях крупного рогатого скота, разводимых на Украине // Материалы 7-ой международной научной конференции-школы. - Дубровицы.- 2008. С. 110-114.

9. Афанасьев, М.П. Генетическая структура, белковый состав и технологические свойства молока холмогорской, венгерской голштино-фризской пород скота и их помесей: автореф. дис. … канд. биол. наук: 06.02.01 / Афанасьев Михаил Павлович. -Казань, 1996. – С. 14-15.

10. Ахметов, Т.М. Использование методов маркер-вспомогательной селекции в молочном скотоводстве республики Татарстан: автореф. дис. …д-ра. биол. наук: 06.02.01 / Ахметов Тахир Мунавирович. - Казань, 2009. - 46 с.

11. Багманов, М.А. Этиологические факторы мастита коров /М.А. Багманов, Ю.Б. Никулыпина //Вестник РАСХН. Москва. - 2003. - С. 39-41.

12. Баймишева, Д.Ш. Факторы, обусловливающие возникновение маститов / Д.Ш. Баймишева // Зоотехния. -2007. -№ 8. - С. 22 -24.

13. Балацкий, В.А. Генетический полиморфизм соматотропина и ассоциация его аллелей с количественными признаками животных /В.А. Балацкий // Сельскохозяйственная биология. - 1998. - № 4. - С.43-54.

14. Балковой, И. И. Биологические принципы лечения электромагнитным полем УВЧ коров при маститах / И. И. Балковой, В. П. Иноземцев, А. Г. Самоделкин // Ветеринария. – 1993. – № 6. – С. 40–43.

15. Балодис, М. Производство молока по евростандартам – это реально / М. Балодис // Переработка молока. – 2005. – № 10. – С. 26-27.

16. Барабанщиков, Н.В. Молочное дело / Н.В. Барабанщиков. – М.: Колос, 1983. – 414 с.

17. Барабанщиков, Н. В. Молочное дело / Н.В. Барабанщиков. -М.: Агропромиздат, 1990.- 351 с.

18. Баркова, А. С. Ультразвуковое исследование молочной железы высокопродуктивных коров в норме и при патологии / А. С. Баркова, А. Г. Баранова, Ю. Г. Смирнов // Современные проблемы ветеринарного акушерства

и биотехнологии воспроизведения животных: материалы Междунар.науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г. А. Черемисова и 50летию созд. Воронежской школы вет. акушер., – Воронеж: Истоки, 2012. – С. 88–91.

19. Башаева, Д.В. Термоустойчивость коровьего молока, ее генетическая и паратипическая изменчивость: автореф. дис. … канд. биол. наук: 06.02.07 / Башаева Диана Валерьевна. – Казань, 2010. - 22 с.

20. Болгов, А.Е. Селекция молочного скота по продуктивным и технологическим признакам на Европейском Севере СССР // автореф. дис. д. с.-х. наук / Болгов А.Е. - Ленинград, 1985. - 36 с.

21. Болгов, А.Е. Повышение резистентности крупного рогатого скота к маститу /А.Е. Болгов, Е.П. Карманова, Л.Н. Муравья, В.Е. Макарова // Петрозаводск: Петрозавод. гос. Ун-т. - 1996. -182 с.

22. Болдырев, Е. П. Эффективность квантовой терапии коров при маститах: дис. … канд. вет. наук: 16.00.07 / Болдырев Евгений Павлович. – Саратов, 2001. – 161 с.

23. Бороздин Э.К., Клееберг К.В., Зимин Г.Я. Устойчивость крупного рогатого скота к маститу / Э.К. Бороздин, К.В. Клееберг, Г.Я.Зимин //. ВНИИплем. Москва. - 1993. - 207с.

24. Брылин А.П., Бойко А.Б. Программа по борьбе с маститами и улучшению качества молока /А.П. Брылин, А.Б. Байко // Ветеринария. -2006. - № 5. - С. 9 -11.

25. Буткус, К.Д. Влияние примеси анормального (маститного) молока на процессы свертывания при использовании различных молокосвертывающих ферментов // Комплексная промышленная переработка молока: Тезисы докладов научно-технической конференции. - Ставрополь, 1977.- С. 39 -40.

26. Бычкова В.А. Влияние мастита на состав молока и пригодность для переработки / В. А. Бычкова, Ю. Г. Мануилова // Научное обеспечение развития АПК в современных условиях: материалы Всерос. науч.-практ. конф. / ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА. - Ижевск, 2010. - №. 2. - С.113-117.

27. Васильев, Н.Т. Лейкозы сельскохозяйственных животных/ Н.Т. Васильев, Н.В. Румянцев, В.З. Черняк //. – М.: Колос, 1966. – 240 с.

28. Вачевский, С. С. Сравнительная характеристика комплексной терапии коров при маститах / С. С. Вачевский, Н. Л. Вачевская, А. И. Буданцев // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., – Воронеж: Европолиграфия, 2005 – С. 45–48.

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

30. Гавриш, В.Г. Применение рефлексотерапии при акушерско-гинекологических заболеваний у коров / В .Г. Гавриш // Экологические проблемы патологии, фармакологии и терапии животных. Междунар. коорд. совещание. - Воронеж, 1997. – 282 с.

31. Галлямова, А.Р. Полиморфизм каппа-казеина в связи с продуктивностью крупного рогатого скота бестужевской и черно-пестрой пород: автореф. дис. … канд. биол. наук: 06.02.01 / Галлямова Альбина Рифовна. -Уфа, 2008. - 20 с.

32. Ганиев, А. А. Эффективность озонотерапии в комплексе лечебных процедур при различных формах мастита у коров: дис. канд. вет. наук:16.00.07 / Ганиев Азат Атгамович. – Саратов, 2003 – 176 с.

33. Гамаюнов, В. М. Терапевтическая эффективность эроксимаста при серозно-катаральном мастите у лактирующих коров / В. М. Гамаюнов, А. Х. Амиров // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. В.А. Акатова,– Воронеж: Истоки, 2009. – С. 124–127.

34. Глазко, В.И. Введение в геномную селекцию / В.И. Глазко, Г.Ю. Косовский, Т.Т. Глазко // М.: Приятная компания, 2012. - 258 с.

35. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов / К.К. Горбатова // Санкт-Петербург: ГИОРД, 2001. - 320 с.

36. Горбатова, К.К. Физико-химические и биохимические основы производства молочных продуктов / К.К. Горбатова // СПб. ГИОРД., 2004. – С. 242-246.

37. Горбатова, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов/ К.К. Горбатова. // Санкт-Петербург, ГИОРД, 2004. – С. 312.

38. ГОСТ 23453-2014 «Молоко сырое. Методы определения соматических клеток».

39. Гроклод, Ф. Полиморфизм белков молока; некоторые биохимические и генетические аспекты // Материалы 16-й Международ. конф. по группам крови и биохим. полиморфизму животных. - Л., 1979.-Т.1.- С.55-93.

40. Данилов, Н. Влияние генотипа коров на сыропригодность молока / Н. Данилов, А. Шендаков, В. Крюков // Молочное и мясное скотоводство. - 2003. -№ 8. - С. 16-18.

41. Данкверт, А. Пути улучшения качества молока / А. Данкверт, Л. Зернаева // Молочное и мясное скотоводство. – 2003. – № 8. – С. 2–7.

42. Дегтерев, Г.П. Совершенствование системы ведения молочного животноводства в России / Дегтерев Г.П., Машошин В.Л. // Переработка молока. – 2005. – №10. – С. 27-28.

43. Демидова Л.Д. Ветеринарно-санитарные основы борьбы с мастиюм коров и повышение санитарного качества молока: автореф. дис. … д-ра. вет. наук:16.00.03 /Демидова Лидия Дмитриевна. -М., 1997.-49 с.

44. Дикке, Г. Б Применение электромагнитных волн миллиметрового диапазона в гинекологической практике / Г. Б. Дикке // Миллиметровые волны в биологии и медицине.- 2000. – № 3. – С. 43–46.

45. Диланян З. Х. Молочное дело. изд. 3-е, перераб. и доп. / З.Х Диланян //- М.: Колос, 1979. - 386 с.

46. Долматова, И.Ю. Полиморфизм гена гормона роста крупного рогатого скота в связи с молочной продуктивностью / И.Ю. Долматова, И.Г. Ильясов // Генетика. – 2011. – Т. 47, № 6. – С. 814-820.

47. Дьяченко, П.Ф. Технология молока и молочных продуктов/ П.Ф.Дьяченко // - М.: Изд. "Пищевая промышленность", 1974. – С. 347-348.

48. Ельчанинов, В.В. Номенклатура и биохимические свойства казеинов коровьего молока. Каппа-казеин / В.В. Ельчанинов, А.В. Кригер // Сыроделие и маслоделие. -2008. -№5. - С. 53-56.

49. Епишко Т.И. ДНК-диагностика возбудителей и маркеры генетической устойчивости к маститам/ Епишко Т.И., Епишко О.А., Скуловец М.В., Яцина О.А.// Сел. хоз-во – проблемы и перспективы / Гродн. гос. аграр. ун-т – Гродно. - 2010. –Т. 1. – С. 63-69.

50. Желавский, Н. Н. Изменение функционального состояние клеточного иммунитета и апоптоз иммунокомпетентных клеток при мастите коров / Н. Н. Желавский // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы Междунар. науч.-практ.конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г.А. Черемисова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер. – Воронеж: Истоки, 2012. – С. 201–204.

51. Закирова, Г.М. Белковый состав и технологические свойства молока у помесных коров холмогорская х голштинская разного генотипа: автореф. дис. … канд. биол. наук: 02.06.02/ Закирова Галима Мухтаровна. – Казань, 2002. – С. 15-16.

52. Зверева, Г.В., Берченко Н.В. Оценка молока при маститах и эндодермитах // Доклады всесоюзной конференции по молочному делу // М.: Гос. издательство сельскохозяйственной литературы. - 1958.- С.463 -469.

53. Зверева Г.В. Профилактика мастита у коров в различные периоды функционального состояния вымени / Г.Ф. Зверева //Ветеринария.-1979.- № 9, - С.49-51.

54. Зимина Т. Школа экономики / Т.Зимина //Животноводство России. - 2012. -№ 1.

55. Зиновьева Н. А., Кленовицкий П. М., Гладырь Е. А., Никишов А. А. Современные методы генетического контроля селекционных процессов и сертификация племенного материала в животноводстве: Учеб. Пособие / Н.А. Зиновьева, П.М. Клиновицкий, Е.А. Гладырь // М.: РУДН, 2008. - 120 с.

56. Зиновьева, Н.А. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных / Н.А. Зиновьева, О.В. Костюнина, Е.А. Гладырь, А.Д. Банникова, В.Р. Харзинова, П.В. Ларионова, К.М. Шавырина, Л.К. Эрнст // Зоотехния. -2010. - № 1. С. 8 -10.

57. Золотин, А.Ю. Формирование качества молока / А.Ю. Золотин, В.П. Тищенко, Е.В. Малышева // Молочная промышленность. – 2003. - № 1. – С. 41 - 43.

58. Ивашура, А.И. Система мероприятий по борьбе с маститами коров /А.И. Ивашура // М.: Росагропромиздат, 1991. - 240с.

59. Идельбаев, И. Разработка комплексного способа лечения коров при различных формах мастита с использованием иммуномодуляторов: автореф. дис. … канд. вет. наук: 16.00.07/ Идельбаев Исенбай. - Саратов. - 2007. – 21 с.

60. Исламов, Р.Р. Белковый состав молозива у коров молочных пород и его влияние на рост новорожденных телят: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 06.02.01 / Исламов Руслан Рустамович. – Казань, 2007. – 23 с.

61. Калашникова Л.А. ДНК-технология оценки сельскохозяйственных животных / Л.А Калашникова, И.М. Дунин, В.И. Глазко с соавт. // М.: ВНИИплем. -1999. -148с.

62. Калашникова, Л.А. Селекция XXI века: использование ДНК-технологий / Л.А. Калашникова, И.М. Дунин, В.И. Глазко // Московская область, Лесные Поляны, ВНИИплем. -2000. – 31с.

63. Калашникова, Л.А. Селекция XXI века: использование ДНК-технологий / Л.А. Калашникова, И.М. Дунин, В.И. Глазко // М.: ФГНУ «ВНИИплем». 2003. 438 с.

64. Калмыкова О.А. Наследственная обусловленность резистентности к маститу // Зоотехния, 2000. № 4. С. 11-12.

65. Камалдинов, И.Н. Белковый состав молока у мясных пород скота, его связи с признаками экстерьера и развития животных дис. … канд. биол. наук: 06.02.07 / Камалдинов Ильнур Наилевич. - Казань, 2013. – 157 с.

66. Капелинская, Т.В. Гены казеинов Bos. Taurus. Выделение и характеристика гена каппа-казеина / Т.В. Капелинская [и др.] // Генетика. -1989. - Т. 25 (1). - С. 15-23.

67. Карташова, В. М. Маститы коров /В.М. Карташова, А. И. Ивашура // М.: Агропромиздат. -1988. - 256с.

68. Карташова, В. М. Прогнозирование возникновения мастита у коров с помощью математического моделирования / В. М. Карташова, В. В. Косянчук, Ю. М. Скороходов // Ветеринария. – 1992. – № 3. – С. 43–44.

69. Карташова, В. М. Метод контроля молочных стад на заболеваемость маститом / В. М. Карташова, О. Р. Иванова // Ветеринария. – 1993. – № 8. – С. 39–41.

70. Кийко, Е.И. Геногеография вариантов каппа-казеина и дефицита лейкоцитарной адгезии у различных пород крупного рогатого скота: автореф. дисс. канд.: 06.02.01, 03.00.15. / Кийко Елена Ильинична. - Дубровицы, 2009. - 103 с.

71. Кириленко, С.Д. Идентификация генотипов по каппа-казеину и BLADмутации с использованием полимеразно-цепной реакции у крупного рогатого скота / С.Д. Кириленко, В.И. Глазко // Цитология и генетика. -1995.- № 6. - С. 60-62.

72. Климов, Н. Т. Экспериментальная и клиническая фармакология лекарственных препаратов на основе диоксидина и доксициклина и их эффективность при мастите у коров: автореф. дис. … д-ра вет. наук: 16.00.04., 16.00.07 / Климов Николай Тимофеевич. – Воронеж, 2009. – 40 с.

73. Климов, Н. Т. Эффективный комплекс мероприятий в борьбе с маститом коров / Н. Т. Климов, В. А. Париков, В. И. Зимников // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию со дня рождения проф. В.А. Акатова. – Воронеж: Истоки, 2009. – С. 212–214.

74. Климов, Н. Т. Современный взгляд на проблему мастита у коров / Н. Т. Климов, С. С. Першин // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы Междунар. науч.-практ.конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г.А.

Черемисова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер. – Воронеж:Истоки, 2012. – С. 237–241.

75. Коба, И. С. Лечение мастита у коров без антибиотиков / И. С. Коба, М. Б. Решетка // Эффективное животноводство. – 2013. – № 3(89). – С. 22–23.

76. Козлова, О.В. Биологически активные пептиды из белков молока / О.В. Козлова, И.С. Разумникова, О.О. Бабич, А.Ю. Просеков // Молочная промышленность. – 2010. - № 9. – С. 68-69.

77. Колчев А., Симанович О. Влияние концентрации соматических клеток на качественные и технологические свойства молока/ А.Колчев, О.М Симанович // Главный зоотехник. -2010. - № 3. - С.27-30.

78. Конопельцев, И. Г. Влияние озонированного рыбьего жира на молочную железу здоровых коров и на качество её секрета при остром катаральном воспалении / И. Г. Конопельцев, Е. В. Видякина // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж: Европолиграфия, 2005 – С. 103–106.

79. Копытин, В. К. Мастит у коров / В. К. Копытин, О. Г. Новиков // Ветеринария. – 1999. – № 2. – С. 12–14.

80. Коренник, И.В. Соматические клетки в молоке / И.В. Коренник // Ветеринария. – 2010. - № 6. – С. 10 - 13.

81. Коновалов, Д.С. Сравнительная терапевтическая эффективность лечения клинических маститов у коров /Д.С. Коновалов //Актуальные вопросы ветеринарной медицины: Материалы Междунар. научно-практич. конф.: Т. 2. Ульяновск. -2003. -С.114.

82. Кузнецов, А.В. Молочная продуктивность и технологические свойства молока голштинизированного скота черно-пестрой и бестужевской пород в зависимости от сезона отела дис. ... канд. с.-х. наук: 06.02.01 / Кузнецов Алексей Виталиевич. – Кинель, 2011. – 164 с.

83. Кузьмин, Г. Н. Эффективность новых антимикробных препаратов при лечении мастита у коров / Г. Н. Кузьмин // Сб. науч. тр. Воронежского сельхозинститута. Воронеж. - 1990. – С. 49–54.

84. Лазебная И.В. Полиморфизм генов гормона роста и пролактина в связи с признаками качества молока у крупного рогатого скота ярославской пароды / И.В. Лазебная, О.Е. Лазебный, В.Ф. Максименко, Г.Е. Сулимова // Сельскохозяйственная биология. – 2012. - № 2. – С. 39 - 43.

85. Ларина С.М., Мушкарёв В.Н., Яковленко Л.В. Причины выбытия коров из стада в условиях промышленной технологии / С.М.Ларина, В.Н. Мушкарёв, Л.В. Яковленко // Селекция с.-х. животных на устойчивость к болезням и повышение резистентности в условиях промышленной технологии. М. - 1988. Вып.8, С. 11-12.

86. Лебедева, М. Г. Характеристика иммунной системы коров с разным иммунным статусом / М. Г. Лебедева, А. Ф. Лебедев, А. А. Евглевский // Тезисы докладов науч.-практ. конф. КГСХА. Кострома. - 2003. – С. 145–147.

87. Левина, Г.Н. . Молозиво высокопродуктивных коров и резистентность их приплода / Г.Н. Левина, Б.С. Иолчиев, М.М. Кондрахин, Л.А. Никольская // Зоотехния. – 2005. - № 8. – С. 16 - 17.

88. Леонова, М.А. Интенсификация селекционного процесса в животноводстве с использованием метода ПЦР /М.А. Леонова, А.Ю. Колосов, А.Е. Святогорова, А.В. Радюк, Н.Ф. Бакоев // Молодой учёный. – 2014. - №11(70). - С.172-175.

89. Логвинов Д. Д. Физиология и патология вымени у коров / Д.Д. Логвинов, Т.А. Чумакова // Киев. - 1971. - 124 с.

90. Логвинов, Д. Д. Болезни вымени у коров /Д.Д. Логвинов, С. Б. Солодовников, Н. К. Сидоренко // Киев. Урожай. - 1979. – 112 с.

91. Малафеева, Т.В. От чего зависит качество? / Т.В. Малафеева // Молочная промышленность. – 2003. - № 4. – 39 с.

92. Маурер, Г. Диск-электрофорез: Теория практика электрофореза полиакриламидном геле // Г. Маурер / Пер. с нем. М.: Мир. – 1971. – С. 137-138.

93. Машуров, А.М. Генетические маркеры в селекции животных / А.М Машуров // Наука. – 1980. – С. 278-279; 315.

94. Меркурьева, Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве/ Е.К. Меркурьева // М.: Колос. – 1977.- С. 86-94.

95. Мещеряков, Н. П. Сравнительная экспериментальная фармакология и клиническое применение адаптогенов в ветеринарии: автореф. дис. … д-ра вет.наук: 16.00.01, 16.00.04 / Мещериков Николай Прокофьевич. – Воронеж, 2004. – 40 с.

96. Михайлова, М.Е. Полиморфные варианты генов соматотропинового каскада bPit-1 и bPRL для ДНК-типирования признаков молочной продуктивности крупного рогатого скота голштинской породы/ М.Е. Михайлова, Е.В. Белая // Известия национальной академии наук Белоруссии. – 2011. – № 2. – С. 49-53.

97. Муравья, Л.Н. Селекционно-генетические факторы повышения устойчивости айрширского скота к маститу: автореф. дис. … канд. с.-х. наук: 06.02.01 / Муравья Лариса Николаевна. - Санкт-Петербург-Пушкин, 1992. - 20 с.

98. Мутовин, В. И. Борьба с маститами коров /В.И. Мутовин // М: Колос. - 1974. - 254 с.

99. Мухаметгалиев, Н.Н. Использование генетической и аратипической изменчивости белкового состава молока коров для улучшения технологических свойств сырья и повышения качества молочных продуктов : автореф. дис. …д-ра. биол. наук: 06.02.01 / Мухаметгалиев Нурвахит Нургалиевич. - Казань, 2006. - 47 с.

100. Мухаметшина, А.Р. Индивидуальные и породные особенности коров по белковому составу и технологическим свойствам молока в период завершения лактации: дис. … канд. биол. наук: 06.02.07. /Мухаметшина Алия Ринатовна. – Казань, 2009. – 152 с.

101. Нургалиев, М.Г. Генеалогические схемы и каталог быков-производителей черно-пестрой породы, татарстанского типа и мясных пород скота / М.Г. Нургалиев, Р.А. Хаертдинов // Казань: Центр инновационных Технологий - 2007. – 220 с.

102. Нуртдинов, М.Г. Развитие племенного молочного скотоводства в Татарстане / М.Г. Нуртдинов [и др.] - Казань: Центр инновационных технологий. - 2006. - 132 с.

103. Овчинникова, О.Е. Свойства гидролизатов β – лактоглобулина коровьего молока / О.Е. Овчинникова, А.В. Ананьева, М.И. Губанова // Молочная промышленность. – 2011. - № 7. – С. 76-77.

104. Олейник А. Мастит, мастит, мастит / А. Олейник // Молочное и мясное скотоводство. -2006. -№ 7. - С. 26-29.

105. Париков, В.А. Разработка и совершенствование методов диагностики терапии и профилактики мастита у коров: дисс. в форме научного доклада доктора вет. наук / Париков В. А. - Воронеж, 1990. – 52 с.

106. Париков, В. А. Состояние и перспективы научных исследований по борьбе с маститом у коров / В. А. Париков, В. Д. Мисайлов, А. Г. Нежданов // Актуальные проблемы болезней органов размножения и молочной железы у животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф. – Воронеж: Европолиграфия, 2005. – С. 3–8.

107. Петров, А. Н. Разработка и изучение механизмов действия гирудотерапии при мастите у коров: дис. … канд. биол. наук: 16.00.04 / Петров Алексей Николаевич. – Мичуринск, 2000. – 148 с.

108. Плохинский, Н.А. Биометрия / Н.А. Плохинский// М.: Московский университет. -1970. – 104 с.

109. Подберезный, В. В. Влияние эндобактерина на иммунный статус организма и паренхиматозные органы у коров при мастите / В. В. Подберезный // С. -х. биология: серия биология животных. – 1994. – № 6. – С. 106–111.

110. Попов, JI.K. Генотипические аспекты мастита у коров и его фитотерапия: автореф. дис. …д-ра вет. наук: 16.00.01 / Попов Леонид Кирилович. – Воронеж, 1998. - 40с.

111. Попов JI.K. Гирудотерапия при скрытом мастите коров /Л.К. Попов, А.Н. Петров //Ветеринария. -1999.- №10.- С. 36-37.

112. Попов Л.К. Лечение скрытого мастита у коров /Л.К. Попов, Н.П. Смалин, Х.А. Райд //Зоотехния.- 1999.- №5. - С.26-27.

113. Прошин С.Н. Исследование полиморфизма гено b LTF и GDF-9 у млекопитающих (Bos Taurus L) методом пцр-пдрф анализа для решения задач

фармакогенетики / С. Н. Прошин, Е.С. Усенбеков, Е.Б. Шакибаев, Ж.К. Бименова, Р.М. Жумаханова, Р.И. Глушаков, Н.В. Дементьева // Педиатр. - 2015. -Т 6. - №2. - С.55-58.

114. Раманаускас Р., Аленчикене Г., Движение В. Влияние некоторых протеаз на процесс сычужного свертывания молока / Р. Раманаускас, Г. Аленчикене // Научные и практические аспекты совершенствования традиционных и разработка новых технологий молочных продуктов: сборник научных трудов Волгоградской сельскохозяйственной академии Вологда-молочное.- ВГСХА. - 2001. -.89 с.

115. Решидов П.З. Вопросы патогенеза стафилококковых маститов коров, овец и коз: автореф. дис. … канд. вет. наук / Решидов П .З. - М., 1969. - 20 с.

116. Рогожин В.В. Биохимия молока и молочных продуктов / В.В. Рогожин // СПб.: ГИОРД. - 2006. - 320 с.

117. Рогожина, Н. В. Биопотенциал биологически активных точек у коров при разном функциональном и патологическом состоянии молочной железы/ Н. В. Рогожина, Е. Н. Скребнев // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы Междунар. науч.-практ.конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г.А. Черемисова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер. – Воронеж: Истоки, 2012. – С. 402–405.

118. Рой, Д.Х. Выращивание телят// Пер. с англ. Г.Н. Жидкоблиновой, Д.В. Карликова / М.: Колос. – 1982. – 470 с.

119. Роман, Л. Г. Патогенетические механизмы и диагностико-терапевтический алгоритм контроля постлактационного мастита у коров: автореф. дис. … д-ра вет. наук / Роман Л.Г. – Новочеркаск, 2011. – 47 с.

120. Рубцов В.И. Мастит и воспроизводительная функция коров/ В.И. Рубцов// Ветеринария. - 1980. - № 6. - С. 51-52.

121. Савостин, А. Н. Антимикробные препараты и мастит коров/ А. Н. Савостин// Ветеринария. – 1983. – № 11. – С. 52–53.

122. Свириденко, Г. М. Молоко-сырье – первая активная точка риска при производстве любых молочных продуктов/ Г.М. Свириденко// Основные направления повышения качества молочных продуктов : материалы всерос. науч.практ. конф. – Адлер: Изд-во АПМП «Молоко», 2004. – С. 65-73.

123. Сайфутдинов, К.Ф. Наследственная изменчивость относительного содержания молочных белков и ее влияние на технологические свойства молока коров: автореф. дисс. канд. биол. наук: 06.02.01 / Сайфутдинов К.Ф.. – Казань, 1998. – С. 11-12.

124. Свириденко Г.М. Маститы крупного рогатого скота /Г.М. Свириденко, Е.Г. Семова // Молочная промышленность. 2003. - № 10. — С. 18-20.

125. Семина, Л.К. Использование гомеопатических средств при лечении мастита у коров / Л.К. Семина, Т.Г. Ворошилова, Е.А. Рыжакина // Современные проблемы ветеринарного обеспечения репродуктивного здоровья животных: материалы Международной научно–практической конференции, посвященная 100-летию со дня рождения профессора В.А. Акатова. – Воронеж: Истоки, 2009. – С. 337–339.

126. Сиренко С.В., Сафронов С. Л. Лечение коров больных маститом /С.В. Сиренко, С.Л. Сафронов // Аграрный вестник Урала. – 2006. - № 1(31), - С 55-56.

127. Слободяник, В.И. Иммунологические аспекты патогенеза, новые принципы и средства лечения и профилактики мастита у коров: автореф. дис. … д-ра вет. наук: 16.00.07 / Слободяник Виктор Иванович. – Воронеж, 1994. - 43с.

128. Слободяник, В. И. Иммуномодуляторы в ветеринарном акушерстве/ В. И. Слободяник, Е. В. Зверев, С. П. Жуков// Международный вестник ветеринарии: Тематический выпуск «Новые аспекты биотехнологии репродукции животных».СПб. - 2008. – № 3. – С. 23–26.

129. Слободяник, В. И. Иммунобиологические аспекты физиологии и патологии молочной железы коров/ В. И. Слободяник, В. А. Париков, Н. Т. Климов// Таганрог: Изд. центр Таганрог. гос. пед. ин-та. - 2009. – 276 с.

130. Смазнова, И.А. Характеристика аллельного полиморфизма гена BoLA-DRB3, влияющего на устойчивость к лейкозу, и генов молочной

продуктивности у быков-производителей : дис. ... канд. биол. наук: 03.02.07 / Смазнова Ирина Александровна. – Санкт-Петербург, 2014. -20 с.

131. Снопова, А.А. Пути повышения белковости молока / А.А. Снопова // М.: Россельхозиздат. - 1986. – 82 с.

132. Солдатов, А. П. Изменение активности некоторых ферментов при мастите коров / А. П. Солдатов, Н. И. Дубинская, В. Н. Остроухова // Докл. ВАСХНИЛ. – М. - 1991. – № 7. – С. 39–41.

133. Солдатов А.П. Селекция молочного скота на устойчивость к маститу / А.П. Солдатов, В.И. Остроухова, Н.И. Дубницкая // Сельскохозяйственная биология. – 1992. – № 6. – С. 18 - 25.

134. Студенцов А.П. Ветеринарное акушерство и гинекология / А.П. Студенцов // М. -1949. -308с.

135. Сулимова, Г.Е. ДНК-маркеры в изучении генофонда пород крупного рогатого скота / В кн. «Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства России» // под ред. И.А. Захаров. – М.: Наука. - 2006. – С. 138-166.

136. Супрович Т.М., Влизло В.В. Использование имунногенетических маркеров для выявления коров резистентных или чувствительных к маститу/ Т.М. Супрович, В.В. Влизло // Биология животных / Институт биологии животных Национальной академии аграрных наук Украины (Львов). - 2013. – Т. 15, № 4. – С. 119-127.

137. Тараненко А.Г. Физиологические основы повышения молочной продуктивности / А. Г. Тараненко. - М. : Россельхозиздат, 1986. - 204 с.

138. Тепел, А. Химия и физика молока / А.Тепел // М.: Пищевая промышленность. - 1979. - С.159-206.

139. Тюлькин, С.В. Полиморфизм гена лактоферрина у быков-производителей в Республике Татарстан / С.В. Тюлькин, А.В. Муратова, И.И. Хатыпов, [и др.] // Актуальные вопросы ветеринарной медицины. – Санкт-Петербург. - 2015. - № 4 (28). – С. 7-10.

140. Удина И.Г., Туркова С.О. и др. Полиморфизм гена пролактина (микросателлиты, ПЦР-ПДРФ) у крупного рогатого скота/ И.Г.Удина, С.О. Туркова // Генетика. -2001. - № 4.- Т.37.- С.511-516.

141. Уманский, М.С. Проблемы анормального молока и разработка метода его контроля/ М.С. Уманский // Новые технологии в научных исследованиях и образовании: материалы всероссийской научно-практической конференции. - Юрга. - 2001.- С. 12.

142. Федотова Н.В. Эффективность использования молекулярно-генетических маркеров в селекции коров черно-пестрой породы по молочной продуктивности и устойчивости к маститам: автореф. дис. … канд. с-х. наук: 06.02.07 /Федотова Наталья Вечеславовна. - п. Лесные Поляны Московской обл. . - 2011. - 20с.

143. Хабибрахманова Я.А., Калашникова Л.А. ДНК-полиморфизм гена гормона роста у холмогорской породы крупного рогатого скота / Хабибрахманова Я.А., Л.А. Калашникова // Материалы 7-ой международной научной конференции-школы. -Дубровицы. - 2008. – 240 с.

144. Хабибрахманова, Я.А. Полиморфизм генов молочных белков и гормонов крупного рогатого скота: автореф. дис. … канд. биол. наук: 06.02.01 / Хабибрахманова Язиля Яминовна. - Лесные Поляны, Моск. обл., 2009. - 20 с.

145. Хаертдинов, Р.А. Методические рекомендации по проведению качественного и количественного анализа белков молока методом электрофореза в полиакриламидном геле/ Хаертдинов Р.А. // М. - 1989. – С.32-33.

146. Хаертдинов, Р.А. Содержание белков в молоке коров в зависимости от их породной принадлежности / Р.А. Хаертдинов // Доклады ВАСХНИЛ. - 1990.- № 5.- С. 52-55.

147. Хаертдинов, Р.А. Использование генофонда белков молока в селекции крупного рогатого скота // автореф. дис. … доктора биол. наук / Хаертдинов Равиль Анварович . - С.-П.: Пушкин, 1992. - С. 33-34.

148. Хаертдинов, Р.А. Селекция на повышение белковости и улучшение технологических свойств молока/ Р.А. Хаертдинов, А.М. Гатауллин //. Казань. - 2000. - 132с.

149. Хаертдинов Р.А. Крупный рогатый скот Татарстанский / Р. А. Хаертдинов [и др.] // Патент № 3037 на селекционное достижение от 10.03.2006 Госкомиссия РФ по испытанию и охране селекционных достижений, 2006. - 2с.

150. Хаертдинов, Р. Линейная оценка экстерьера животных Татарстанского типа / Р. Хаертдинов М. Нургалиев, И. Закиров // Достижения науки и техники АПК. - 2007. - №4. - С. 49 - 50.

151. Хаертдинов, Р.А. Белки молока / Р.А. Хаертдинов, М.П. Афанасьев, Р.Р. Хаертдинов.–Казань: Издательство «Идел-Пресс». –2009. –256 с.

152. Харисов, М.М. Белковый состав, технологические свойства и качество молочной продукции у чистопородного скота и помесей бестужевская × айрширская разного генотипа: дис. … канд. биол. наук: 06.02.01 / Харисов Марат Мансурович. – Казань, 2003, -136 с.

153. Хатами, С.Р. ДНК-полиморфизм генов гормона роста и пролактина у ярославского и чёрно-пёстрого скота в связи с молочной продуктивностью / С.Р. Хатами, О.Е. Лазебный, В.Ф. Максименко, Г.Е. Сулимова // Генетика. – 2005. – Т. 41, № 2. – С. 167-173.

154. Черепахина Л.А., Выявление основных инфекционных агентов скрытого мастита у лактирующих коров / Л.А. Черепахина // Зоотехния. -2008. -№ 7. -.23 с.

155. Чурсин, А.В. Клинико-фармакологическая оценка эффективности комплексной терапии мастита у лактирующих коров: автореф. дис. канд. вет. наук: 16.00.04, 16.00.07 / Чурсин Александр Владимирович. – Воронеж, 2009. - 21с.

156. Шахов, А. Г. Эколого-адаптационная стратегия защиты здоровья и продуктивности здоровья в современных условиях / А. Г. Шахов, В. С. Бузгана, О. Г. Новиков // Материалы науч.-практ. конф. – Воронеж. - 2001. – 206 с.

157. Шахов, А.Г. Неотложные задачи профилактики мастита у коров /А.Г. Шахов, В.Д. Мисайлов, А.Г. Нежданов и др. // Ветеринария. – 2005. - №8. - С. 3-7.

158. Шипилов, В. С. Профилактика болезней молочной железы у коров первотелок / В. С. Шипилов, В. П. Копытин // Молочное и мясное скотоводство. – 1988. – № 2. – С. 56–61.

159. Ширяев, С. И. Разработка и эффективность комплексного метода фармакопрофилактики мастита и послеродовых болезней у коров: дис. … канд. вет. наук: 06.02.06 / Ширяев Сергей Иванович. – Воронеж, 2010. – 130 с.

160. Шульга, Н. Динамика иммуноглобулинов в крови и молозиве коров после отёла / Н. Шульга, Т. Сокольникова, В. Шульга // Молочное и мясное скотоводство. – 2005. - № 1. –.24 с.

161. Эккерт, Р. Физиология животных: механизмы и адаптация: Кн. 1 / Р. Эккерт, Д. Рэнделл, Д. Огастин // М.: Мир. - 1991. – С. 353-354.

162. Эрнст Л.К. Молекулярно генетический анализ механизмов резистентности к лейкозам и маститам и продуктивности у крупного рогатого скота. Институт общей генетики им. Н.И Вавилова РАН (ИОГен РАН), отчет о НИР/НИОКР. Москва, 1998.

163. Akers, R.M. Prolactin regulation of milk secretion and biochemical differentiation of mammary epithelial cells in periparturient cows / R.M. Akers, D.E. Bauman, A.V. Capuco, G.T. Goodman, H.A. Tucker // Endocrinology. – 1981. – № 109. – P. 23-30.

164. Alexander, L.J. Isolation and characterization of the bovine κ-casein gene / L.J. Alexander, A.F. Stewart, A.G. Mackinlay, T.V. Kapelinskaya, T.M. Tkach, S.I. Gorodetsky // Eur. J. Biochem. 1988. V. 178. P. 395-401.

165. Andersen, H. J. Mastitis Pathogens. Contagious Pathogens / H. J. Andersen, L. H. Pedersen, F. M. Aarestrup, M. Chril // Journal of Dairy Science. – 2003. - № 86(4). - P. 1233–1239.

166. Aschaffenburg, R. Reviews of the progress of dairy science. Genetic variants of milk proteins: their breed distribution / R. Aschaffenburg // J. Dairy Research. - 1968. -№ 35. - P. 447 460.

167. Baranyi M. Genetic Polymorphism of Milk Protein in Hungarian Spotted and Hungarian Grey Cattle A Possible New Genetic Variants of β-lactoglobulin // M. Baranyi / J. Dairy Sci.- 1993.-№. 76.- P. 630-636.

168. Ben-Jonathan, N. Extra pituitary prolactin: distribution, regulation, functions, and clinical aspects / N. Ben-Jonathan, J.L. Mershon, D.L. Allen, R.W. Steinmetz // Endocr. Rev. – l996. – № 17. – P. 639-669.

169. Boettcher P.J., Van Doormaal B.J., Tools for selection for functional traits in Canada,Interbull / P.J. Boettcher, B.J. Van Doormaal //Bulletin. -1999. - № 23. –P. 29–39.

170. Berg, G. Genetic polymorphism P-lactoglobulin in relation of milk composition and cheesemaking properties / G. Berg, H. Bevenhuis, P.J. De Konihg // Brussels, Belgium; Int. Dairy Federat. -1990. - P. 123-133.

171. Biziulevicius, G. A. Food-protein enzymatic hydrolysates possess both antimicrobial and immunostimulatory activities: a cause and effect theory of bifunctionality / G. A. Biziulevicius, O. V. Kislukhina, J. Kazlauskaite & V. Zukaite // FEMS Immunology and Medical Microbiology. -2006.- № 46. - P. 131–138.

172. Boettcher P. J. Tools for selection for functional traits in Canada /. J. Boettcher and B. J. Van-Doormaal // Interbull, Bulletin. - 1999. – № 23, - P. 29-39.

173. Bole-Feysot, C. Prolactin (PRL) and its receptor: actions signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice / C. Bole-Feysot, V. Goffin, M. Edery, N. Binart, P.A. Kelly / Endocr Rev. – 1998. – V. 19, № 3. – P. 225-268.

174. Bouhallab S. and Biopeptides of milk: caseinophosphopeptides and mineral bioavailability / S. Bouhallab and D. Bouglé // Reprod. Nutr. Dev. -2004. – № 44.- P.493-498.

175. Bradley, A. J. Study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period / A. J. Bradley, M. J. Green // J. Dairy Sci. - 2000. - № 83. -P. 1957–1965.

176. Bradley, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease / A. J. Bradley // Vet J. - 2002. - № 164. - P. 116–128.

177. Bringe, N.A. Forces involved in the enzimatic and acidic coagulation of casein micelles/ N.A. Bringe // Development in Food Proteins. - London, Appl. Sc. Publish. - 1987. - P. 159-173.

178. Brown, M.A. Genotype x environment interactions in milk yield and quality in Angus, Brahman, and reciprocal-cross cows on different forage systems / Brown M.A., Brown A.H.Jr., Jackson W.G., Miesner J.R. // J-anim-sci. Savoy, IL: American Society of Animal Science. –2001. – July. – № 79 (7). – P. 1643-1649.

179. Brym, P. Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits / P. Brym, S. Kamiński, E. Wójcik // J. Appl. Genet. - 2005. - №.46 (2). - P.179-185.

180. Camper, S.A. Characterization of the bovine prolactin gene /S.A. Camper, D.N. Luck, Y. Yao, R.P. Woychik, R.G. Goodwin, R.H. Lyons, F.M. Rott-Man // DNA. - 1984. - № 3 (3). - P.237-249.

181. Cao, L. T. Efficacy of Nisin in Treatment of Clinical Mastitis in Lactating Dairy Cows / L. T. Cao, J. Q. Wu, F. Xie, S. H. Hu, Y. Mo // Journal of Dairy Science. - 2007.-№ 90(8). - P. 3980–3985.

182. Castillo-Juarez, H. Effect of herd environment on the genetic and phenotypic relationships among milk yield, conception rate, and somatic cell score in Holstein cattle / Castillo-Juarez H., Oltenacu P.A., Blake R.W. and others // J-dairy-sci. Savoy, Ill.: American Dairy Science Association. – 2000. – Apr. – № 83 (4). – P. 807-814.

183. Caroli A. Dairy intake and bone health: A viewpoint from the state of the art. / A. Caroli, A. Poli, D. Ricotta, G. Banfi, D. Cocchi // Journal of Dairy Science. – 2011. – V. 94. - № 11. – P. 5249-5262.

184. Chiba, H. Opioid antagonist peptides derived from κ-casein/ H. Chiba // J. Dairy Res. - 1989. - № 56. - P.363-366.

185. Chrenek, P. Simultaneous analysis of bovine growth hormone and prolactin alleles by multiplex PCR and RFLP / P. Chrenek, D. Vašíček, M. Bauerová, J. Bulla, J. Czech // Czech J. Anim. Sci. – 1998. – V. 43, № 2. – P. 53-55.

186. Chung, E. R. Associations between PCR-RFLP markers of growth hormone and prolactin genes and production traits in dairy cattle / E. R. Chung, T. J. Rhim, S. K. Han // Korean Anim. Sci. -1996. - № 38. - P. 321-336.

187. Ciampolini, R. Individual multilocus genotypes using microsatellite polymorphisms to permit the analysis of the genetic variability within and between Italian beef cattle breeds / R. Ciampolini, K. Moazami-Goudarzi, D. Vaiman, C. Dillmann, E. Mazzanti, J.L. Foulley, H. Levezier, D. Clanci // J. Anim. Sci. - 1995. № 73(11). - P. 3259-3268.

188. Cooke N.E. et. al. Human prolactin cDNA structural analisis and evolutionary comparisons / N.E. Cooke, D. Coit, J. Shine, J.D. Baxter, J.A. Martial // J. Biol. Chem. - 1981. - № 256. - P. 4007 - 4016.

189. Coulon, J.B. Factors contributing to variation in the proportion of casein in cow's milk true protein: a review of recent INRA experiments. / Coulon J.B., Hurtaud C., Remond B., Verite R. // J-dairy-res. Cambridge: Cambridge University Press, 1929. –1998. – Aug. – № 65 (3). – P. 375-387.

190. Cowan C.M. Restriction fragment length polymorphisms associated with growth hormone and prolactin genes in Holstein bulls: evidence for a novel growth hormone allele / C.M. Cowan, M.R. Dentine, and L.A. Schuler // Anim Genet. – 1989. - № 20 (2). - P. 157-65.

191. Damiani, G. RFLP analysis of the κ-casein locus in cattle // Anim. Genet. - 1990. - №21. - P.107-114.

192. Dietz, A.B. Somatic cell mapping, polymorphism and linkage analysis of bovine prolactin-related proteins and placental lactogen / A.B. Dietz, M. Georges, D.W. Threadgill, J.E. Womack, L.A. Schuler // Genomics. – 1992. – №14(1). – P. 137-143.

193. Dybus, A. Association of growth hormone (GH) and prolactin (PRL) genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black-and-White cattle / A. Dybus // Animal Science Papers and Reports. - 2002. - V.20. - P.203-212.

194. Dybus, A. Association of genetic variants of bovine prolactin with milk production traits of Black-and-White and Jersey cattle // A. Dybus, W. Grzesiak, H.

Kamieniecki, I. Szatkowska, Z. Sobek, P. Blaszczyk, E. Czerniawska-Piatkowska, S. Zych, M. Muszynska // Arch. Tierz. – 2005. – № 48(2). – P. 149-156.

195. Erhardt, G. Genetik polymorphism of milk proteins in Polish Red Cattle / G. Erhardt, J. Juszczak, L. Pinicke, H. Krick-Saleck // J. Anim. Breed. And Genet. - 1998. - № 115. - P. 63-71.

196. Farnaud S., Evans R.W. Lactoferrin a multifunctional protein with antimicrobial properties/ S. Farnaud, R.W. Evans // Mol. Immunol. - 2003. -№ 40(7). - P. 395-405.

197. Ferguson, J. D. Prevalence of Mastitis Pathogens in Ragusa, Sicily, from 2000 to 2006 / J. D. Ferguson, G. Azzaro, M. Gambina, G. Licitra // Journal of Dairy Science. - 2007. - №90 (12). - P. 5798–5813.

198. Ferretti L., Leone P., Sagarmella V. Long range restriction analysis of the bovine casein genes / L. Ferretti, P. Leone, V. Sagarmella // Nucleic Acids Research. - 1990. - № 18. - P. 6829-6833.

199. Fiat, A.-M., Jolles P. Caseins of various origins and biologically active casein peptides: and oligosacharides: structural and physiological aspects P. Jolles // Mol. Biochem. - 1989. - № 87. - P. 5-30.

200. Frank, G. On the primary structure of β-Lg // Hoppe - Seyler's L.Physiol. Chem. - 1967.- 348 p.

201. Gordon, D. F. Nucleotide sequence of the bovine growth hormone chromosomal gene / D.F. Gordon, D. P. Quick, C. R. Erwin, J. E. Donelson , and R. A. Maurer // Mol. Cell. Endocrinol. – 1983. - №. 33. – P. 81- 95.

202. Graml, R. Zuchtung auf Kasereitauglichtkeit der milch / R. Graml / Zuchtungskunde. -1988. - № 60. - P. 11-23.

203. Gravert, H.O. The relevance of κ-casein for genetic differences in cheese-making propertics / H.O. Gravert // Swiss Federal Institute of Tech.- Switzerland. – 1991.

204. Grochowska, R. Association between gene polymorphism of growth hormone and carcass traits in dairy bulls / R. Grochowska, A. Lunden, L.

Zwierzchowski, M. Snochowski, J. Oprzadek // J. Anim. Sci. – 2001. – № 72. – P. 441-447.

205. Groenen M.A. et. al. Multiple octamer binding sites in the promoter region of the bovine αS2-casein gene / M.A. Groenen, R.J.M. Dijkhof, J.J. Poel, R. Diggelen, E. Verstege // Nucleic Acids Research. - 1992. - № 20(16). - P. 4311- 4318.

206. Groenen M.A., Dijkhof R.J., Verstege A.J., van der Poel J.J. The complete sequence of the gene encoding bovine alpha s2-casein / M.A. Groenen, R.J Dijkhof., A.J. Verstege, van der J.J. Poel // Gene. - 1993. - № 123. - P. 187- 193.

207. Grosclaude, F. Localization des substitutions d acides amines differenciant les variants A et B de la caseine bovine / F. Grosclaude, M.F. Mahé, J.C. Mercier, B. Ribadeau-Dumas // Genet. Sel. Anim. - 1972. - № 4. - P. 515-521.

208. Grosclaude F. Polymorphisme des lactoproteines de bovines Nepalais / Mise en evidence, chez le Yak, et caracterisation biochimique daux nouveaux variants: β-lactoglobuline D Yak et caseine α_{s1} E / F. Grosclaude // Ann. Genet. Sel. Anim. - 1976. - № 8. - P.461-479

209. Grosclaude, F. Polymorphisme de la caseine αs_2 bovins: etroite lisison du locus α_{s2}-Cn avec les loci α_{s1}-Cn, β et κ-Cn; mise en evidence d"une deletion dans le variant α_{s2}-Cn D/ F. Grosclaude // Ann. Genet. Sel. Anim. - 1978. - № 8. - P.481-191.

210. Guccione J. Efficacy of a polyvalent mastitis vaccine against Staphylococcus aureus on a dairy Mediterranean buffalo farm: results of two clinical field trials / J. Guccione, A. Pesce, M. Pascale, C. Salzano, G. Tedeschi, L. D'Andrea, A. De Rosa, and P. Ciaramella // BMS Veterinary Research. – 2017/ https. //dei.org/10.1186/S12917-017-0944-4.

211. Jakob, E. Genetic polymorphism of milk proteins/ E. Jakob // Mlejelarstvo. - 1994. - № 44. - P.197-217.

212. Johansson, B. Isolation of an iron-containing red protein from human milk / B. Johansson // Acta Chem. Scand. – 1960. - № 14. – P. 510 – 512.

213. Kaminski S. Use of the results of DNA restriction fragment lenght polymorphism analysis to determine the κ-casein genotype in bulls/ S. Kaminski // Prace i Materialy Zootechniczne, Zeszyt Specjalny.- 1994.- № 3. – P.99-101.

214. Hediger, R. Assignment of the growth hormone gene locus to 19q26-qter in cattle and to 11q25-qter in sheep by in situ hybridization / R. Hediger, S.E. Johnson, W. Barendse, R.D. Drinkwater, S.S. Moore, J. Hetzel // Genomics. – 1990. – № 8(1). – P. 171-174.

215. Hill, C. Heterosis in beef cow performance/C.Hill // Diss. Abstr. Intern. – 1972. – №33 (3). – 971 p.

216. Horseman, N.D. Defective mammopoiesis, but normal hematopoiesis, in mice with a targeted disruption of the prolactin gene / N.D. Horseman, W. Zhao, E. Montecino-Rodriguez, M. Tanaka, K. Nakashima, S.J. Engle, F. Smith, E. Markoff, K. Dorshkind // EMBO J. – 1997. – № 16 (23). – P. 6926-6935.

217. Jones W.K. [et. al.] The rat casein multigene family: Fine structure and evolution of the beta-casein gene / W.K. Jones, L.Y. Yu-Lee, S.M. Clift, T.L. Brown, J.M. Rosen // Journal of Biological Chemistry. - 1985. № 260. P. 7042-7050.

218. Kaminski, S Use the results of DNA restriction fragment length polymorphism analysis to determine the κ-casein genotype in bulls / S. Kaminski // Prace i Materialy Zootechniczne, Zeszyt Specjalny. -1994. - № 3. - P. 99-101.

219. Kikkers, B. The incidence of mastitis treated with antibiotics in large-scale Hungarian Holstein-Friesian dairy farms / B. Kikkers, L. Ozsvari // Acta veter. hung. - 2004. № 52 (1). - P. 19–32.

220. Klastrup, N. Bowine mastitis. Defenition and guidelines for diagnosis / N. Klastrup // Kiel, mitchwirt. Forschungsber. - 2002. № 37 (33). - P. 254–260.

221. Kristiansen, K.R. Influence of genetic variants on milk composition and technological properties / K.R. Kristiansen // Brussels, Belgium; Int. Dairy Federat. - 1990. - № 1. - P. 59.

222. Kuwata H., Yip, T.T. Yip et al.; Bactericidal domain of lactoferrin: detection, quantitation, and characterization of lactoferricin in serum by SELDI affinity mass spectrometry. //Biochem. Biophys. Res. Commun.- 1998. - № 245. - P. 764-773.

223. Lagziel A., Lipkin E., Ezra E. et all. An Mspl polymorphism at the bovina growth hormone (bGH) gene is linked to a lokus affecting milk protein percentage // Animal Genetics. -1990. - № 30. - P.296-299.

224. Lazebnaya, I.V. Use of the Bovine Prolactin Gene (bPRL) for estimating genetic variation and milk production in aboriginal Russian breeds of Bos Taurus / I.V. Lazebnaya, O.E. Lazebny, S.R. Khatami, G.E. Sulimova // Prolactin, Edited by Gyorgy M. Nagy and Bela E. Toth. Rijeka: INTECH. – 2013. – P. 35- 52.

225. Le Provost, E. Prolactin gene expression in ovine and caprine mammary gland / E. Le Provost, C. Leroux, P. Martin, P. Gafe, J. Dijane // Neuroendocrinology. – 1994. – №60 (3) – P. 305-313.

226. Lee B.K., Lin G.F., Crooker B.A. et all. Association of somatotropin (bST) gene polymorphism with selection for milk yield in Holstein cows // Journal of Dairy Science. -1993. -№ 76. - P. 149-153.

227. Lewin, H.A. Close linkage between bovine prolactin and BoLA-DRB3 genes: genetic mapping in cattle by single sperm typing / H.A. Lewin, K. Schmitt, R. Hubert, M.J. van Eijk, N. Arnheim // Genomics. – 1992. – № 13 (1). – P. 44-48.

228. Liberatori J. Piedmontese cow milk: protein composition and clotting aptitude evaluation/ J. Liberatori // Brussels, Belgium; Inter. Dairy Federat.- 1990.- № 1.- 61 p.

229. Lucy, M.C. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production / M.C. Lucy, S.D. Hauser, P.J. Eppard, G.G. Krivi, J.H. Clark, D.E. Bauman // Domest. Anim. Endocrinol. – 1993. – № 10 (4). – P. 325-333.

230. Manson, W. Bovine as0-casein; a phosphorylated homologue of asrcasein / W. Manson, T. Carolan, W.D. Annan // Eur. J. Biochem. - 1977. - № 78. - P. 411 -417.

231. Mariani P. La costistenza del coagulo in latti caratterizzati dalle varianti A e B della beta-lattoglobulina /P. Mariani // L'industria del Latte.- 1982.- № 22.- P. 9-12.

232. Martin P., Szymanowska M., Zwierzcowski L., Leroux C. The impact of genetic polymorphisms on the protein composition of ruminant milks / P. Martin, M. Szymanowska, L. Zwierzcowski, C. Leroux // Reproduction Nutrition Development. - 2002. - № 42. - P. 433 – 459.

233. Mc Lean D.M. Effect of milk protein genetic variants on milk yield and composition/ D.M. Mc Lean // J. Dairy Res. - 1984.- №51. - P.531-546.

234. Mercier, J.C. Structure primire de la caseino alpha S1 bovine / J.C. Mercier, F. Grosclaude, B. Ribadean-Dumas // Sequence Complete. Eur. J. Biochem. -1972. - № 23. - P. 41-51.

235. Mitra, A., P. Schlee, C. R. Balakrishnan and F. Pirchner. Polymorphism at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo/ Mitra, A., P. Schlee, C. R. Balakrishnan and F. Pirchner // J. Anim . Breed Genet. – 1995. - № 112. – P. 71-74.

236. Moravcikova N. The association of bovine growth hormone gene polymorphism with milk performance traits in Slovak Spotted cows./ N. Moravcikova, A. Trakovicka, E. Hazuchova // Anim Sci Biotechnol. – 2012. - №45 (1) - P. 206-210.

237. Nelin, J.M. Variants of k-casein revealed by improved starch gel electrophoresis / J.M. Nelin // Journal of Dairy Science. - 1964. - № 47. - P. 506-510.

238. Nickerson, S. C. Effects of a recombinant granulocyte colony stimulating factor in lactating dairy cows / S. C. Nickerson, W. E. Owens, J. L. Watts // J. Dairy Sci. - 1989. - № 72. - P. 3286–3294.

239. Ng-Kwai-Hang K.F. Rapid separation and quantification of major caseins and whey proteins of bovine milk by polyacrylamide gel electrophoresis / K.F. Ng-Kwai-Hang // J. Dairy Sci. - 1984. - № 67 (12). - P.3052-3056.

240. Odell, E.W. Antibacterial activity of peptides homologous to a loop region in human lactoferrin / E. W. Odell, R. Sarra, M. Foxworthy, D.S. Chapple, R. W. Evans // FEBS Lett. -1996. - № 382. – P. 175-178.

241. Palmer, A. The preparation of crystalline globulin from the albumin fraction of cow's milk / A. Palmer // J. Biol. Ghem. - 1934. - № 104. – 359 p.

242. Parnell-Clunies E. Heat-induced changes in milk processed dy vat and continuous heating systems / E. Parnell-Clunies // J. Dairy Sci.- 1988.- №. 71.- P. 1472-1483.

243. Peterson, R.F. Detection of new types of β-casein by polyacrylamide gel electrophoresis at acid pH: A proposed nomenclature/ R. F. Peterson // Biochem. And Biophis. Res. Commun. - 1966. - № 22 (4). - P.388-392.

244. Pipalia, D.L. Kappacasein genotyping of Indian buffalo breeds using PCR- RFLP / D.L. Pipalia, D.D. Ladani, B.P. Brahmkshtri, D.N. Rank, C.G. Joshi, P.H. Vataliya, J.V. Solanki // Buffalo J. - 2001. - № 2. - P. 195-202.

245. Rampilli, M. Relazioni tra genotipi lattoproteici, composizione del latte nel corso della lattazione / M. Rampilli // Sci. Tecnica Lattiero-Casearia. - 1988. - № 39 (4). - P.262-279.

246. Reimerdes, E.H. Die quantitative Bestimmug der genetischen Varianten von β-lactoglobulin in Milch / E. H. Reimerdes // Milchwissenschaft. - 1978. - № 33 (6). – P. 345-348.

247. Rijnkels, M. Organisation of the bovine casein gene locus / M. Rijnkels, P. M. Kooiman, H. A. de Boer and F. R. Pieper // Mamm. Genome. -1997. -№ 8. - P.148–152.

248. Ron, M. Effect of sire's milk protein genotype on daughter performance for production traits of Israel Holsteins / M. Ron // ISAG Conf. Inter. – 1992.

249. Samarzija, D. Polymorphism of milk protein in cheese production / D. Samarzija // Mluekarstvo. - 1992. – № 41. - P.319-327.

250. Sasavage, N.L. Nucleotide sequence of bovine prolactin messenger RNA. Evidence for sequence polymorphism / N.L. Sasavage, J.H. Nilsson, S. Horowitz, F.M. Rotman // J. Biol. Chem. – 1982. – № 257. – P. 678-681.

251. Sawyer W.H. Complecs between β-lactoglobulin and κ-casein. A review / W.Y. Sawyer // J. Dairy Sci.- 1969. - №. 52. - P. 1347-1353.

252. Schlee, P. Influence of growth-hormone genotypes on breeding values of simmental bulls / P. Schlee, R. Graml, O. Rottmann, F. Pirchner // J. Anim. Breed. Genet. – 1994. – № 111. – P. 253256.

253. Schmidt, D.G. Starch gel electrophoresis of k-casein / D.G. Schmidt // Biochem. Biophys. Acta. - 1964. - № 90.- P. 411-414.

254. Schutz, M.M. Genetic variation in lactation means of somatic cell scores for six breeds of dairy cattle / Schutz M.M., Vanraden P.M., Wiggans G.R. // Journal-of-dairy-science – USA. – 1994. № 77 (1). – P. 284-293.

255. Schwerin M., Toldo S. S., Eggen A., Brunner R. M., Seyfert H. M., Fries R. The bovine lactoferrin gene (LTF) maps to chromosome 22 and syntenic

groupU12 / M. Schwerin, S. Toldo, A. Eggen, R. M. Brunner, H. M. Seyfert, R. Fries // Mammalin Genome. – 1994. - № 5, -P. 486–489.

256. Seyfert, H.M. Characterization of a first bovine lactoferrin gene variant, based on an EcoRI polymorphism / H.M. Seyfert, C. Kuhn // Animal Genetics. – 1994. – V. 25. – P. 54.

257. Sharifzaden A., Doosti A. Study of Lactoferrin Gene Polymorphism in Iranian Holstein Cattle Using PCRRFLP Technique/ A. Sharifzaden, A. Doosti // Global Veterinaria. – 2011. - № 6 (6). – P. 530–536.

258. Sojar H.T., Hamada N et al.; Structures involved in the interaction of Porphyromonas gingivalis fimbriae and human lactoferrin. // FEBS Lett.-422. -1998.- P. 205-208.

259. Soria, L.A. A PCR-RFLP test to detect allelic variants of the bovine kappacasein gene / L.A. Soria, G.M. Iglesias, M.J. Huguet, S.L. Mirande // Anim. Biotechnol. - 2003. № 14 (1). -P. 1-5.

260. Sutton, L.F., Alston-Mills, B. Beta-lactoglobulin as a potential modulator of intestinal activity and morphology in neonatal piglets / L.F. Sutton, B. Alston-Mills // Anat. Rec. Part A- Discov. Mol. Cell. Evol. Biol. -2006. - № 288A. - P. 601-608.

261. Taha, F. Milk protein polymorphism in Swiss dairy cattle / F. Taha, Z. Puhan // Agric. Sci. Finl. - 1993. - № 2. - P. 423-429.

262. Tervala, H.L. Factors affecting renneting properties of milk / H.L. Tervala, V. Antila, J. Syvajarvi // Meijeritieteellinen Aikakauskirja. - 1985. - № 43. - P. 1625.

263. Threadgill, D. W. Genomic analysis of the major bovine milk proteins genes / D.W. Threadgill and J. E. Womack // Nucleic Acids Res.-1990 - № 18. -P. 6935– 6942.

264. Kristiansen, K.R. Influence of genetic variants on milk composition and technological properties / K.R. Kristiansen // Brussels, Belgium; Int. Dairy Federat. - 1990. - № 1. – 59 p.

265. Tong, P.S. Effect of genetic variants of milk proteins on the yield of Cheddar cheese / P. S. Tong // Brussels, Belgium; Inter. Dairy Federat. - 1994. - P.179-187.

266. Van der Beek S. Breeding for profit in the Netherlands // Proceedings International Workshop on EU Concerted Action on Genetic Improvement of

Functional Traits in Cattle (GIFT) / S. Van der Beek // Breeding Goals and Selection Schemes. Wageningen, - 1999. - P. 75-78.

267. Van Eijk, M.J. Genetic mapping of BoLA-A, CYP21, DRB3, DYA, and on PRL BTA23 / M.J. Van Eijk, J.E. Beever, Y. Da, J.A. Stewart, G.E. Nicholaides, C.A. Green, H.A. Lewin // Mamm. Genome. – 1995. – № 6. – P. 151-152.

268. Vegarud, R Genetic variants of the influence on quality of milk and cultured milk protein / R. Vegarud // Inter. Dairy Cong.-Montreal. – 1990. – № 1. –91 p.

269. Walawski, K. Beta-lactoglobulin and kappa-casein polymorphism in relation to production traits and technological properties of milk in the herd of Polish Black and – White cows / K. Walawski // Genet. Pol. -1994. - № 35. - P.93-108.

270. Wallis, M. The primary structure of bovine prolactin / M. Wallis // FEBS Lett. – 1974. – № 44 (22). – P. 205-208.

271. Waugh, D. The interactions of α_{s1}-, β-, κ-casein in micelle formation / D. Waugh // Disc. Faraday Soc. - 1958. - № 25. - P.156-157.

272. Wood, D. Purification and characterization of pituitary bovine somatotropin / W. Salsgiver, T. Kasser, G. Lange, E. Rowald, B.N. Violand, A. Johnson, R. Leimgruber, G. Parr, N. Siegel, N. Kimack, C. Smith, J. Zobel, S. Ganguli, J. Garbow, G. Bild, G. Krivi // J. Biol. Chem. – 1989. – № 264. – P. 14741-14747.

273. Woychik, J.H. Phenotyping k-caseins / J.H. Woychik // Journal of Dairy Science. - 1965. № 48. -P. 496-497.

274. Woychik, J.H Chromatography isolation and particle. Characterization of reduced κ-casein components / J.H Woychik // Biochem. - 1966. - V.5 - P.2276-2282.

275. Xanthou, M. Immune protection of human milk / M. Xanthou // Biol. Neonate, - 1998. - № 74(2), - P.121-133.

276. Xu, A. Characterization of bovine malor histicompatibility complex class II genes using the polymerase reaction / A. Xu, H.A. Lewin // Anim. Genet. – 1991. – № 22. – P. 61-62.