

На правах рукописи

**ТЮЛЬКИН СЕРГЕЙ ВЛАДИМИРОВИЧ**

**МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ КРУПНОГО  
РОГАТОГО СКОТА ПО ГЕНАМ БЕЛКОВ МОЛОКА, ГОРМОНОВ,  
ФЕРМЕНТА И НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ**

06.02.07 – Разведение, селекция и генетика  
сельскохозяйственных животных

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание учёной степени  
доктора биологических наук

Казань - 2019

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

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

**Официальные оппоненты:** **Гончаренко Галина Моисеевна**  
доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории биотехнологий ФГБУН «Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук»

**Долматова Ирина Юрьевна**  
доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры пчеловодства, частной зоотехнии и разведения животных ФГБОУ ВО «Башкирский государственный аграрный университет»

**Косовский Глеб Юрьевич**  
доктор биологических наук, профессор РАН, Врио директора ФГБУ «Научно-исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»

**Ведущая организация:** ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина»

Защита диссертации состоится «11» июня 2019 г. в 12<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 220.034.02 при ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» по адресу: 420029, г. Казань, Сибирский тракт, 35.

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

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

Ученый секретарь  
диссертационного совета

Резиля Ахметовна Асрутдинова

## 1 ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Современные методы молекулярной генетики позволяют определять наследуемые по кодоминантному типу аллельные варианты генов, связанные с молочной продуктивностью. К настоящему времени выявлено большое количество генов, ассоциированных с параметрами молочной продуктивности, определена их локализация в хромосомах и последовательность пар нуклеотидов в их молекулярной структуре, установлены причины возникновения полиморфизма генов в результате точковых мутаций в соответствующих локусах молекул ДНК [Некрасов Д.К. и др., 2017].

В качестве потенциальных маркеров молочной продуктивности у крупного рогатого скота могут рассматриваться аллели генов белков молока, гормонов и ферментов. Аллель *B* гена альфа S1-казеина (*CSN1S1*) влияет на увеличение выхода молока, при этом аллель *C* влияет на увеличение содержания белка в молоке [Pečiulaitienė N. et al., 2007]. *B* аллель гена бета-казеина (*CSN2*) обладает самостоятельным положительным влиянием на сыродельческие свойства молока и усиливает аналогичное действие *B* аллеля каппа-казеина. При этом *A* аллель гена *CSN2* положительно влияет на термоустойчивость молока [Мухаметгалиев Н.Н., 2006]. Ген каппа-казеина (*CSN3*) связан с белковомолочностью и технологическими свойствами молока. Аллель *B* гена *CSN3* ассоциирован с более высоким содержанием белка в молоке. Ген бета-лактоглобулина (*BLG*) отвечает за белковомолочность и показатель биологической ценности молока. Аллель *B* гена *LGB* связан с высоким содержанием в молоке казеиновых белков, высоким процентом жира, тогда как аллель *A* характеризуется с высоким содержанием сывороточных белков [Хаертдинов Р.А. и др., 2009; Ахметов Т.М. и др., 2011; Tyulkin S.V. et al., 2018]. Уровень проявления признаков молочной продуктивности у коров, несущих в своем геноме *A* и *B* аллели гена альфа-лактальбумина (*LALBA*) в зависимости от породы различается [Костюнина О.В., 2005]. Основная функция гена пролактина (*PRL*) у млекопитающих - стимуляция развития молочных желёз, а также образования и секреции молока. Активное участие гена *PRL* в формировании молочной продуктивности служит основанием для поиска ассоциаций полиморфных вариантов гена с параметрами молочной продуктивности [Алексеева Н.Ю., 2006]. Ген соматотропина (*GH*) – важнейший ген-регулятор, связанный с лактогенным и жиромобилизующим действием. Выявлена ассоциация полиморфных вариантов гена *GH* с удоями, содержанием жира в молоке и т.д. [Dybus A., 2002]. Аллель *T* гена лептина (*LEP*) по сравнению с аллелью *C* связан с более высокими среднесуточными удоями [Van Eenennaam A.L., 2007]. В качестве тенденции отмечено повышение удоев у коров, несущих в своём геноме *C* аллель гена тиреоглобулина (*TG5*) [Ларионова П.В., 2006]. Одним из важных генов липидного обмена у крупного рогатого скота является ген диацилглицерол-О-ацилтрансферазы (*DGAT1*). Исследования, проведённые на первотёлках холмогорской породы татарстанского типа, продемонстрировали, что наилучшие показатели молочной продуктивности имели аналоги, несущие в своём геноме *K*-аллель гена *DGAT1* [Зиннатова Ф.Ф., Зинатов Ф.Ф., 2014].

Практика ввоза молочного скота из-за рубежа свидетельствует о том, что наряду с

быстрым увеличением продуктивности животных и ростом производства молока проявляются такие негативные факторы, как распространение различных наследственных заболеваний, в т.ч. вызываемых редкими мутациями, накопившимися в наследственности, преимущественно у голштинского скота [Кураж О.П., Грибанова Ж.А., 2012].

Для своевременного ограничения накопления импортируемого генетического груза необходимо решительнее применять тактику упреждающего скрининга нижеперечисленных летальных мутаций: *BLAD* (дефицит адгезивности лейкоцитов), *CVM* (комплексный порок позвоночника), *FXID* (дефицит фактора XI, т.е. нарушение свёртываемости крови), *GSD* (дефицит миофосфорилазы, т.е. гликогеновая болезнь V типа), *DUMPS* (дефицит фермента уридин-монофосфат-синтетазы, приводящий к неправильному синтезу ДНК), *BC* (цитруллинемия, обусловленная энзиматическим дефектом в цикле биосинтеза мочевины) и гена миостатина (аномальное развитие мышечной массы – миостатин-mh) [Коновалов В.С., 2009, 2011; Fahrenkrug S.C. et al., 1999].

Исходя из вышеизложенного, в условиях ведения интенсивного молочного скотоводства внедрение и активное использование современных методов ДНК-анализа в селекционно-племенной работе является актуальной задачей в РФ и Татарстане.

**Степень разработанности темы.** Изучением генетической структуры белков молока коров разных пород занимались многие, в том числе Гладырь Е.А. и др. (2002), Костюнина О.В. и др. (2005, 2013), Кадиев А.К. (2009, 2013), Хаертдинов Р.А. и др. (2009, 2014), Епишко О.А. и др. (2014), Валитов Ф.Р. и др. (2015, 2017), Massella E. et al. (2017), Houaga I. (2018), Ozdemir M. et al. (2018), Smiltina D. et al. (2018). Однако в научных трудах этих учёных малочисленные данные или практически отсутствуют по генотипированию крупного рогатого скота Республики Татарстан по генам альфа S1-казеина, бета-казеина и альфа-лактальбумина методами ДНК-анализа. Также не имеется данных по встречаемости комплексных генотипов генов белков молока (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*) и характер молочной продуктивности у разных пород крупного рогатого скота. По генотипированию крупного рогатого скота по генам гормонов и ферментов встречаются отдельные публикации Харзиновой В.Р. (2011), Лазебной И.В. и др. (2012), Беган М.А. и др. (2014), Гончаренко Г.М. и др. (2017), Зиннатова Ф.Ф. и др. (2017), Шайдуллина Р.Р. и др. (2017, 2018), Юльметьевой Ю.Р. и др. (2017), Agrawal V.K. (2017), Bhat S.A. et al. (2017), Konca M.A. et al. (2017), Suprovich T. et al. (2017), Kiyici J.M. et al. (2018), Sönmez Z. et al. (2018). При этом отсутствуют данные по встречаемости комплексных генотипов генов гормонов и фермента (*GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *DGAT1*) у разных пород крупного рогатого скота и проявление у них молочной продуктивности. Выявлением летальных мутаций занимались Эрнст Л.К. и др. (2007, 2011), Жигачев А.И. и др. (2008), Коновалов В.С. (2009, 2011), Зиновьева Н.А. и др. (2012), Марзанова С.Н. (2012), Усенбеков Е.С. и др. (2015, 2016), Трахимчик Р.В. и др. (2017), Ковалюк Н.В. и др. (2018), Agaoglu O.K. et al. (2015), Branda S.A. et al. (2016), Debnath A. et al. (2016), Fadhil M. et al. (2017), Sherly I. et al. (2017), но большинство их исследований касаются таких мутаций, как *BLAD* и *CVM*. Необходимо отметить, что информация по исследованию мутаций *FXID*, *GSD*, *DUMPS*, *BC* и гена

*MSTN* у крупного рогатого скота Российской Федерации – малочисленная, а по Республике Татарстан отсутствует.

**Цель и задачи исследования.** Целью настоящей работы является определение полиморфизма генов белков молока, гормонов, фермента и наследственных мутаций у разных пород крупного рогатого скота разработанными и усовершенствованными нами способами проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ, а также выявление ассоциации отдельных и комплексных генотипов с молочной продуктивностью коров.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- разработать способы экстракции ДНК из крови и спермы крупного рогатого скота для молекулярно-генетических исследований;
- усовершенствовать апробированные способы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*, *GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *CD18*, *SLC35A3*, *F11*, *PYGM*, *UMPS*, *ASS*;
- разработать способы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам *CSN3*, *DGAT1*, *MSTN*;
- изучить частоту встречаемости отдельных аллелей и генотипов по локусам генов *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*, *GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *DGAT1*, *CD18*, *SLC35A3*, *F11*, *PYGM*, *UMPS*, *ASS*, *MSTN* и комплексных генотипов белков молока (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*), гормонов и фермента (*GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *DGAT1*) у крупного рогатого скота разных пород;
- провести сравнительное изучение быков-производителей с отдельными и комплексными генотипами генов белков молока, гормонов и фермента по происхождению;
- оценить показатели молочной продуктивности первотёлок разных пород с отдельными и комплексными генотипами по генам белков молока, гормонов и фермента;
- рассчитать экономическую эффективность производства молока при использовании коров разных пород и генотипов по гену *CSN3*.

**Научная новизна работы.** Разработаны способы экстракции ДНК из биологического материала от крупного рогатого скота. Разработаны и усовершенствованы способы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам белков молока (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*), гормонов (*GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*) и фермента (*DGAT1*), а также генам наследственных мутаций (*CD18*, *SLC35A3*, *F11*, *PYGM*, *UMPS*, *ASS*, *MSTN*). Представлена характеристика аллелофонда популяций крупного рогатого скота (чистопородные и помесные по голштинской породе быки-производители, коровы черно-пёстро х голштинские и холмогорской породы татарстанского типа) по вышеуказанным генам. Проведена количественная оценка влияния отдельных и комплексных генотипов изучаемых ДНК-маркеров на молочную продуктивность коров разных пород в условиях Республики Татарстан.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Разработанные и усовершенствованные способы выделения нуклеиновых кислот и проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам белков молока, гормонов,

фермента и наследственных мутаций позволяют осуществлять достоверную оценку их генотипов.

Основные положения диссертационной работы позволяют пополнить теоретические данные о полиморфизме генов *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*, *GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *DGAT1*, *CD18*, *SLC35A3*, *F11*, *PYGM*, *UMPS*, *ASS*, *MSTN*. Получены важные доказательства о количественном влиянии отдельных и комплексных (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA* и *GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *DGAT1*) генотипов на молочную продуктивность коров разных пород, разводимых на территории Республики Татарстан. Мониторинг наследственных болезней у племенного скота позволяет исключить из системы крупномасштабной селекции особей, которые являются потенциальными распространителями генетических мутаций.

В результате исследований разработаны и изданы две методические рекомендации: 1. по использованию новейших достижений ДНК-технологии в селекционно-племенной работе, направленной на улучшение технологических свойств молока (Казань, 2007), 2. использование ДНК-анализа для тестирования крупного рогатого скота по генам молочных белков и гормонов (Москва, 2013).

**Методология и методы исследования.** Основой диссертационного исследования служили положения и достижения учёных в области молекулярной генетики и селекции сельскохозяйственных животных. На разных этапах выполнения диссертационной работы использовались как общепринятые методы (аналогии, наблюдения, моделирования, сравнения и другие), так и специальные методы (молекулярно-генетические методы, в частности полимеразная цепная реакция с электрофоретической и гибридизационно-флуоресцентной детекцией). Исследования проведены на современном оборудовании. Обработка экспериментальных данных проведена с использованием методов статистического анализа. Полный перечень методологии и методов исследований отражен в разделе «Материалы и методы исследований».

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- разработанные нами способы экстракции нуклеиновых кислот из биологического материала от крупного рогатого скота являются эффективными в плане подготовки образцов ДНК для молекулярно-генетических исследований.
- усовершенствованные нами способы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных мутаций являются результативными инструментами ДНК-анализа аллельного полиморфизма.
- разработанные нами способы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам *CSN3*, *DGAT1*, *MSTN* по сравнению с ближайшими прототипами не уступают им по эффективности идентификации искомых генотипов.
- определены аллельные профили и отдельные генотипы по локусам генов *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*, *GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *DGAT1*, *CD18*, *SLC35A3*, *F11*, *PYGM*, *UMPS*, *ASS*,

*MSTN*, а также комплексные генотипы (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*) и (*GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *DGAT1*) у крупного рогатого скота разных пород.

- сравнительное исследование быков-производителей с отдельными и комплексными генотипами генов белков молока, гормонов и фермента по происхождению позволило выявить группы животных с более высокой оценкой по молочной продуктивности ближайших предков по женской линии.
- оценка молочной продуктивности коров разных пород с отдельными и комплексными генотипами по генам белков молока, гормонов и фермента позволила выявить среди них животных с более высокой продуктивностью.
- экономически обоснованно производства молока коров разных пород с учётом генотипа по гену *CSN3*.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность результатов исследований подтверждается количеством проведённых исследований и количеством проанализированных животных, а также результатами статистической обработки данных.

Основные результаты исследований доложены, одобрены и представлены в материалах региональных, всероссийских, международных научно-практических конференций (2007-2010 гг., 2012 г., 2014 г., 2016-2018 гг.), а именно в: всероссийской научно-практической конференции «Технологические и технические аспекты развития сельского хозяйства». Посвящается 85-летию КГАУ (Казань, 2007); международной научно-практической конференции, посвященной 135-летию академии «Современные подходы развития АПК». Учёные записки КГАВМ (Казань, 2008); всероссийской научно-практической конференции «Современные тенденции развития ветеринарной медицины и инновационные технологии в ветеринарии и животноводстве». Учёные записки КГАВМ (Казань, 2009); международной научно-практической конференции «Кадровое и научное обеспечение инновационного развития отрасли животноводства». Учёные записки КГАВМ (Казань, 2010); всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы научного и кадрового обеспечения инновационного развития АПК». Учёные записки КГАВМ (Казань, 2012); VIII всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Москва, 2014); международной научной конференции «Современные проблемы ветеринарной и аграрной науки и образования», посвящённой 150-летию образования Государственной ветеринарной службы России. Учёные записки КГАВМ (Казань, 2016); международной научно-практической конференции, посвящённой памяти Василия Матвеевича Горбатова (Москва, 2017, 2018).

**Публикация результатов исследования.** По теме диссертации опубликовано 58 научных статей, в том числе 35 в ведущих рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК Минобразования и науки РФ (из них 4, включённые в базы данных Scopus и/или Web of Science), 1 монография, 2 научно-методические рекомендации, получено 2 патента РФ на изобретение.

**Объем и структура диссертационной работы.** Диссертация изложена на 349 страницах, содержит 70 таблиц, 52 рисунка. Состоит из: введения, обзора литературы,

материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, заключения, предложений производству, списка использованной литературы (всего 425 источников, в том числе 229 иностранных) и 7 приложений.

## **2 ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

### **2.1 Материалы и методы исследований**

Научно-исследовательская работа по теме диссертационной работы проводилась в период с 2006 по 2018 гг. на кафедре технологии животноводства в ФГБОУ ВО «Казанская государственный академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана». Производственные опыты проведены на поголовье крупного рогатого скота АО «Головное племенное предприятие «Элита» и ОАО «Племзавод «Бирюлинский» Высокогорского района, а также племенного репродуктора ООО «Дусым» Атнинского района Республики Татарстан.

Для проведения исследований по установлению аллельного полиморфизма и генотипов белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний крупного рогатого скота были отобраны коровы-первотёлки 158 черно-пёстро х голштинских и 164 холмогорской породы татарстанского типа в племенном репродукторе ООО «Дусым» и ОАО «Племзавод «Бирюлинский» соответственно; также отобраны 70 чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей в АО «Головное племенное предприятие «Элита».

Определение аллельного полиморфизма и генотипов белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний у коров и быков-производителей проводили молекулярно-генетическими методами, а именно ПЦР-ПДРФ, АС-ПЦР, ПЦР-РВ. Далее с учётом принципа «аналогов» по Овсянникову А.И. в 1976 г. из поголовья быков-производителей и первотёлок были сформированы группы животных с разными генотипами и комбинациями генотипов белков молока, гормонов и фермента; после этого проведена оценка первотёлок и ближайших женских предков быков-производителей по показателям молочной продуктивности.

Общая схема научно-хозяйственных исследований представлена на рисунке 1.

Кормление первотёлок в племенном репродукторе ООО «Дусым» и ОАО «Племзавод «Бирюлинский» осуществлялось согласно схемам принятых в хозяйствах и с учётом научно доказанных норм и рационаов кормления крупного рогатого скота по Калашникову А.П. и др. в 2003 г. Обеспеченность кормами, кормовыми и витаминными добавками хорошая, уровень кормления животных высокий; оптимальные показатели, характеризующие кормление сохраняются на протяжении многих лет.

Основные этапы молекулярно-генетических исследований состояли из получения биологического материала от крупного рогатого скота, экстракции ДНК из биологического материала от крупного рогатого скота, ДНК-анализ методом ПЦР и ПЦР-ПДРФ, детекция продуктов амплификации различными модификациями.

**Молекулярно-генетическое тестирование крупного рогатого скота по генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний**



**Рисунок 1 – Схема исследования**

**Получение биологического материала.** Кровь брали у крупного рогатого скота из *v. jugularis* (яремная вена), далее её вносили в пробирки с 100 мМ ЭДТА, чтобы концентрация составила 10 мМ. Сперма быков-производителей поступала в замороженных полипропиленовых соломинках.

**Экстракция ДНК из крови** выполнена разработанными нами аммиачным и комбинированным щелочным способами.

**Экстракция ДНК из спермы** выполнена разработанным нами комбинированным щелочным способом. **Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену альфа S1-казеина способом АС-ПЦР.** АС-ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с четырьмя

олигонуклеотидными праймерами CSN1S1-F1: 5'-TGC ATG TTC TCA TAA TAA CC-3' (20 н.), CSN1S1-R1: 5'-GAA GAA GCA GCA AGC TGG-3' (18 н.) CSN1S1-F2: 5'-CAT TCC ATT TCC TGT ATA ATG AGG CA-3' (26 н.), CSN1S1-R2: 5'-AAT TCT AAG GAG AGT TTA CAA CAA AGA CGC-3' (30 н.) предложенных Rincon G., Medrano J.F. в 2003 г., амплифицировались фрагменты длиной 310 и 236 bp (аллель *B*) и 310 и 130 bp (аллель *C*).

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену бета-казеина способом АС-ПЦР.** АС-ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с четырьмя олигонуклеотидными праймерами O-bcas-F: 5'-AAC ATC CCT CCT CTT ACT CAA ACC CCT G-3' (28 н.), O-bcas-R: 5'-ATA TCT CTC TGG GGA TAG GGC ACT GCT T-3' (28 н.), I-bcas-F: 5'-AAT ATC CAG TTG AGC CCT TTA CTG AAT GC-3' (29 н.), I-bcas-R: 5'-CAA CAT CAG TGA GAG TCA GGC TCA GC-3' (26 н.), предложенных Rincon G., Medrano J.F. в 2003 г., амплифицировались фрагменты длиной 338 и 217 bp (аллель *A*) и 338 и 177 bp (аллель *B*).

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену каппа-казеина способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с олигонуклеотидными праймерами: 1) AB1: 5'-TGT GCT GAG TAG GTA TCC TAG TTA TGG-3' (27 н.) и AB2: 5'-GCG TTG TCT TCT TTG ATG TCT CCT TAG-3' (27 н.) предложенных Barroso A. et al. в 1998 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 453 bp; 2) K1: 5'-GAA ATC CCT ACC ATC AAT ACC-3' (21 н.) и K2: 5'-CCA TCT ACG CTA GTT TAG ATG-3' (21 н.), предложенных Kaminski S. в 1993 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 271 bp; 3) JK5: 5'-TCA TTT ATG GCC ATT CCA CCA AAG-3' (24 н.) и JK3: 5'-GCC CAT TTC GCC TTC TCT GTA ACA GA-3' (26 н.), предложенных Medrano J.F., Aguilar-Cordova E. в 1990 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 350 bp. Для проведения ПДРФ-анализа CSN3-гена 20 мкл ПЦР-пробы обрабатывали 5 ед. эндонуклеазы рестрикции *Hinf I* в 1×буфере «О» фирмы СибЭнзим (Россия) или 10 ед. эндонуклеазы рестрикции *HindIII* в 1×буфере «О» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °C течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену каппа-казеина способом АС-ПЦР.** АС-ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с четырьмя олигонуклеотидными праймерами A-F-d: 5'-GGG GGC TGT TCA CAC ACA AAA ACA GTA GAG-3' (30 н.), A-R-d: 5'-GGG GGG TGC CTA ACC TTA TAC AGC CTT CCG-3' (30 н.), B-F-d: 5'-CCC CCG TGA GCC TAC AAG TAC ACC TAC GAT-3' (30 н.), B-R-d: 5'-CCC CCG ATG TCT CCT TAG AGT ATT TAG CCC-3' (30 н.) предложенных Тюлькиным С.В. и др. в 2015 г., амплифицировались фрагменты длиной 242 bp (аллель *A*) и 156 bp (аллель *B*).

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену бета-лактоглобулина способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном

программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами BLGP3: 5'-GTC CTT GTG CTG GAC ACC GAC TAC A-3' (25 н.) и BLGP4: 5'-CAG GAC ACC GGC TCC CGG TAT ATG A-3' (25 н.), предложенных Medrano J.F., Aguilar-Cordova E. в 1990 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 262 бп. Для проведения ПДРФ-анализа *BLG*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 5 ед. эндонуклеазы рестрикции *HaeIII* в 1×буфере «G» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °С течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену альфа-лактальбумина способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами ALF-LAC1: 5'-AAG AGT TGG ATG GAA TCA CC-3' (20 н.) и ALF-LAC2: 5'-TTC AAA TTG CTG GCA TCA AGC-3' (21 н.), предложенных Гладышев Е.А. и др. в 2002 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 430 бп. Для проведения ПДРФ-анализа *LALBA*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 10 ед. эндонуклеазы рестрикции *MhiI* в 1×буфере «W» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °С течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену соматотропина способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами GH5F: 5'-GCT GCT CCT GAG GGC CCT TC-3' (20 н.) и GH5R: 5'-CAT GAC CCT CAG GTA CGT CTC CG-3' (23 н.), предложенных Gordon D.F. et al. в 1983 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 211 бп. Для проведения ПДРФ-анализа *GH*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 2 ед. эндонуклеазы рестрикции *AluI* в 1×буфере «Y» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °С течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену пролактина способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами PRL1: 5'-CGA GTC CTT ATG AGC TTG ATT CTT-3' (24 н.) и PRL2: 5'-GCC TTC CAG AAG TCG TTT GTT TTC-3' (24 н.), предложенных Dybus A. в 2005 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 156 бп. Для проведения ПДРФ-анализа *PRL*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 5 ед. эндонуклеазы рестрикции *RsaI* в 1×буфере «B» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °С течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену лептина способом АС-ПЦР.** АС-ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с четырьмя олигонуклеотидными праймерами LEP-F1: 5'-GAC GAT GTG CCA CGT GTG GTT TCT TCT GT-3' (29 н.), LEP-R1: 5'-CGG TTC TAC CTC GTC TCC CAG TCC CTC C-3' (28 н.), LEP-F2: 5'-TGT CTT ACG TGG AGG

CTG TGC CCA GCT-3' (27 н.) и LEP-R2: 5'-AGG GTT TTG GTG TCA TCC TGG ACC TTT CG-3' (29 н.), предложенных Corva P.M. et al. в 2009 г., амплифицировались фрагменты длиной 239 и 164 bp (аллель C) и 239 и 131 bp (аллель T).

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену тиреоглобулина способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами TG5-F: 5'-GGG GAT GAC TAC GAG TAT GAC TG-3' (23 н.) и TG5-R: 5'-GTG AAA ATC TTG TGG AGG CTG TA-3' (23 н.), предложенных De S. et al. в 2004 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 548 bp. Для проведения ПДРФ-анализа *TG5*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 5 ед. эндонуклеазы рестрикции *BstX2I* в 1×буфере «G» фирмы СибЭнзим (Россия) при 60<sup>0</sup>C течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену диацилглицерол-О-ацилтрансферазы способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с тремя олигонуклеотидными праймерами DGAT1-1: 5'-CCG CTT GCT CGT AGC TTT CGA AGG TAA CGC-3' (30 н.), DGAT1-2: 5'-CCG CTT GCT CGT AGC TTT GGC AGG TAA CAA-3' (30 н.) и DGAT1-3: 5'-AGG ATC CTC ACC GCG GTA GGT CAG G-3' (25 н.), разработанных Тюлькиным С.В. и др. в 2015 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 100 bp. Для проведения ПДРФ-анализа *DGAT1*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 20 ед. эндонуклеазы рестрикции *TaqI* в 1×буфере «Y» фирмы СибЭнзим (Россия) при 65<sup>0</sup>C течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по гену диацилглицерол-О-ацилтрансферазы способом ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени».** ПЦР-РВ проводили на термоциклире шестиканальном с флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» Rotor Gene 6000 (Австралия) в объёме 20 мкл, с тремя олигонуклеотидными праймерами 5'-флуоресцентно-меченный прямой *A*-аллель-специфичный праймер DGAT1-A: 5'-ROX-CGT AGC TTT GGC AGG TAA AGC-3' (21 н.), 5'-флуоресцентно-меченный прямой *K*-аллель-специфичный праймер DGAT1-K: 5'-Cy5-CGT AGC TTT GGC AGG TAA CAA-3' (21 н.), обратный общий праймер DGAT1-R: 5'-GGC AGC TCC CCC GTT GG-3' (17 н.) и одним анти-праймером DGAT1-S, меченым гасителем флуоресценции с 3'-конца олигонуклеотида: 5'-ACC TGC CAA AGC TAC G-3'-BHQ2 (16 н.), разработанного Vafin R.R. et al. в 2016 г.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по *BLAD*-мутации способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами BLAD-F: 5'-TCC GGA GGG CCA AGG GCT A-3' (19 н.) и BLAD-R: 5'-GAG TAG GAG

AGG TCC ATC AGG TAG TAC AGG-3' (30 н.), предложенных Greer C.R. et al. в 1991 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 58 бр. Для проведения ПДРФ-анализа *CD18*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 10 ед. эндонуклеазы рестрикции *HaeIII* в 1×буфере «G» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °С течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по CVM-мутации способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами CVM-F: 5'-CAC AAT TTG TAG GTC TCA CTG CA-3' (23 н.) и CVM-R: 5'-CGA TGA AAA AGG AAC CAA AAG GG-3' (23 н.), предложенных Kanae Y. et al. в 2005 г. и Avanus K., Altinel A. et al. в 2017 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 287 бр. Для проведения ПДРФ-анализа *SLC35A3*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 5 ед. эндонуклеазы рестрикции *PstI* в 1×буфере «О» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °С течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по FXID-мутации способом АС-ПЦР.** АС-ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами FXID-F: 5'-CCC ACT GGC TAG GAA TCG TT-3' (20 н.) и FXID-R: 5'-CAA GGC AAT GTC ATA TCC AC-3' (20 н.), предложенных Marron B.M. et al. в 2004 г., амплифицировались фрагменты длиной 244 бр (аллель «+») и 320 бр (аллель «-»).

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по GSD-мутации способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами GSD-V-F: 5'-CCA GGA AGA CCC TCA TTC CA-3' (20 н.) и GSD-V-R: 5'-AGG GAA ACA CAC ACA CAG-3' (18 н.), предложенных Soethout E.C. et al. в 2002 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 252 бр. Для проведения ПДРФ-анализа *PYGM*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 10 ед. эндонуклеазы рестрикции *ErhI* в 1×буфере «ZW» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °С течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по DUMPS-мутации способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами DUMPS-F: 5'-GCA AAT GGC TGA AGA ACA TTC TG-3' (23 н.) и DUPMS-R: 5'-GCT TCT AAC TGA ACT CCT CGA GT-3' (23 н.), предложенных Shanks R.D., Robinson J.L. в 1990 г., амплифицировался цельный фрагмент длиной 108 бр. Для проведения ПДРФ-анализа *UMPS*-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 10 ед. эндонуклеазы рестрикции *Ama87I* в 1×буфере «W» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °С течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по ВС-мутации способом ПЦР-ПДРФ.** ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами ВС-F: 5'-GTG TTC ATT GAG GAC ATC-3' (18 п.) и ВС-R: 5'-CCG TGA GAC ACA TAC TTG-3' (18 п.), предложенных Dennis J.A. et al. в 1989 г., амплифицировался целый фрагмент длиной 176 bp.

Для проведения ПДРФ-анализа ASS-гена 20 мкл ПЦР пробы обрабатывали 10 ед. эндонуклеазы рестрикции *Bme18I* в 1×буфере «О» фирмы СибЭнзим (Россия) при 37 °C течение ночи.

**Порядок и условия проведения тестирования крупного рогатого скота по миостатину способом АС-ПЦР.** АС-ПЦР проводили на четырёх канальном программируемом термостате для ПЦР «Терцик» (Россия) или на ДНК-амплификаторе DNA Engine PTC (США) в объёме 20 мкл, с двумя олигонуклеотидными праймерами MS-F: 5'-GGG GGG GAG AGA TTT TGG GCT TGA TTG TGA-3' (30 н.) и MS-R: 5'-GGG GGG GTG CAA TAA TCC AAT CCC ATC CAA-3' (30 н.) разработанных Тюлькиным С.В. и др. в 2012 г., амплифицировались фрагменты длиной 119 bp (аллель «+») и 108 bp (аллель «-»).

**Порядок и условия проведения электрофореза.** Для визуализации ПДРФ- и АС-ПЦР-фрагментов образцы ДНК вносили в лунки геля, содержащего 2-4% агарозы с высоким разрешением, 0,5 мкг/мл этидия бромида и выполняли электрофорез горизонтальный при напряжении 15 В/см в 1×TBE буфере, продолжительностью 40 мин. Далее электрофорезный гель смотрели в гель документирующей системе «GelDoc X+» (США) при длине волны 310 нм, где идентифицировали генотипы по количеству и размеру фрагментов.

Расчёт частоты встречаемости генотипов по генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний в популяциях крупного рогатого скота (быки-производители и коровы-первотёлки), как ожидаемых, так и наблюдаемых, а также оценка степени соответствия показателей теоретически ожидаемых, проводили согласно закона Харди-Вайнберга и критерия хи-квадрат ( $\chi^2$ ), который описан в работе Петухова В.Л., Жигачёва А.И., Назаровой Г.А. (1996).

Проведена оценка быков-производителей с разными генотипами белков молока, гормонов и фермента по происхождению, для предварительного прогноза их генетического потенциала. Вычислен родительский индекс быков (РИБ) по удоям и жирномолочности их ближайших женских предков по Кравченко Н.А. (1963).

Удои коров-первотёлок определяли, а в последствие рассчитывали после проведения ежедекадных контрольных доений. Далее рассчитывали удои коров за полную и неполную лактацию, то есть за 305 дней и не менее 240 дней соответственно. Процентное содержание жира и белка в молоке устанавливали на анализаторе молока «ЛАКТАН 1-4».

Экономическую эффективность использования животных с разными селекционно-значимыми генотипами каппа-казеина определяли опираясь на методические

рекомендации по определению экономической эффективности от внедрения результатов научно-исследовательских работ в животноводстве [Шмаков Ю.И., Черекаев А.В., 1984], а также с учётом ГОСТ Р 52054-2003 и Приказа министерства сельского хозяйства РФ от 19 мая 2014 г. № 163 – молоко с базисной общероссийской нормой массовой доли жира составит – 3,4%, а такой показатель белка соответственно – 3,0%.

Вариационно-статистический анализ результатов исследований проводили биометрическим методом по Меркурьевой Е.К. (1970). Достоверность полученных результатов исследований подтверждалась табличными данными критерия по Стьюденту.

## **2.2 Результаты собственных исследований**

### **2.2.1 Разработка способов экстракции ДНК из биологического материала крупного рогатого скота**

ДНК из различного биологического материала крупного рогатого скота экстрагировали разработанными нами способами. В частности нуклеиновые кислоты из цельной крови крупного рогатого скота выделяли аммиачным и комбинированным щелочным способами, а из спермы быков-производителей – только комбинированным щелочным способом.

В разработке способов экстракции ДНК из цельной крови и спермы крупного рогатого скота принимала активное участие группа учёных: Ахметов Т.М., Валиулллина Э.Ф., Вафин Р.Р., Зарипов О.Г., Тюлькин С.В., что отражено в их научных работах.

Нами разработан аммиачный способ выделения ДНК из цельной крови крупного рогатого скота для молекулярно-генетических исследований, где 10% раствор аммиака использовался в качестве растворителя осажденного нуклеопротеидного комплекса, предварительно экстрагированного 0,2M NaOH. Полученные препараты ДНК показали эффективность своего применения в ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний.

Комбинированный щелочной способ выделения ДНК из цельной крови и спермы крупного рогатого скота также позволяет использовать экстрагированные нуклеиновые кислоты для ДНК-диагностики по генам белков молока, гормонов, фермента и наследственных мутаций в течение 1 года с более чем 30 кратной заморозкой-разморозкой.

### **2.2.2 Апробация и разработка способов проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов генов белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний крупного рогатого скота**

#### **2.2.2.1 Апробация способа проведения ПЦР для идентификации аллельных вариантов гена альфа S1-казеина крупного рогатого скота**

В результате апробации признанного ПЦР-протокола для идентификации аллельных вариантов *CSN1S1*-гена крупного рогатого скота были протестированы две пары олигонуклеотидных праймеров: CSN1S1-F1+CSN1S1-R1 и CSN1S1-F2+CSN1S1-R2. Две

пары праймеры CSN1S1-F1+CSN1S1-R1 и CSN1S1-F2+CSN1S1-R2 инициируют амплификацию участков *CSN1S1*-гена крупного рогатого скота длиной 310 и 236 bp (аллель *B*) и 310 и 130 bp (аллель *C*), соответственно генотипы *BB* = 310/236, *BC* = 310/236/130 (рисунок 2) и *CC* = 310/130.

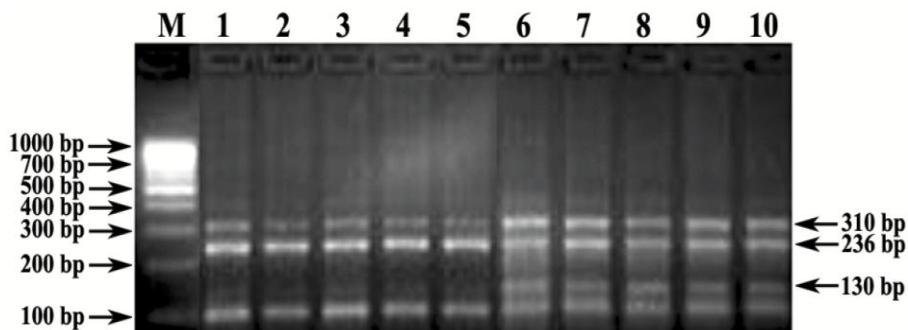


Рисунок 2 – Электрофорограмма результата ARMS-PCR-идентификации аллелей *B* и *C* гена альфа-S1-казеина крупного рогатого скота

(две пары праймеров SCN1S1-F1+SCN1S1-R1 и SCN1S1-F2+SCN1S1-R2)

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1 kb (СибЭнзим); 1-5) АС-ПЦР-профиль генотипа *BB* (310/236 bp); 6-10) АС-ПЦР-профиль генотипа *BC* (310/236/130 bp).

### 2.2.2.2 Апробация способа проведения ПЦР для идентификации аллельных вариантов гена бета-казеина крупного рогатого скота

В результате апробации признанного ПЦР-протокола для идентификации аллельных вариантов *CSN2*-гена крупного рогатого скота были протестиированы две пары олигонуклеотидных праймеров: O-bcas-F+O-bcas-R и I-bcas-R+I-bcas-F (рисунок 3). Две пары праймеры O-bcas-F+O-bcas-R и I-bcas-R+I-bcas-F инициируют амплификацию участков *CSN2*-гена крупного рогатого скота длиной 338 и 217 bp (аллель *A*) и 310 и 117 bp (аллель *B*), соответственно генотипы *AA* = 338/217, *AB* = 338/217/117 и *BB* = 338/117.

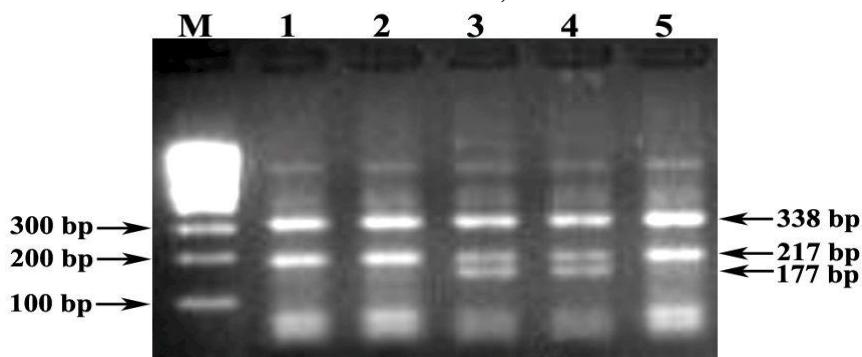


Рисунок 3 – Электрофорограмма результата AS-PCR-идентификации аллелей *A* и *B* гена бета-казеина крупного рогатого скота

(две пары праймеров O-bcas-F+O-bcas-R и I-bcas-R+I-bcas-F)

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1 kb (СибЭнзим); 1, 2, 5) АС-ПЦР-профиль генотипа *AA* (338/217 bp); 3, 4) АС-ПЦР-профиль генотипа *AB* (338/217/177 bp).

### 2.2.2.3 Апробация способов проведения ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов гена каппа-казеина крупного рогатого скота

В результате апробации признанных ПЦР-ПДРФ-протоколов для идентификации аллельных вариантов *CSN3*-гена крупного рогатого скота были протестиированы три пары олигонуклеотидных праймеров: AB1+AB2, K1+K2 и JK5+JK3 (рисунки 4-6).

Пара праймеров АВ1+АВ2 инициирует амплификацию участка *CSN3*-гена крупного рогатого скота длиной 453 bp, соответственно *CSN3*-ПДРФ-*HinfI* (*BB* = 426/27 bp, *AA* = 326/100/27 bp и *AB* = 426/326/100/27 bp) и *CSN3*-ПДРФ-*HindIII* (*BB* = 351/102 bp, *AA* = 453 bp и *AB* = 453/351/102 bp) профили распознают его генотипы (рисунок 4).

Пара праймеров К1+К2 инициируют амплификацию участка *CSN3*-гена крупного рогатого скота длиной 271 bp, соответственно *CSN3*-ПДРФ-*HinfI* (*BB* = 222/49 bp, *AA* = 131/91/49 bp и *AB* = 222/131/91/49 bp) и *CSN3*-ПДРФ-*HindIII* (*BB* = 182/89 bp, *AA* = 271 bp и *AB* = 271/182/89 bp) профили распознают его генотипы (рисунок 5).

Пара праймеров JK5+JK3 инициируют амплификацию участка *CSN3*-гена крупного рогатого скота длиной 350 bp, соответственно *CSN3*-ПДРФ-*HinfI* (*BB* = 265/85 bp, *AA* = 134/131/85 bp и *AB* = 265/134/131/84 bp) профиль распознаёт его генотипы (рисунок 6).

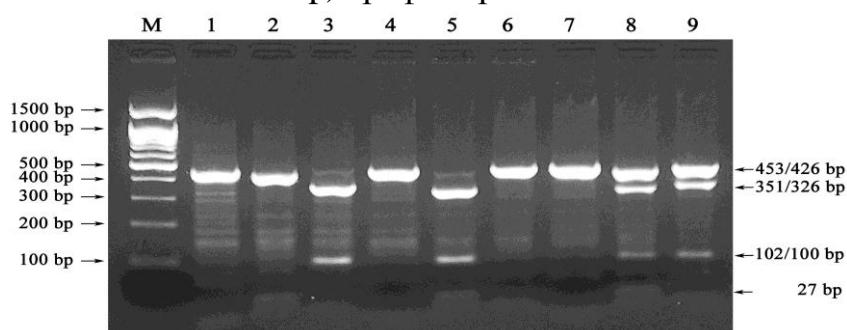


Рисунок 4 – Электрофореграмма результата *HinfI*- и *HindIII*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *A* и *B* гена каппа-казеина крупного рогатого скота  
(пара праймеров АВ1+АВ2)

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1,5 kb (СибЭнзим); 1) цельный ПЦР-фрагмент генотипа *BB* гена каппа-казеина (453 bp); 2) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *BB* (426/27 bp); 3) *HindIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *BB* (351/102 bp); 4) цельный ПЦР-фрагмент генотипа *AA* гена каппа-казеина (453 bp); 5) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (326/100/27 bp); 6) *HindIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (453 bp); 7) цельный ПЦР-фрагмент генотипа *AB* гена каппа-казеина (453 bp); 8) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (426/326/100/27 bp); 9) *HindIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (453/351/102 bp).

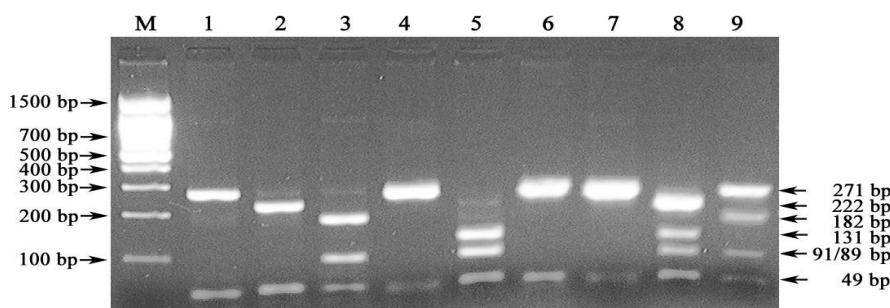


Рисунок 5 – Электрофореграмма результата *HinfI*- и *HindIII*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *A* и *B* гена каппа-казеина крупного рогатого скота  
(пара праймеров К1+К2)

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1,5 kb (СибЭнзим); 1) цельный ПЦР-фрагмент генотипа *BB* гена каппа-казеина (271 bp); 2) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *BB* (222/49 bp); 3) *HindIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *BB* (182/89 bp); 4) цельный ПЦР-фрагмент генотипа *AA* гена каппа-казеина (271 bp); 5) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (131/91/49 bp); 6) *HindIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (271 bp); 7) цельный ПЦР-фрагмент генотипа *AB* гена каппа-казеина (271 bp); 8) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (222/131/91/49 bp); 9) *HindIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (271/182/89 bp).

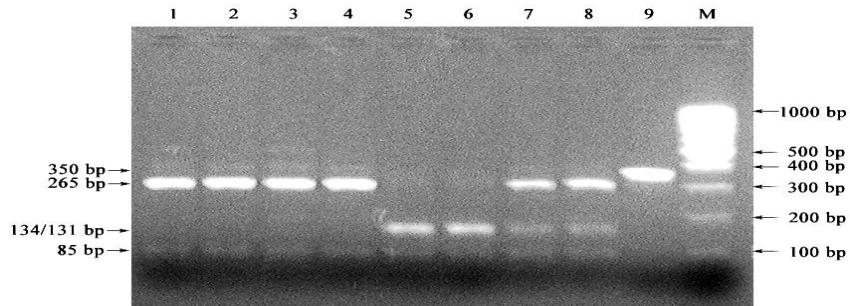


Рисунок 6 – Электрофорограмма результата *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *A* и *B* гена каппа-казеина крупного рогатого скота

(пара праймеров JK5+JK3)

Обозначения: 1-4) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *BB* (265/85 bp); 5-6) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (134/131/85 bp); 7-8) *HinfI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (265/134/131/84 bp); 9) цельный ПЦР-фрагмент генотипа *AB* гена каппа-казеина (350 bp); М) ДНК-маркеры 100 bp + 1 kb (СибЭнзим).

#### 2.2.2.4 Разработка способа проведения ПЦР для идентификации аллельных вариантов гена каппа-казеина крупного рогатого скота

К одним из подходов к оценке аллельного полиморфизма *CSN3*-гена крупного рогатого скота относится изобретение «Способ проведения аллель-специфичной ПЦР для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* гена каппа-казеина» [Вафин Р.Р. и др., 2008], являющееся ближайшим аналогом предлагаемого способа.

Нами разработан способ проведения аллель-специфичной ПЦР для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* *CSN3*-гена, включающий подготовку пробы нуклеиновой кислоты, внесение указанной пробы в реакционную смесь для ПЦР, состоящую из дНТФ, буферной системы, Таq ДНК полимеразы, 4-х аллель-специфичных праймеров; проведение ПЦР; детекцию амплифицированных фрагментов ДНК методом гель-электрофореза; **отличающийся** от ближайшего аналога изобретения тем, что, используются другие последовательности олигонуклеотидных праймеров, имеющие дополнительные некомплémentарные ни к одному из аллелей *CSN3*-гена «mismatch-нуклеотиды» в позиции –2 от 3'-терминальных нуклеотидов праймеров:

A-F-d: 5'-GGGGGCTGTTCACACACAAAAACAGTAGAG-3',

A-R-d: 5'-GGGGGGTGCCTAACCTTATACAGCCTCCG-3,

B-F-d: 5'-CCCCCGTGAGCCTACAAAGTACACCTACGAT-3',

B-R-d: 5'-CCCCCGATGTCTCCTTAGAGTATTAGCCC-3'.

По результатам практических исследований, направленных на апробацию разработанного нами способа проведения аллель-специфичной ПЦР для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *B* *CSN3*-гена, нами получен обеспечиваемый заявленным способом технический результат и в конечном в эффективной идентификации генотипов ввиду корректной интерпретации генерируемых аллель-специфичных ПЦР-продуктов (рисунок 7).

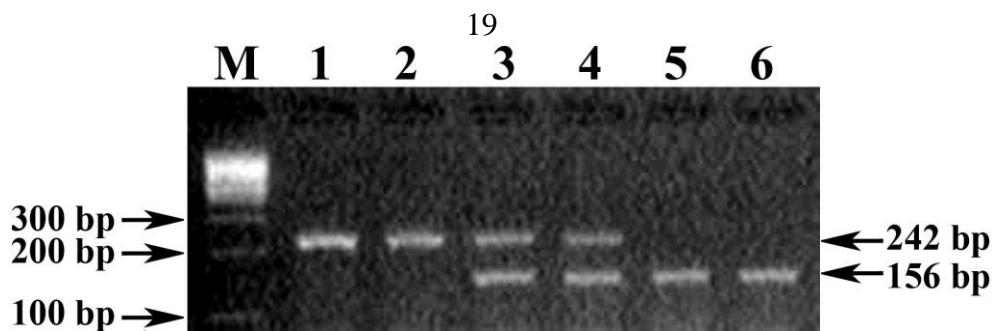


Рисунок 7 – Электрофореграмма результата предложенного способа проведения АС-ПЦР-идентификации аллелей *A* и *B* гена каппа-казеина крупного рогатого скота (две пары праймеров A-F-d+A-R-d и B-F-d+B-R-d)  
Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp (СибЭнзим); 1-2) АС-ПЦР-профиля генотипа AA (242 bp); 3-4) АС-ПЦР-профиля генотипа AB (242/156 bp); 5-6) АС-ПЦР-профиля генотипа BB (156 bp).

### **2.2.2.5 Апробация способа проведения ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов гена бета-лактоглобулина крупного рогатого скота**

В результате апробации признанного ПЦР-ПДРФ-протокола для идентификации аллельных вариантов *BLG*-гена крупного рогатого скота были протестирована пара олигонуклеотидных праймеров: BLGP3+BLGP4.

Пара праймеров BLGP3+BLGP4 инициируют амплификацию участка *BLG*-гена крупного рогатого скота длиной 262 bp, соответственно *BLG*-ПДРФ-*HaeIII* профиль (*AA* = 153/109 bp, *BB* = 109/79/74 bp и *AB* = 153/109/79/74 bp) распознаёт его генотипы (рисунок 8).

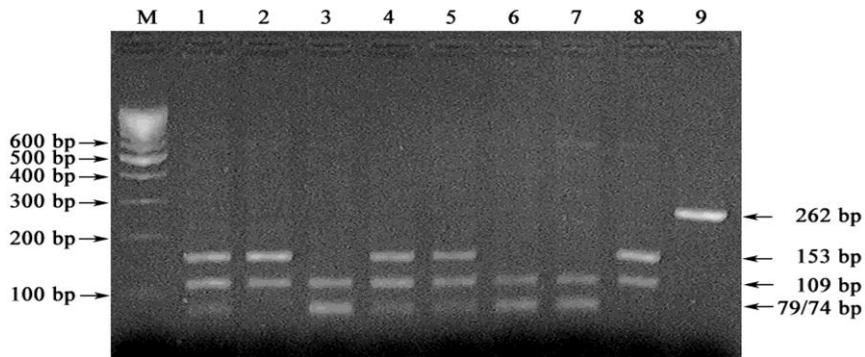


Рисунок 8 – Электрофореграмма результата *HaeIII*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *A* и *B* гена бета-лактоглобулина крупного рогатого скота (пара праймеров BLGP3+BLGP4)  
Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1 kb (СибЭнзим); 1, 4, 5) *HaeIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (153/109/79/74 bp); 2, 8) *HaeIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (153/109 bp); 3, 6, 7) *HaeIII*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *BB* (109/79/74 bp); 9) цельный ПЦР-фрагмент гена бета-лактоглобулина (262 bp).

### **2.2.2.6 Апробация способа проведения ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов гена альфа-лактальбумина крупного рогатого скота**

В результате апробации признанного ПЦР-ПДРФ-протокола для идентификации аллельных вариантов *LALBA*-гена крупного рогатого скота были протестирована пара олигонуклеотидных праймеров: ALF-LAC1+ALF-LAC2. Пара праймеров ALF-LAC1+ALF-LAC2 инициируют амплификацию участка *LALBA*-гена крупного рогатого скота длиной 430 bp, соответственно *LALBA*-ПДРФ-*MhiI* профиль (*AA* = 328/102 bp, *BB* = 211/117/102 bp и *AB* = 328/211/117/102 bp) распознаёт его генотипы (рисунок 9).

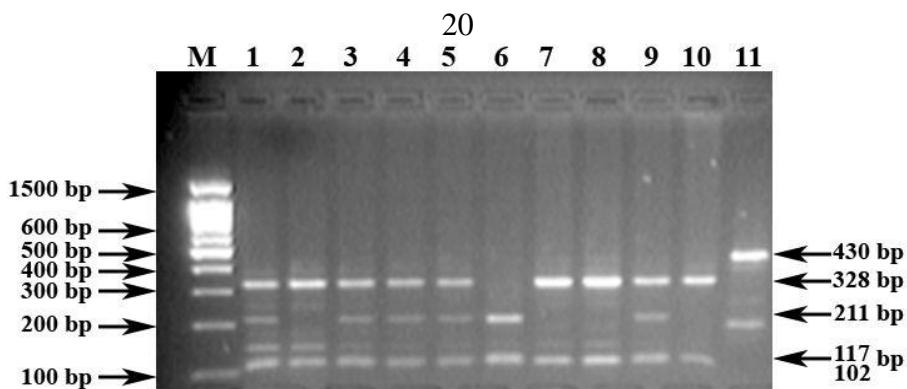


Рисунок 9 – Электрофореграмма результата *MhiI*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *A* и *B* гена альфа-лактальбумина крупного рогатого скота (пара праймеров ALF-LAC1+ALF-LAC2) Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1,5 kb (СибЭнзим); 1, 3, 4, 5, 9) *MhiI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (328/211/117/102 bp); 2, 7, 8, 10) *MhiI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (328/102 bp); 6) *MhiI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотип *BB* (211/117/102 bp); 11) цельный ПЦР-фрагмент гена альфа-лактальбумина (430 bp).

### **2.2.2.7 Апробация способа проведения ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов гена альфа-лактальбумина крупного рогатого скота**

В результате апробации признанного ПЦР-ПДРФ-протокола для идентификации аллельных вариантов *LALBA*-гена крупного рогатого скота были протестирована пара олигонуклеотидных праймеров: ALF-LAC1+ALF-LAC2. Пара праймеров ALF-LAC1+ALF-LAC2 инициируют амплификацию участка *LALBA*-гена крупного рогатого скота длиной 430 bp, соответственно *LALBA*-ПДРФ-*MhiI* профиль (*AA* = 328/102 bp, *BB* = 211/117/102 bp и *AB* = 328/211/117/102 bp) распознаёт его генотипы (рисунок 10).

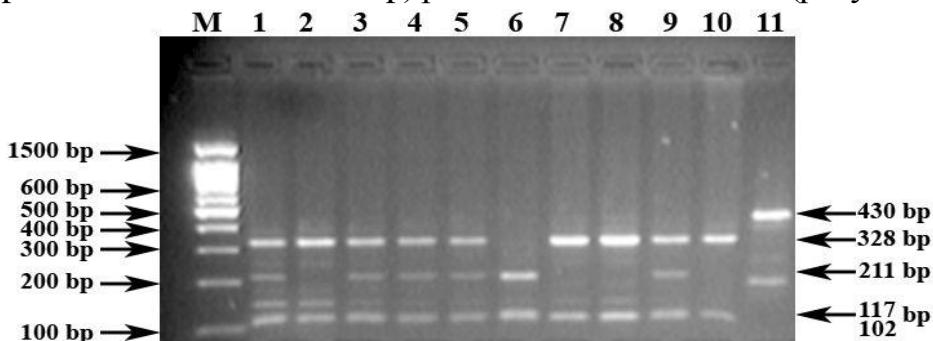


Рисунок 10 – Электрофореграмма результата *MhiI*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *A* и *B* гена альфа-лактальбумина крупного рогатого скота (пара праймеров ALF-LAC1+ALF-LAC2) Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1,5 kb (СибЭнзим); 1, 3, 4, 5, 9) *MhiI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (328/211/117/102 bp); 2, 7, 8, 10) *MhiI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (328/102 bp); 6) *MhiI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотип *BB* (211/117/102 bp); 11) цельный ПЦР-фрагмент гена альфа-лактальбумина (430 bp).

### **2.2.2.8 Апробация способа проведения ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов гена соматотропина крупного рогатого скота**

В результате апробации признанного ПЦР-ПДРФ-протокола для идентификации аллельных вариантов *GH*-гена крупного рогатого скота были протестирована пара олигонуклеотидных праймеров: GH5F+GH5R. Пара праймеров GH5F+GH5R инициируют амплификацию участка *GH*-гена крупного рогатого скота длиной 211 bp, соответственно *GH*-ПДРФ-*AluI* профиль (*VV* = 211 bp, *LL* = 159/52 bp и *VL* = 211/159/52 bp) распознаёт его генотипы (рисунок 11).

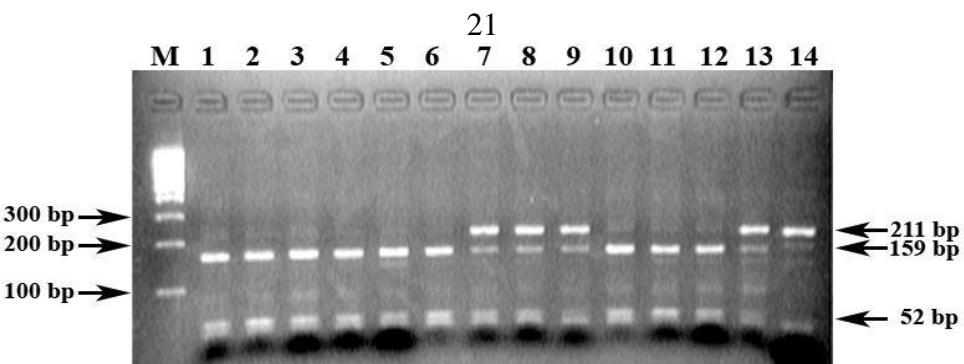


Рисунок 11 – Электрофореграмма результата *AluI*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *V* и *L* гена соматотропина крупного рогатого скота (пара праймеров GH5F+GH5R)  
Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1 kb (СибЭнзим); 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 11, 12) *AluI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *LL* (159/52 bp); 7, 8, 9, 13) *AluI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *VL* (211/159/52 bp); 14) цельный ПЦР-фрагмент гена соматотропина (211 bp).

### 2.2.2.9 Апробация способа проведения ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов гена пролактина крупного рогатого скота

В результате апробации признанного ПЦР-ПДРФ-протокола для идентификации аллельных вариантов *PRL*-гена крупного рогатого скота были протестирована пара олигонуклеотидных праймеров: PRL1+PRL2. Пара праймеров PRL1+PRL2 инициируют амплификацию участка *PRL*-гена крупного рогатого скота длиной 156 bp, соответственно *PRL*-ПДРФ-*RsaI* профиль ( $AA = 156$  bp,  $BB = 82/74$  bp и  $AB = 156/82/74$  bp) распознаёт его генотипы (рисунок 12).

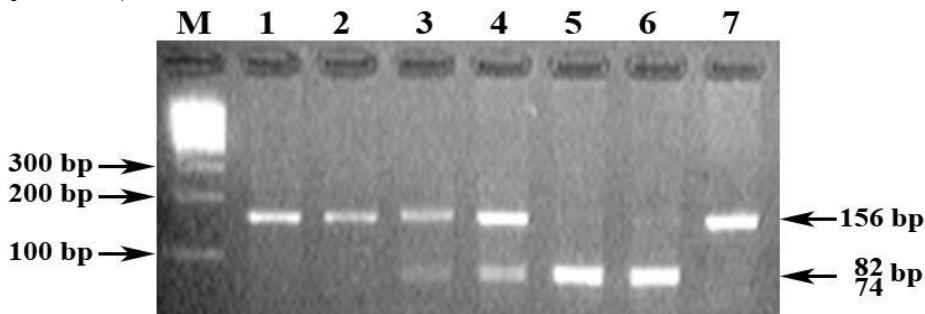


Рисунок 12 – Электрофореграмма результата *RsaI*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *A* и *B* гена пролактина крупного рогатого скота (пара праймеров PRL1+PRL2)  
Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1 kb (СибЭнзим); 1, 2, *RsaI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (156 bp); 3, 4) *RsaI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AB* (156/82/74 bp); *RsaI*-ПЦР-ПДРФ генотипа *BB* (82/74 bp); 7) цельный ПЦР-фрагмент гена пролактина (156 bp).

### 2.2.2.10 Апробация способа проведения ПЦР для идентификации аллельных вариантов гена лептина крупного рогатого скота

В результате апробации признанного ПЦР-протокола для идентификации аллельных вариантов *LEP*-гена крупного рогатого скота были протестированы две пары олигонуклеотидных праймеров: LEP-F1+LEP-R1 и LEP-F2+LEP-R2. Две пары праймеры LEP-F1+LEP-R1 и LEP-F2+LEP-R2 инициируют амплификацию участков *LEP*-гена крупного рогатого скота длиной 239 и 164 bp (аллель *C*), 239 и 131 bp (аллель *T*), соответственно генотипы  $CC = 239/164$  bp,  $TT = 239/131$  и  $CT = 239/164/131$  bp (рисунок 13).

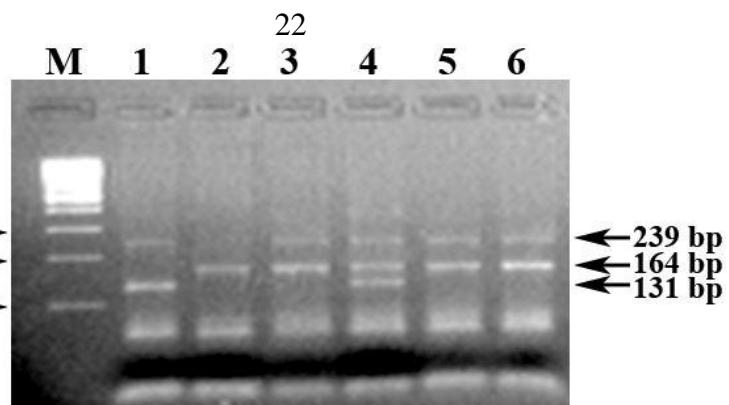


Рисунок 13 – Электрофореграмма результата АС-ПЦР-идентификации аллелей *C* и *T* гена лептина крупного рогатого скота (две пары праймеров LEP-F1+LEP-R1 и LEP-F2+LEP-R2). Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1 kb (СибЭнзим); 1) АС-ПЦР-профиль генотипа *TT* (239/131 bp); 2, 3, 5, 6) АС-ПЦР-профиль генотипа *CC* (239/164 bp); 4) АС-ПЦР-профиль генотипа *CT* (239/164/131).

### 2.2.2.11 Апробация способа проведения ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов гена тиреоглобулина крупного рогатого скота

В результате апробации признанного ПЦР-ПДРФ-протокола для идентификации аллельных вариантов *TG*-гена крупного рогатого скота были протестирована пара олигонуклеотидных праймеров: TG5-F+TG5-R. Пара праймеров TG5-F+TG5-R инициируют амплификацию участка *TG*-гена крупного рогатого скота длиной 548 bp, соответственно *TG*-ПДРФ-*BstX2I* профиль (*CC* = 295/178/75 bp, *TT* = 473/75 bp и *CT* = 473/295/178/75 bp) распознаёт его генотипы (рисунок 14).

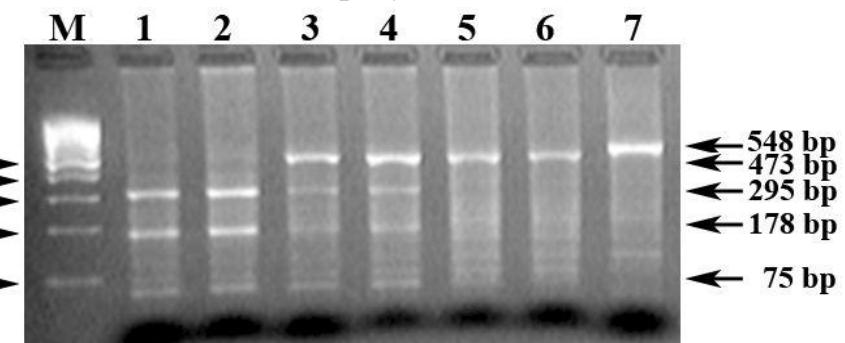


Рисунок 14 – Электрофореграмма результата *BstX2I*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *C* и *T* гена тиреоглобулина крупного рогатого скота (пара праймеров TG5-F+TG5-R). Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1 kb (СибЭнзим); 1, 2,) *BstX2I*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *CC* (295/178/75); 3, 4) *BstX2I*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *CT* (473/295/178/75 bp); 5, 6) *BstX2I*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *TT* (473/75 bp); 7) цельный ПЦР-фрагмент гена тиреоглобулина (548 bp).

### 2.2.2.12 Разработка способов проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов гена диацилглицерол-О-ацилтрансферазы крупного рогатого скота

Одним из подходов к детекции единичных нуклеотидных замен (SNP) и идентификации аллельных вариантов генов является способ ПЦР-ПДРФ (PCR-RFLP), включая её модификацию – PCR-PIRA (PCR-primer introduced restriction analysis), являющуюся ближайшим аналогом предлагаемого способа [Komisarek J., Michalak, A. 2008].

Нами разработан и апробирован на примере генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *K* гена *DGAT1*, схожий с прототипом [Komisarek J., Michalak, A.

2008], способ проведения ПЦР-ПДРФ, включающий подготовку пробы нуклеиновой кислоты, внесение указанной пробы в реакционную смесь для ПЦР, состоящую из деионизированной воды, дНТФ, буферной системы, Таq ДНК полимеразы, праймеров, проведение ПЦР, последующее эндонуклеазное расщепление ПЦР-продукта рестриктазой и детекцию полученных ПЦР-ПДРФ-фрагментов методом гель-электрофореза, **отличающийся** тем, что на этапе ПЦР в постановке «Single PCR» используются три олигонуклеотидных праймера, два из которых являются аллельспецифичными, но с заданным идентификационным сайтом рестрикции для одного из них, а третий праймер – общий для обеих аллелей анализируемого гена. Праймеры DGAT1-1+DGAT1-2+DGAT1-3 инициируют амплификацию участка *DGAT1*-гена крупного рогатого скота длиной 100 bp, соответственно *DGAT1*-ПДРФ-*TaqI* профиль *AA* = 82/18 bp, *KK* = 100 bp и *AK* = 100/82/18 bp (рисунок 15).

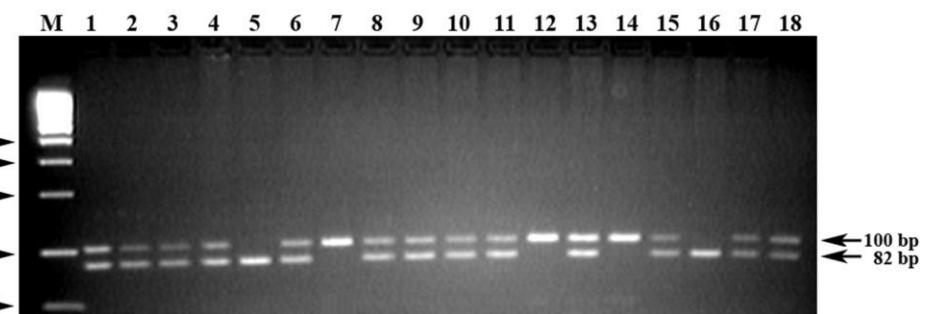


Рисунок 15 – Электрофореграмма результата *TaqI*-ПЦР-ПДРФ-идентификации аллелей *A* и *K* гена диацилглицерол О-ацилтрансферазы крупного рогатого скота (трёх праймеров DGAT1-1+DGAT1-2+DGAT1-3)

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 50 bp (СибЭнзим); 1-4, 6, 8-11, 13, 15, 17-18) *TaqI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AK* (100/82/18); 5, 16) *TaqI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *AA* (82/18 bp); 7, 12, 14) *TaqI*-ПЦР-ПДРФ-профиль генотипа *KK* (100 bp).

По результатам практических исследований, направленных на апробацию разработанного нами способа проведения ПЦР-ПДРФ, нами получен обеспечиваемый заявленным способом технический результат, выраженный в эффективной идентификации генотипов (на примере генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *K* гена *DGAT1*) ввиду корректной интерпретации генерируемых генотип-специфичных фрагментов.

Также нами был разработан способ проведения ПЦР для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *K* гена *DGAT1* в формате гибридизационно-флуоресцентной детекции в режиме «реального времени», предусматривающий использование двух 5-/флуоресцентно-меченых прямых аллель-специфичных праймеров (DGAT1-A+DGAT1-K), одного немодифицированного обратного праймера (DGAT1-R) и одного анти-праймера (DGAT1-S), меченого гасителем флуоресценции с 3-/конца олигонуклеотида. Наглядный результат апробации предложенного способа проведения ПЦР в режиме «реального времени» представлен на рисунке 16.

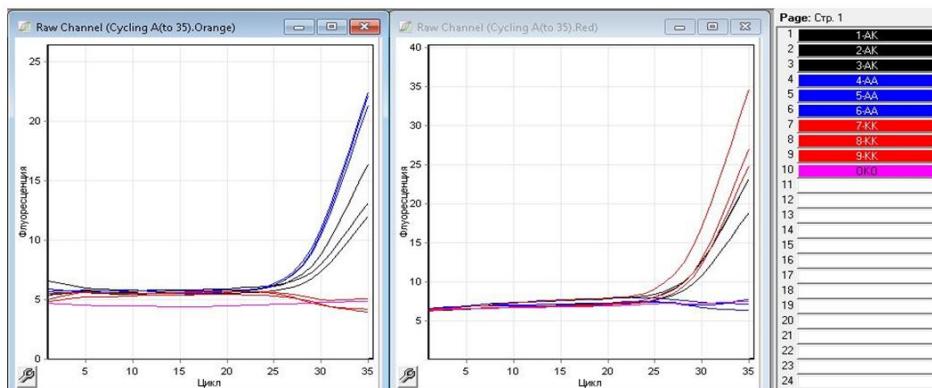


Рисунок 16 – Результат предложенного способа проведения ПЦР в режиме «реального времени» для генотипирования кр.рог.ск. по аллелям *A* и *K* гена *DGAT1* (праймеры DGAT1-A+DGAT1-K+DGAT1-R и анти-праймер DGAT1-S)

Обозначения. Слева – канал детекции Orange. Справа – канал детекции Red. Кривые роста флуоресценции для генотипов *AA* (синие линии), *AK* (черные линии) и *KK* (красные линии). ОКО (розовые линии).

В результате практических исследований, направленных на апробацию разработанного нами способа проведения ПЦР для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям *A* и *K* гена *DGAT1* в формате гибридизационно-флуоресцентной детекции в режиме «реального времени» нами также был получен обеспечиваемый предложенным способом технический результат, выраженный в эффективной идентификации искомых генотипов (*AA*, *KK*, *AK*) корректной интерпретацией данных кривых увеличения интенсивности флуоресценции.

### 2.2.2.13 Апробация способа проведения ПЦР-ПДРФ для идентификации аллельных вариантов *CVM*-мутации крупного рогатого скота

В результате аprobации признанного PCR-PIRA-протокола для идентификации аллельных вариантов *SLC35A3*-гена крупного рогатого скота были протестирована пара олигонуклеотидных праймеров: CVM-F+CVM-R. Пара праймеров CVM-F+CVM-R инициируют амплификацию участка *SLC35A3*-гена крупного рогатого скота длиной 233 bp (рисунок 17), соответственно *SLC35A3*-ПДРФ-*PstI* профиль (гомозиготный генотип здоровых животных *TV/TV* = 212 bp, гомозиготный мутантный генотип *CV/CV* = 233 bp и гетерозиготный мутантный генотип *CV/TV* = 233/212 bp) распознаёт его генотипы.

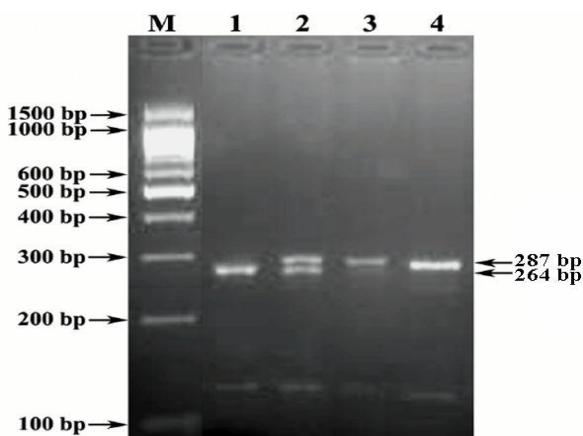


Рисунок 17 – Электрофорограмма результата PCR-PIRA-*PstI*-идентификации *CV* и *TV* аллелей гена *SLC35A3*, сопряжённого с *CVM*-мутацией крупного рогатого скота (пара праймеров CVM-F+CVM-R)

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1,5 kb (СибЭнзим); 1) PCR-RIPA-*PstI*-профиль генотипа *TV/TV* (264/23 bp) [отсутствие носительства *CVM*-мутации]; 2) PCR-RIPA-*PstI*-профиль генотипа *CV/TV* (287/264/23 bp) [гетерозиготное носительство *CVM*-мутации]; 3) PCR-RIPA-*PstI*-профиль генотипа *CV/CV* (287 bp) [гомозиготное носительство *CVM*-мутации]; 4) цельный ПЦР-фрагмент гена *SLC35A3* (287 bp).

### 2.2.2.14 Апробация способа проведения ПЦР для идентификации аллельных вариантов *FXID*-мутации крупного рогатого скота

В результате апробации признанного АС-ПЦР-протокола для идентификации аллельных вариантов *F11*-гена крупного рогатого скота были протестирована пара олигонуклеотидных праймеров: FXID-F+FXID-R. Пара праймеров FXID-F+FXID-R инициируют амплификацию участков *F11*-гена крупного рогатого скота (рисунок 18) длиной 244 bp (аллель «+») и 320 bp (аллель «-»), соответственно генотипы *+/+* = 244 bp, *+-* = 320/244 bp и *-/-* = 320 bp.

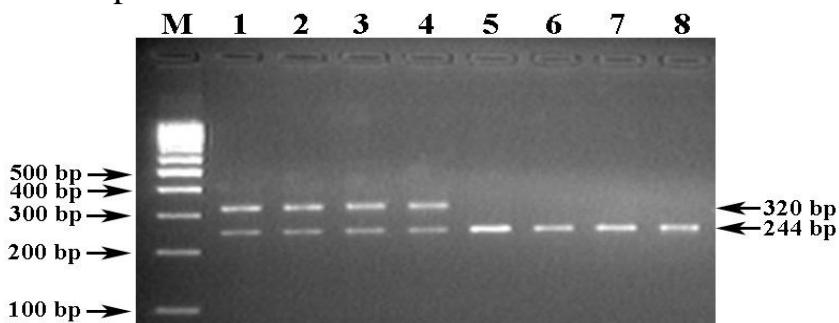


Рисунок 18 – Электрофорограмма результата АС-ПЦР-идентификации «+» и «-» аллелей гена *F11*, сопряжённого с *FXID*-мутацией крупного рогатого скота (пара праймеров FXID-F+FXID-R)

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1,5 kb (СибЭнзим); 1, 2, 3, 4) АС-ПЦР-профиль генотипа *+-* (320/244 bp) [гетерозиготное носительство *FXID*-мутации]; 5, 6, 7, 8) АС-ПЦР-профиль генотипа *+/+* (244 bp) [отсутствие носительства *FXID*-мутации].

### 2.2.2.15 Разработка способа проведения ПЦР для идентификации аллельных вариантов гена миостатина крупного рогатого скота

Для оценки качества работы протокола АС-ПЦР по выявлению у крупного рогатого скота мутации в гене *MSTN* была протестирована пара сконструированных Тюлькиным С.В. и др. в 2012 г. праймеров: MS-F и MS-R. Праймеры MS-R+MS-F инициируют амплификацию ПЦР-фрагмента для выявления мутации в гене *MSTN* крупного рогатого скота (рисунок 19) длиной 119 bp (здоровые животные), 108 bp (больные животные) и 119/108 bp (животные-носители мутации).

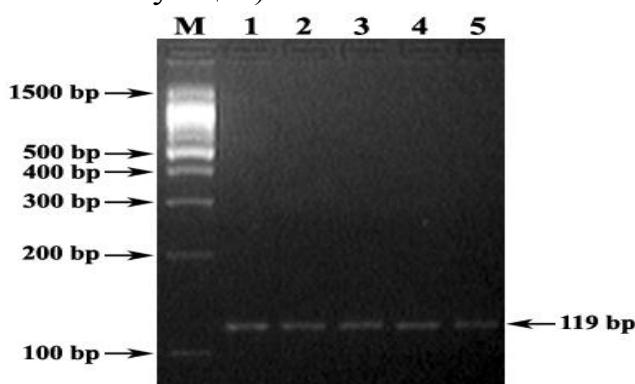


Рисунок 19 – Электрофорограмма результата АС-ПЦР-идентификации мутации в гене *MSTN* (миостатин) крупного рогатого скота (пара праймеров MS-R+MS-F)

Обозначения: М) ДНК-маркеры 100 bp + 1,5 kb (СибЭнзим); 1-5) АС-ПЦР-профиль гомозиготного нормального генотипа *MSTN*-гена (119 bp).

### **2.2.3 Изучение аллельного полиморфизма генов белков молока, гормонов, фермента и наследственных заболеваний у крупного рогатого скота**

#### **2.2.3.1 Изучение аллельного полиморфизма гена альфа S1-казеина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *CSN1S1*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей с *BB*-генотипом 64 (91,4%) и с *BC*-генотипом 6 (8,6%) особей; среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок все животные (158 и 164 коровы) были гомозиготами с *BB*-генотипом. При этом *CC*-генотип *CSN1S1*-гена не выявлен ни быков и ни у коров-первотёлок. Частота аллеля *B* среди быков составила 0,96, а аллеля *C* – 0,04, тогда как среди коров встречался только аллель *B* (1,0).

#### **2.2.3.2 Изучение аллельного полиморфизма гена бета-казеина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *CSN2*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей с *AA*-генотипом 61 (87,1%) и с *AB*-генотипом 9 (12,9%) особей; среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с *AA*-генотипом 131-141 (79,9-89,2%) и с *AB*-генотипом 17-33 (10,8-20,1%) животных соответственно. При этом *BB*-генотип *CSN2*-гена не выявлен ни у быков-производителей и ни у коров-первотёлок. Частота встречаемости желательного *B* аллельного варианта *CSN2*-гена у крупного рогатого скота различается в зависимости от породы. В проанализированных стадах крупного рогатого скота преобладает *A* аллельный вариант *CSN2*-гена (0,90-0,95), частота встречаемости ценного аллеля *B* гена составляет всего 0,05-0,10.

#### **2.2.3.3 Изучение аллельного полиморфизма гена каппа-казеина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *CSN3*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей с *AA*-генотипом 48 (68,6%), с *AB*-генотипом 18 (25,7%) и с *BB*-генотипом 4 (5,7%) особей; среди первотёлок чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа с *AA*-генотипом 109-114 (66,5-72,2%), с *AB*-генотипом 43-52 (27,2-31,7%) и с *BB*-генотипом 1-3 (0,6-1,8%) животных. При этом частота аллелей *A* и *B* *CSN3*-гена среди проанализированных популяций крупного рогатого скота была почти неразличимой и составила 0,81-0,86 и 0,14-0,19 соответственно.

### **2.2.3.4 Изучение аллельного полиморфизма гена бета-лактоглобулина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *BLG*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей с *AA*-генотипом 9 (12,9%), с *AB*-генотипом 26 (37,1%) и с *BB*-генотипом 35 (50,0%) особей; среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с *AA*-генотипом 20-25 (12,2-15,8%), с *AB*-генотипом 73-79 (46,2-48,2%) и с *BB*-генотипом 60-65 (38,0-39,6%) животных. При этом частота аллелей *A* и *B* *BLG*-гена среди проанализированных популяций крупного рогатого скота была почти неразличимой и составила 0,31-0,39 и 0,61-0,69 соответственно.

### **2.2.3.5 Изучение аллельного полиморфизма гена альфа-лактальбумина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *LALBA*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей с *AA*-генотипом 23 (32,9%), с *AB*-генотипом 35 (50,0%) и с *BB*-генотипом 12 (17,1%) особей; среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с *AA*-генотипом 64-80 (39,0-50,6%), с *AB*-генотипом 63-71 (39,9-43,3%) и с *BB*-генотипом 15-29 (9,5-17,7%) животных. При этом частота аллелей *A* и *B* *LALBA*-гена среди проанализированных быков и первотёлок холмогорской породы татарстанского типа была почти неразличимой и составила 0,58-0,61 и 0,39-0,42 соответственно; тогда как среди чёрно-пёстро × голштинских коров встречаемость аллеля *A* (0,71) была выше, а аллеля *B* (0,29) ниже соответственно.

### **2.2.3.6 Изучение аллельного полиморфизма гена соматотропина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *GH*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей и чёрно-пёстро × голштинских коров с *LL*-генотипом 50-127 (71,4-80,4%) и с *VL*-генотипом 20-31 (19,6-28,6%) особей, а производителей и коров с *VV*-генотипом в данных стадах не выявлено; среди холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с *LL*-генотипом 69 (42,1%), с *VL*-генотипом 84 (51,2%) и с *VV*-генотипом 11 (6,7%) животных. При этом частота аллелей *L* и *V* *GH*-гена среди проанализированных быков и чёрно-пёстро × голштинских первотёлок почти неразличимой и составила 0,86-0,90 и 0,10-0,14 соответственно; тогда как среди коров холмогорской породы татарстанского типа встречаемость аллеля *L* (0,68) была ниже, а аллеля *V* (0,32) выше соответственно.

### **2.2.3.7 Изучение аллельного полиморфизма гена пролактина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *PRL*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по

голштинской породе быков-производителей с *AA*-генотипом 53 (75,7%), с *AB*-генотипом 16 (22,9%) и с *BB*-генотипом 1 (1,4%) особей; среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с *AA*-генотипом 122-126 (64,4-79,7%) и с *AB*-генотипом 32-40 (20,3-24,4%), а животных с *BB*-генотипов выявлено только 2 (1,2%) среди холмогорских коров. При этом частота аллелей *A* и *B* *PRL*-гена среди проанализированных популяций крупного рогатого скота была почти неразличимой и составила 0,87-0,90 и 0,10-0,13 соответственно.

### **2.2.3.8 Изучение аллельного полиморфизма гена лептина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *LEP*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей с *CC*-генотипом 23 (32,9%), с *CT*-генотипом 37 (52,8%) и с *TT*-генотипом 10 (14,3%) особей; среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с *CC*-генотипом 41-65 (25,0-41,1%), с *CT*-генотипом 73-91 (50,0-55,5%) и с *TT*-генотипом 20-32 (12,7-19,5%) животных. При этом частота аллелей *A* и *B* *LEP*-гена среди проанализированных популяций крупного рогатого скота была почти неразличимой и составила 0,53-0,64 и 0,36-0,47 соответственно.

### **2.2.3.9 Изучение аллельного полиморфизма гена тиреоглобулина у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *TG5*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей с *CC*-генотипом 44 (62,9%), с *CT*-генотипом 25 (35,7%) и с *TT*-генотипом 1 (1,4%) особей; среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с *CC*-генотипом 93-114 (56,7-72,2%), с *CT*-генотипом 44-64 (27,8-39,0%) и с *TT*-генотипом 7 (4,3%) животных. Причем в стаде чёрно-пёстро × голштинских коров с *TT*-генотипом не выявлено. При этом частота аллелей *C* и *T* *TG5*-гена среди проанализированных быков и чёрно-пёстро × голштинских первотёлок почти неразличимой и составила 0,81-0,86 и 0,14-0,19 соответственно; тогда как среди коров холмогорской породы татарстанского типа встречаемость аллеля *C* (0,76) была ниже, а аллеля *T* (0,24) выше соответственно.

### **2.2.3.10 Изучение аллельного полиморфизма гена фермента диацилглицерол-О-ацилтрансферазы у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по *DGAT1*-гену было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей с *AA*-генотипом 38 (54,3%), с *AK*-генотипом 28 (40,0%) и с *KK*-генотипом 4 (5,7%) особей; среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с *AA*-генотипом 75-101 (47,5-61,6%), с *AK*-генотипом 59-77 (36,0-48,7%) и с *KK*-генотипом 4-6 (2,4-3,8%) животных. При

этом частота аллелей *A* и *K* *DGAT1*-гена среди проанализированных популяций крупного рогатого скота была почти неразличимой и составила 0,72-0,80 и 0,20-0,28 соответственно.

### **2.2.3.11 Изучение аллельного полиморфизма генов наследственных заболеваний у крупного рогатого скота**

После проведения анализа крупного рогатого скота на уровне ДНК распределение генотипов по генам *CD18* (*BLAD*-мутация), *PYGM* (*GSD*-мутация), *UMPS* (*DUMPS*-мутация), *ASS* (*BC*-мутация), *MSTN* (мутация миостатина) было следующим: среди чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей, а также среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок выявлен только гомозиготный генотип здоровых животных. Тогда распределение генотипов по *SLC35A3*-гену (*CVM*-мутация) и *F11*-гену (*FXID*-мутация) среди быков было следующим: с *TV/TV*-генотипом 68 (97,1%) и *CV/TV*-генотипом 2 (2,9%) особей, с *+/-* генотипом 69 (98,6%) и *+/-* генотипом 1 (1,4%) особей, соответственно. При этом частота аллелей *TV* и *CV SLC35A3*-гена и аллелей «+» и «-» *F11*-гена среди быков составила 0,986 и 0,014; 0,993 и 0,007, соответственно. А среди коров разных пород встречаемость здорового и мутантного аллелей составила 1,0 и 0, соответственно.

### **2.2.4 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами белков молока, гормонов и фермента**

#### **2.2.4.1 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами бета-казеина**

Исследованиями выявлено, что в среднем убой первотёлок за лактацию в группе с генотипом *AB* гена *CSN2* составил 4212-5370 кг. Первотёлки чёрно-пёстро × голштинские и холмогорской породы с генотипом *AA* гена *CSN2* уступали сверстницам на 52 кг и 489 кг ( $P<0,001$ ) молока соответственно. Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,83% (генотип *AA*) до 3,88% (генотип *AB*). По массовой доле жира в молоке коровы разных пород с гомозиготным генотипом *AA* гена *CSN2* уступали сверстницам с гетерозиготным генотипом *AB* на 0,01-0,04%. Более высокое количество жира в молоке за лактацию получено у животных разных пород с генотипом *AB*, что в среднем на 3,7 и 19,5 кг ( $P<0,001$ ) молочного жира больше, чем от коров с генотипом *AA*. При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипом *AB* и составило 163,0-208,4 кг. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,20-3,24% (генотип *AA*) до 3,28-3,36% (генотип *AB*). Получены также данные, что коровы разных пород с гетерозиготным генотипом *AB* гена *CSN2*, значительно превосходили по массовой доле белка в молоке животных с гомозиготным генотипом *AA* гена *CSN2* на 0,08-0,12% ( $P<0,001$ ). От коров разных пород с генотипом *AA* было получено за лактацию на 5,1 и 22,3 кг ( $P<0,001$ ) молочного белка меньше, чем от коров с генотипом *AB* гена *CSN2*. При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипом *AB* и составило 138,2-180,4 кг (таблица 1).

Из всего выше сказанного можно сделать вывод, что более высокой молочной продуктивностью почти по всем показателям характеризовались первотёлки чёрно-пёстро

× голштинские и холмогорской породы татарстанского типа с генотипом *AB* гена бета-казеина в сравнении с аналогами генотипа *AA*.

Таблица 1 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *CSN2*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки			
удой, кг	4160±61,0	4212±117,8	-
жир, %	3,83±0,02	3,87±0,03	-
молочный жир, кг	159,3±2,37	163,0±4,20	-
белок, %	3,20±0,01	3,28±0,02***	-
молочный белок, кг	133,1±1,98	138,2±3,69	-
Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа			
удой, кг	4881±64,2	5370±105,7***	-
жир, %	3,87±0,02	3,88±0,03	-
молочный жир, кг	188,9±2,60	208,4±4,11***	-
белок, %	3,24±0,01	3,36±0,02***	-
молочный белок, кг	158,1±2,10	180,4±3,80***	-

Разница между наибольшими и наименьшим показателями, \* -  $P<0,05$ , \*\* -  $P<0,01$ , \*\*\* -  $P<0,001$  и далее по тексту

#### 2.2.4.2 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами каппа-казеина

Исследованиями выявлено, что среднем убой коров за лактацию в группе разных пород с генотипом *AA* гена *CSN3* составил 4110 кг и 4917 кг, *AB* – 4308 кг 5108 кг, *BB* – 5023 кг. Первотёлки с генотипом *AA* уступали сверстницам с другими генотипами на 106-198 кг молока. Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,84% (генотипы *AA* и *AB*) до 3,88% (генотип *AB*). По массовой доле жира в молоке коровы разных пород с гомозиготным генотипом *AA* гена *CSN3* уступали сверстницам, имеющим в геноме аллельный вариант *B* в гетерозиготной или гомозиготной форме на 0-0,02%. Более высокое количество жира в молоке за лактацию получено от особей с генотипами *AB* и *BB*, что выше чем у сверстниц с генотипом *AA* на 4,6-8,4 кг. При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипом *AB* и составило 165,4-198,2 кг. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,18% (генотип *AA*) до 3,45% (генотип *BB*). Получены также данные, что первотёлки разных пород, имеющие в своём геноме *B* аллель гена *CSN3*, превосходили по массовой доле белка в молоке особей с гомозиготным генотипом *AA* на 0,12-0,23% ( $P<0,001$ ). От коров с генотипом *AA* было получено за лактацию на 11,5-15,0 кг молочного белка меньше, чем от коров с другими генотипами. Причём достоверная разница ( $P<0,01-0,001$ ) по этому показателю была между генотипами *AA* и *AB*. При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипами *AB* и *BB*, и составило 142,2 кг и 173,3 кг (таблица 2).

Из всего выше сказанного можно сделать вывод, что в целом более высокая молочная продуктивность отмечена у первотёлок чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской

породы татарстанского типа с генотипом *AB* и *BB* гена каппа-казеина по сравнению со сверстницами с генотипом *AA*.

Таблица 2 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *CSN3*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки			
удой, кг	4110±73,7	4308±58,6*	-
жир, %	3,84±0,02	3,84±0,02	-
молочный жир, кг	157,8±2,86	165,4±2,22*	-
белок, %	3,18±0,01	3,30±0,01***	-
молочный белок, кг	130,7±2,32	142,2±2,03***	-
Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа			
n	109	52	3
дойных дней	288±1,7	281±2,5*	282±10,1
удой, кг	4917±71,0	5108±101,8	5023±197,7
жир, %	3,86±0,03	3,88±0,03	3,87±0,07
молочный жир, кг	189,8±2,89	198,2±3,96	194,4±7,20
белок, %	3,22±0,01	3,34±0,02***	3,45±0,04***
молочный белок, кг	158,3±2,32	170,6±3,56**	173,3±8,73

#### 2.2.4.3 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами бета-лактоглобулина

Исследованиями выявлено, что в среднем удой коров за лактацию в группе животных с генотипом *BB* гена *BLG* составил 3969 кг и 4624 кг, *AB* – 4273 кг и 5198 кг, *AA* – 4325 кг и 5273 кг. Коровы с генотипом *BB* гена *BLG* уступали аналогам с другими генотипами по удою на 304-356 кг ( $P<0,05$ ) среди чёрно-пёстро × голштинских первотёлок и 574-649 кг ( $P<0,001$ ) молока среди животных холмогорской породы татарстанского типа. Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,83% (генотип *AB*) до 3,87% (генотипы *AB* и *BB*). По массовой доле жира в молоке чёрно-пёстро × голштинские коровы с гомозиготным генотипом *BB* гена *BLG* несколько превосходили аналогов, имеющих в геноме аллельный вариант *A* в гетерозиготной и гомозиготной форме на 0,01-0,02%. У животных холмогорской породы татарстанского типа генотипы *AB* и *BB* по сравнению с особями *AA* имели выше показатель на 0,03%. При этом от чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа животных, имеющих аллель *A* гена *BLG* получено в среднем за лактацию молочного жира больше, чем у коров с генотипом *BB* на 10,9-13,3 кг ( $P<0,05$ ) и 22,3-23,6 кг ( $P<0,001$ ) соответственно. При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипом *AA* и составило 166,1-202,5 кг. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,19-3,21% (генотип *AB*) до 3,24-3,30% (генотип *AA*). Полученные результаты также показали, что коровы разных пород с генотипами *AA* и *AB* превосходили по массовой доле белка в молоке животных с гомозиготным генотипом *BB* гена *BLG* на 0,03-0,09% ( $P<0,05$  и 0,001). От чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа коров, несущих в своём геноме *A* аллель гена *BLG* по сравнению с аналогами генотипа *BB* было получено больше

молочного белка за лактацию на 11,0-13,5 кг ( $P<0,01$ ) и 22,6-25,6 кг ( $P<0,001$ ) соответственно. По массовой доле белка в молоке и выходу молочного белка за лактацию коровы с генотипом *AB* имели промежуточные показатели. При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипом *AA* и составило 140,1-174,0 кг (таблица 3).

Таблица 3 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *BLG*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
<b>Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки</b>			
удой, кг	4325±134,0*	4273±84,9*	3969±83,8
жир, %	3,84±0,03	3,83±0,02	3,85±0,03
молочный жир, кг	166,1±5,33*	163,7±3,33*	152,8±3,14
белок, %	3,24±0,01***	3,22±0,01*	3,19±0,01
молочный белок, кг	140,1±4,31**	137,6±2,73**	126,6±2,72
<b>Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа</b>			
удой, кг	5273±121,1***	5198±65,4***	4624±101,3
жир, %	3,84±0,07	3,87±0,03	3,87±0,03
молочный жир, кг	202,5±4,75***	201,2±2,56***	178,9±4,21
белок, %	3,30±0,02***	3,29±0,01***	3,21±0,01
молочный белок, кг	174,0±4,07***	171,0±2,32***	148,4±3,20

Таким образом, более высокую молочную продуктивность почти по всем показателям имели коровы с генотипами *AA* и *AB* гена бета-лактоглобулина в сравнении с аналогами генотипа *BB*.

#### 2.2.4.4 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами альфа-лактальбумина

Исследованиями выявлено, что в среднем удой коров за лактацию в группе животных разных пород с генотипом *AA* гена *LALBA* составил 3914 кг и 4849 кг, *AB* – 4387 кг и 5088 кг, *BB* – 4574 кг и 5002 кг. Коровы с генотипом *AA* гена *LALBA* уступали аналогам с другими генотипами по удою на 473-660 кг ( $P<0,01-0,001$ ) среди чёрно-пёстро × голштинских первотёлок и 153-239 кг молока среди животных холмогорской породы татарстанского типа. Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,80% (генотип *AA*) до 3,89% (генотип *AA*). По массовой доле жира в молоке чёрно-пёстро × голштинские коровы с гетерозиготным генотипом *AB* гена *LALBA* несколько уступали аналогам, имеющих гомозиготные генотипы *AA* и *BB* на 0,07% ( $P<0,05$ ) и 0,05% соответственно. Тогда как у животных холмогорской породы татарстанского типа с генотипом *AB* наоборот имел превосходство над особями с генотипами *AA* и *BB* на 0,03-0,04%. При этом от чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа животных, имеющих аллель *B* гена *LALBA* получено в среднем за лактацию молочного жира больше, чем у коров с генотипом *AA* на 15,2-24,6 кг ( $P<0,01-0,001$ ) и 5,4-10,7 кг соответственно. При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипом *BB* и составило 176,1-192,6 кг. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,20% (генотип *AA*) до 3,28% (генотип *AB*). Полученные результаты также показали, что коровы разных пород с

генотипами *AB* и *BB* превосходили по массовой доле белка в молоке животных с гомозиготным генотипом *AA* гена *LALBA* на 0,01-0,05%, причём разница в основном недостоверная. От чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа коров, несущих в своём геноме *B* аллель гена *LALBA* по сравнению с аналогами генотипа *AA* был более высокий выход молочного белка за лактацию на 15,6-23,5 кг ( $P<0,001$ ) и 6,5-9,8 кг соответственно. По массовой доле белка в молоке и выходу молочного белка за лактацию коровы с генотипом *AB* имели промежуточные значения. При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипами *AB* и *BB*, и составило 148,7-166,9 кг (таблица 4).

Таблица 4 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *LALBA*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки			
удой, кг	3914±72,3	4387±78,5***	4574±213,2**
жир, %	3,87±0,02*	3,80±0,02	3,85±0,03
молочный жир, кг	151,5±2,85	166,7±3,11***	176,1±8,17**
белок, %	3,20±0,01	3,21±0,01	3,25±0,03
молочный белок, кг	125,2±2,36	140,8±2,52***	148,7±6,62***
Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа			
удой, кг	4849±90,7	5088±92,9	5002±113,0
жир, %	3,86±0,03	3,89±0,03	3,85±0,05
молочный жир, кг	187,2±3,73	197,9±3,64*	192,6±4,50
белок, %	3,24±0,01	3,28±0,01**	3,27±0,02
молочный белок, кг	157,1±2,98	166,9±3,16	163,6±4,26

Таким образом, более высокую молочную продуктивность почти по всем показателям имели коровы с генотипами *AB* и *BB* гена альфа-лактальбумина по сравнению с особями с генотипом *AA*.

#### 2.2.4.5 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами соматотропина

Исследованиями выявлено, что в среднем удой коров за лактацию в группе животных с генотипом *LL* гена *GH* составил 4195 кг и 5090 кг, *VL* – 4047 кг и 4905 кг, *VV* – 0 кг и 4856 кг. Коровы чёрно-пёстро × голштинские и холмогорской породы татарстанского типа с генотипами *VL* и *VV* гена *GH* уступали сверстницам с генотипом *LL* по удою на 49-234 кг молока. Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,79% (генотип *VL*) до 3,88% (генотип *LL*). По массовой доле жира в молоке среди животных разных пород выгодно отличались особи с генотипом *LL* гена *GH*; они превосходили по этому показателю сверстниц с другими генотипами на 0,02-0,06%. При этом от первотёлок разных пород с генотипом *LL* гена *GH* получено в среднем за лактацию молочного жира больше, чем у коров с генотипами *VL* и *VV* на 8,1-8,2 кг и 10,1 кг соответственно. При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипом *LL* и составило 161,5-197,5 кг. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,20% (генотип *VL*) до 3,27% (генотип *VL*). Полученные результаты также показали, что первотёлки разных пород и генотипов

гена *GH* по массовой доле белка в молоке почти не различались; эти различия составили 0-0,01%. От чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа коров с генотипом *LL* гена *GH* по сравнению со сверстницами с другими генотипами был более высокое количество молочного белка за лактацию на 5,2-7,6 кг. При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипом *LL* и составило 134,7-165,9 кг (таблица 5).

Таблица 5 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *GH*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>LL</i>	<i>VL</i>	<i>VV</i>
<b>Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки</b>			
удой, кг	4195±60,0	4047±143,5	-
жир, %	3,85±0,02	3,79±0,04	-
молочный жир, кг	161,5±2,31	153,4±5,57	-
белок, %	3,21±0,01	3,20±0,01	-
молочный белок, кг	134,7±1,94	129,5±4,68	-
<b>Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа</b>			
удой, кг	5090±84,3	4905±86,0	4856±133,9
жир, %	3,88±0,03	3,86±0,03	3,86±0,06
молочный жир, кг	197,5±3,15	189,3±3,58	187,4±5,49
белок, %	3,26±0,01	3,27±0,01	3,26±0,03
молочный белок, кг	165,9±2,92	160,4±2,93	158,3±4,50

Таким образом, более высокую молочную продуктивность в целом по всем показателям имели коровы с генотипом *LL* гена соматотропина в сравнении со сверстницами с генотипами *VL* и *VV*. Необходимо также отметить, что разница по всем показателям молочной продуктивности была недостоверной.

#### 2.2.4.6 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами пролактина

Исследованиями выявлено, что в среднем удой коров за лактацию в группе коров разных пород с генотипом *AA* гена *PRL* составил 4231 кг и 5027 кг, *AB* – 3909 кг и 4847 кг. Первотёлки с генотипом *AA* гена *PRL* превосходили аналогов с генотипом *AB* по удою на 322 кг ( $P<0,001$ ) среди чёрно-пёстро × голштинских первотёлок и 180 кг среди животных холмогорской породы татарстанского типа. Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,83% (генотип *AA*) до 3,90% (генотип *AB*). По массовой доле жира в молоке среди животных разных пород выгодно отличались особи с гетерозиготным генотипом *AB* гена *PRL*, они превосходили по этому показателю особей с генотипом *AA* на 0,04%. При этом от чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с генотипом *AA* гена *PRL* получено в среднем за лактацию молочного жира больше, чем у коров с генотипом *AB* на 10,7 кг ( $P<0,01$ ) и 5 кг соответственно. При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипом *AA* и составило 162,0-194,0 кг. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,20% (генотип *AB*) до 3,27% (генотип *AA*). Получены также результаты о том, что первотёлки разных пород с генотипом *AA* гена *PRL* по массовой доле белка в молоке превосходили сверстниц с генотипом *AB* на 0,01% у чёрно-пёстро × голштинских животных и 0,03% ( $P<0,05$ ) у

животных холмогорской породы татарстанского типа. От чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа коров с генотипом *AA* гена *PRL* по сравнению со сверстницами с генотипом *AB* был более высокий выход молочного белка за лактацию на 10,7 кг ( $P<0,001$ ) и 7,4 кг ( $P<0,05$ ) соответственно. При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипом *AA* и составило 135,8-164,4 кг (таблица 6).

Таблица 6 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *PRL*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки			
удой, кг	4231±67,0***	3909±63,5	-
жир, %	3,83±0,02	3,87±0,03	-
молочный жир, кг	162,0±2,58**	151,3±2,81	-
белок, %	3,21±0,01	3,20±0,02	-
молочный белок, кг	135,8±2,16***	125,1±2,27	-
Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа			
удой, кг	5027±72,2	4847±80,9	-
жир, %	3,86±0,02	3,90±0,03	-
молочный жир, кг	194,0±2,87	189,0±3,48	-
белок, %	3,27±0,01*	3,24±0,01	-
молочный белок, кг	164,4±2,46*	157,0±2,79	-

Таким образом, более высокую молочную продуктивность почти по всем показателям имели коровы с генотипом *AA* гена пролактина по сравнению с особями генотипа *AB*.

#### 2.2.4.7 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами лептина

Исследованиями выявлено, что в среднем удой коров за лактацию в группе коров разных пород с генотипом *CC* гена *LEP* составил 4316 кг и 5328 кг, *CT* – 4131 кг и 4899 кг, *TT* – 3802 кг и 4763 кг. Первотёлки с генотипом *TT* уступали сверстницам с генотипами *CC* и *CT* на 514-565 кг ( $P<0,001$ ) и 136-329 кг молока соответственно. Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,77% (генотип *CC*) до 3,92% (генотип *TT*). По массовой доле жира в молоке коровы разных пород с гомозиготным генотипом *CC* гена *LEP* значительно уступали сверстницам, имеющим в геноме аллельный вариант *T* в гетерозиготной или гомозиготной форме на 0,08-0,15% ( $P<0,01-0,001$ ). Более высокий выход молочного жира за лактацию получено у животных с генотипами *CC* и *CT*, что выше чем у особей с генотипом *TT* на 14,1-14,2 кг ( $P<0,01$ ) и 4,4-10,5 кг молочного жира соответственно. При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипом *CC* и составило 163,1-200,9 кг. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,20% (генотип *CC*) до 3,29% (генотип *TT*). Получены также данные, что первотёлки разных пород и генотипов гена *LEP* незначительно отличались по массовой доле белка в молоке от 0 до 0,04%. От чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа коров с генотипом *TT* гена *LEP* по сравнению со сверстницами с генотипами *CC* и *CT* получено меньше молочного белка за лактацию на 15,7-17,5 кг ( $P<0,001$ ), 10,6 кг ( $P<0,05$ ) и 2,5 кг

соответственно. При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипом *AB* и составило 138,1-174,2 кг (таблица 7).

Таблица 7 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *LEP*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>
Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки			
удой, кг	4316±84,0***	4131±86,1*	3802±112,6
жир, %	3,78±0,02	3,86±0,02**	3,92±0,03***
молочный жир, кг	163,1±3,28**	159,5±3,41	149,0±4,18
белок, %	3,20±0,01	3,22±0,01	3,22±0,01
молочный белок, кг	138,1±2,65***	133,0±2,84*	122,4±3,92
Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа			
удой, кг	5328±89,2***	4899±83,8	4763±104,1
жир, %	3,77±0,03	3,90±0,03**	3,92±0,03***
молочный жир, кг	200,9±3,43**	191,1±3,50	186,7±4,25
белок, %	3,27±0,01	3,25±0,01	3,29±0,02
молочный белок, кг	174,2±3,10***	159,2±2,86	156,7±3,67

Из всего выше сказанного можно сделать вывод, что в целом более высокая молочная продуктивность отмечена у первотёлок чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа с генотипами *CC* и *CT* гена лептина в сравнении с аналогами с генотипом *TT*. Однако, по массовой доле жира в молоке выгодно отличались аналоги разных пород с генотипом *TT*.

#### 2.2.4.8 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами тиреоглобулина

Исследованиями выявлено, что в среднем удой коров за лактацию в группе животных разных пород с генотипом *CC* гена *TG5* составил 4084 кг и 4868 кг, *CT* – 4378 кг и 5114 кг, *TT* – 0 кг и 5232 кг. Коровы чёрно-пёстро × голштинские и холмогорской породы татарстанского типа с генотипами *CT* и *TT* гена *TG5* превосходили сверстниц с генотипом *CC* по удою на 294 кг и 246 кг ( $P<0,05-0,01$ ), 0 и 364 кг молока соответственно. Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,81% (генотип *CC*) до 3,97% (генотип *TT*). По массовой доле жира в молоке среди животных разных пород выгодно отличались особи с генотипами *CT* и *TT* гена *TG5*, они превосходили по этому показателю аналогов с другими генотипами на 0,07-0,13%, причём наибольший показатель был у животных, несущих в своём геноме аллель *T*, особенно в популяции холмогорской породы татарстанского типа. При этом от первотёлок разных пород с генотипами *CT* и *TT* гена *TG5* получено в среднем за лактацию молочного жира больше, чем от коров с генотипом *CC* на 13,1-20,8 кг ( $P<0,05$  и 0,001). При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипами *CT* и *TT*, и составило 170,7-207,7 кг. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,21% (генотип *CC*) до 3,27% (генотип *CT*). Полученные результаты также показали, что первотёлки разных пород и генотипов гена *TG5* по массовой доле белка в молоке различались в пределах 0,01-0,02%. От чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа коров с генотипами *CT* и *TT* гена *TG5* по сравнению со

сверстницами с генотипом *CC* был более высокий выход молочного белка за лактацию на 8,5-9,5 кг ( $P<0,05-0,01$ ), 0 кг и 11,3 кг соответственно. При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипами *CT* и *TT*, и составило 141,0-170,0 кг (таблица 8).

Таблица 8 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *TG5*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>
Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки			
удой, кг	4084±70,1	4378±77,4**	-
жир, %	3,81±0,02	3,90±0,02**	-
молочный жир, кг	155,6±2,64	170,7±3,15***	-
белок, %	3,21±0,01	3,22±0,01	-
молочный белок, кг	131,1±2,26	141,0±2,60**	-
Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа			
удой, кг	4868±84,5	5114±75,2*	5232±181,5
жир, %	3,84±0,03	3,91±0,03	3,97±0,07
молочный жир, кг	186,9±3,31	200,0±3,02**	207,7±8,15*
белок, %	3,26±0,01	3,27±0,01	3,25±0,05
молочный белок, кг	158,7±2,94	167,2±2,45*	170,0±7,32

Таким образом, более высокую молочную продуктивность имели первотёлки чёрно-пёстро × голштинские и холмогорской породы татарстанского типа с генотипами *CC* и *CT* гена тиреоглобулина по сравнению с особями с генотипами *CT* и *TT* соответственно. Однако по массовой доле жира в молоке выгодно отличались сверстницы разных пород, несущих в своём геноме аллель *T*.

#### 2.2.4.9 Оценка молочной продуктивности коров с разными генотипами диацилглицерол-О-ацилтрансферазы

Исследованиями выявлено, что в среднем удой коров за лактацию в группе животных разных пород с генотипом *AA* гена *DGAT1* составил 4063 кг и 5014 кг, *AK* – 4283 кг и 5931 кг, *KK* – 3940 кг и 4823 кг. Коровы с генотипом *KK* гена *DGAT1* уступали аналогам, несущим в своём геноме аллель *A* по удою на 123-343 кг. Причём достоверная разница была обнаружена между чёрно-пёстро × голштинскими животными с генотипами *AK* и *KK* – 343 кг ( $P<0,01$ ). Массовая доля жира в молоке была в пределах от 3,82% (генотип *AA*) до 4,07% (генотип *KK*). По массовой доле жира в молоке коровы разных пород с генотипами *AK* и *KK* гена *DGAT1* превосходили сверстниц с генотипом *AA* на 0,03% и 0,12% ( $P<0,01$ ), 0,10-0,25% ( $P<0,01-0,001$ ) соответственно. При этом от чёрно-пёстро × голштинских коров, несущих в своём геноме аллель *A* гена *DGAT1* получено в среднем за лактацию молочного жира больше, чем у коров с генотипом *KK* на 0,8 кг и 10,5 ( $P<0,05$ ). Тогда как у животных холмогорской породы татарстанского типа по этому показателю, наоборот выгодно отличались особи, имеющие в своём геноме аллель *K* гена *DGAT1*; они превосходили животных с генотипом *AA* на 2,8-4,8 кг молочного жира. При этом наибольшее количество молочного жира было у аналогов с генотипами *AK* и *KK*, и составило 164,9 кг и 196,3 кг соответственно. Массовая доля белка в молоке была в пределах от 3,21% (генотипы *AA* и

*AK*) до 3,30% (генотип *KK*). Полученные результаты также показали, что коровы разных пород с генотипом *KK* гена *DGAT1* превосходили по массовой доле белка в молоке животных с генотипами *AA* и *AK* на 0,02-0,04%. Необходимо также отметить, что особи с генотипами *AA* и *AK* по разным породам имели одинаковый показатель массовой доли белка в молоке 3,21% и 3,26% соответственно. От коров разных пород, несущих в своём геноме *A* аллель гена *DGAT1* по сравнению с аналогами генотипа *KK* было получено более высокое количество молочного белка за лактацию на 1,6-10,2 кг. Причём достоверная разница выявлена среди чёрно-пёстро × голштинских животных между аналогами с генотипами *AK* и *KK* (10,2 кг,  $P<0,05$ ). При этом наибольшее количество молочного белка было у сверстниц с генотипами *AK* и *AA*, и составило 137,5 кг и 163,5 кг соответственно (таблица 9).

Таблица 9 – Молочная продуктивность коров с разными генотипами *DGAT1*-гена

Показатель	Генотип		
	<i>AA</i>	<i>AK</i>	<i>KK</i>
Чёрно-пёстро × голштинские первотёлки			
удой, кг	4063±84,0	4283±78,2**	3940±102,9
жир, %	3,82±0,02	3,85±0,02	3,92±0,03**
молочный жир, кг	155,2±3,29	164,9±2,98*	154,4±3,36
белок, %	3,21±0,01	3,21±0,01	3,23±0,02
молочный белок, кг	130,4±2,75	137,5±2,51*	127,3±3,90
Первотёлки холмогорской породы татарстанского типа			
удой, кг	5014±80,3	4931±81,0	4823±170,5
жир, %	3,82±0,03	3,94±0,03**	4,07±0,05***
молочный жир, кг	191,5±3,13	194,3±3,48	196,3±7,55
белок, %	3,26±0,01	3,26±0,01	3,30±0,10
молочный белок, кг	163,5±2,78	160,8±2,65	159,2±10,1

Таким образом, более высокую молочную продуктивность среди чёрно-пёстро × голштинских животных имели особи с генотипами *AA*, *AK* (по удою, количеству молочного жира и белка) и *KK* (по массовой доле жира и белка в молоке) гена диацилглицерол-О-ацилтрансферазы. Среди коров холмогорской породы татарстанского типа наибольшая молочная продуктивность была у особей с генотипом *AA*, *AK* (по удою и количеству молочного белка) и *KK* (по количеству молочного жира, массовой доле жира и белка в молоке).

## 2.2.5 Экономическая эффективность использования коров с разными генотипами по гену казеина

Аллельные варианты гена *CSN3* оказывают значительное влияние на молочную продуктивность и технологические качества молока, поэтому они предлагаются в качестве селекционных критериев в различных программах по разведению и совершенствованию крупного рогатого скота разных пород на территории Российской Федерации. В связи с вышесказанным нами проведён расчёт экономической эффективности по содержанию и использованию первотёлок чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа в условиях Республики Татарстан. От коров-первотёлок разных пород с генотипами *AA*, *AB* и *BB* гена *CSN3* получено молока базисной жирности и белковости в

количестве 4920-5992 кг, 5352-6490 кг и 6575 кг соответственно. По результатам расчётов группы коров с генотипом *AB* и *BB* гена *CSN3* по сравнению с аналогами базового варианта (генотипа *AA*) выдали дополнительное количество молока в пределах 432-583 кг (8,3-9,7%). Стоимость дополнительной продукции в расчёте на 1 голову по группам животных с генотипами *AB* и *BB* гена *CSN3* составила 5510,41-5818,83 руб. и 6800,32 руб. соответственно.

Расчёты экономической эффективности по содержанию и использованию первотёлок чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа с разными генотипами гена каппа-казеина показал, что от особей с генотипами *AB* и *BB* данного гена по сравнению с аналогами генотипа *AA* можно получить прибыль в размере 5510,41-6800,32 руб.

### 3 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведённых исследований сделаны следующие **выводы**:

1. Разработанные способы выделения ДНК из крови (аммиачный и комбинированный щелочной способы) и спермы (комбинированный щелочной способ) крупного рогатого скота являются эффективными подходами к экстракции нуклеиновых кислот для молекулярно-генетических исследований.

2. Усовершенствованные протоколы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам *CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*, *GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *CD18*, *SLC35A3*, *F11*, *PYGM*, *UMPS*, *ASS* являются оптимальными в плане точной идентификации аллельного полиморфизма изученных генов.

3. Разработанные способы проведения ПЦР и ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по генам *CSN3*, *MSTN* и *DGAT1* являются эффективными приёмами идентификации анализируемых генотипов ввиду корректной интерпретации полученных данных.

4. В стадах чистопородных и помесных по голштинской породе быков-производителей, а также среди чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок преобладали аллель *B* и генотип *BB* (91,4-100%) гена *CSN1S1*; *A* (0,90-0,95) и *AA* (87,1-89,2%) гена *CSN2*; *A* (0,81-0,86) и *AA* (66,5-68,6%) гена *CSN3*; *B* (0,61-0,69) и *AB* или *BB* (46,2-48,2% или 50%) *BLG*; *A* (0,58-0,71) и *AA* или *AB* (50,6% или 43,3-50,0%) гена *LALBA*; *L* (0,68-0,90) и *LL* или *LV* (71,4-80,4% или 51,2%) гена *GH*; *A* (0,87-0,90) и *AA* гена 64,4-79,7% гена *PRL*; *C* (0,53-0,64) и *CT* (46,2-55,5%) гена *LEP*; *C* (0,76-0,86) и *CC* (56,7-72,2%) гена *TG5*; *A* (0,72-0,80) и *AA* или *AK* (54,3-61,6% или 48,7%) гена *DGAT1*; *TL* (1,0) и *TL/TL* (100%) гена *CD18*; *TV* (0,986-1,0) и *TV/TV* (97,1-100%) гена *SLC35A3*, «+» (0,993-1,0) и «+/+» (98,6-100%) гена *F11*, *G* и *GG* гена *PYGM*, «+» и «+/+» генов *UMPS* и *ASS*; аллель «здоровый» и генотип « здоровый» гена *MSTN* соответственно.

5. Среди популяций пород голштинской, чёрно-пёстро × голштинской и холмогорской татарстанского типа из 243 возможных комплексных генотипов белков молока (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*), гормонов и фермента (*GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*, *DGAT1*) встречалось 26, 21, 19 и 33, 37, 57 генотипов соответственно. В популяциях разных

пород наибольшая встречаемость комплексных генотипов белков молока была 3 генотипов  $BB/AA/AB/AB$ ,  $BB/AA/BB/AA$ ,  $BB/AA/BB/AB$  (10,0-20,0%, голштинская порода), 3 генотипов  $BB/AA/AB/AA$ ,  $BB/AA/AB/AB$ ,  $BB/AA/BB/AA$  (14,6-20,9%, чёрно-пёстро × голштинская порода) и 4 генотипов  $BB/AA/AB/AA$ ,  $BB/AA/AB/AB$ ,  $BB/AA/BB/AA$ ,  $BB/AA/BB/AB$  (11,0-13,4%, холмогорская порода татарстанского типа). Тогда как встречаемость комплексных генотипов гормонов и фермента наибольшая имелась 3 генотипов  $LL/AA/CT/CC/AK$ ,  $LL/AA/CT/CT/AA$ ,  $LL/AA/CC/CC/AA$  (8,6-10,0%, голштинская порода), 4 генотипов  $LL/AA/CC/CC/AK$ ,  $LL/AA/CT/CC/AK$ ,  $LL/AA/CT/CT/AA$ ,  $LL/AA/CT/CC/AA$  (8,3-9,5%, чёрно-пёстро × голштинская порода) и 1 генотипа  $VL/AA/CT/CC/AA$  (11,6%, холмогорская порода татарстанского типа).

6. При оценке быков-производителей с разными отдельными и комплексными генотипами генов белков молока, гормонов и фермента по происхождению выявлены высокие показатели РИБ (родословный индекс быка) по удою и жиру у быков с генотипами  $BC$  гена  $CSN1S1$  (10494 и 4,05%),  $AA$  гена  $CSN2$  (8846 кг и 3,92%),  $AB$  (8940 кг) и  $BB$  (3,95%) гена  $CSN3$ ,  $AA$  и  $AB$  гена  $BLG$  (9379-9382 кг и 3,95%),  $AA$  гена  $LALBA$  (9405 кг и 3,93%),  $LL$  гена  $GH$  (8952 кг и 3,93%),  $AA$  гена  $PRL$  (8978 кг и 3,93%),  $TT$  и  $CT$  гена  $LEP$  (9137 кг и 3,94%),  $CT$  и  $CC$  гена  $TG5$  (9098 кг и 3,93%),  $KK$  и  $AA$  гена  $DGAT1$  (9429 кг и 3,93%) и у быков с комплексными генотипами белков молока ( $CSN1S1$ ,  $CSN2$ ,  $CSN3$ ,  $BLG$ ,  $LALBA$ ), гормонов и фермента ( $GH$ ,  $PRL$ ,  $LEP$ ,  $TG5$ ,  $DGAT1$ )  $BB/AA/AA/AB$ ,  $BB/AA/AB/AA$  (9539 кг и 9502 кг),  $BB/AA/AA/AB$ ,  $BB/AA/BB/AA$  (4,0% и 4,07%) и  $LL/AA/CT/CT/AA$ ,  $LL/AA/CT/CT/AK$  (9564 кг и 9465 кг),  $LL/AA/CC/CC/AK$ ,  $LL/AA/CT/CC/AA$  (4,0% и 4,05%) соответственно.

7. На основании анализа молочной продуктивности чёрно-пёстро × голштинских и холмогорской породы татарстанского типа первотёлок с разными отдельными и комплексными генотипами по генам белков молока, гормонов и фермента установлено, что наибольшие показатели по молочности, количеству молочного жира и белка имели генотипы  $AB$  гена  $CSN2$ ,  $AB$  и  $BB$  гена  $CSN3$ ,  $AA$  и  $AB$  гена  $BLG$ ,  $AA$  и  $AB$  гена  $LALBA$ ,  $LL$  и  $VL$  гена  $LALBA$ ,  $AA$  гена  $PRL$ ,  $CC$  и  $CT$  гена  $LEP$ ,  $CT$  и  $TT$  гена  $TG5$  соответственно; тогда как генотипы  $AA$  и  $AK$  гена  $DGAT1$  имели превосходство только по удою и количеству белка, а по количеству жира наибольшие показатели отмечены у аналогов с генотипами  $AK$  (чёрно-пёстро × голштинская порода) и  $KK$  (холмогорская порода татарстанского типа). Наибольшие данные молочной продуктивности по тем же показателям выявлены у коров с комплексными генотипами белков молока ( $CSN1S1$ ,  $CSN2$ ,  $CSN3$ ,  $BLG$ ,  $LALBA$ )  $BB/AA/AB/AB$ ,  $BB/AA/AB/AA$ ,  $BB/AA/AB/BB/AB$  (по чёрно-пёстро × голштинской породе),  $BB/AB/AB/AB/AA$ ,  $BB/AB/AB/AB/AB$ ,  $BB/AB/AB/AB/BB$  (по холмогорской породе татарстанского типа) и с комплексными генотипами гормонов и фермента ( $GH$ ,  $PRL$ ,  $LEP$ ,  $TG5$ ,  $DGAT1$ )  $LL/AA/CC/CC/AK$ ,  $LL/AA/CT/CT/AK$ ,  $VL/AA/CC/CC/AK$  (по чёрно-пёстро × голштинской породе),  $LL/AA/CC/CC/AA$ ,  $VL/AA/CC/CC/AA$ ,  $VL/AA/CT/CT/AA$  (по холмогорской породе татарстанского типа) соответственно.

8. Расчёты показали, что в условиях Республики Татарстан экономически обосновано получение молока от первотёлок, несущих в своём геноме *B* аллель гена каппа-казеина.

## **ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ**

1. Молекулярно-генетическим лабораториям, входящим в государственный племенной регистр Минсельхоза РФ, рекомендуем использовать разработанные и усовершенствованные нами способы экстракции ДНК из биологического материала и проведения ПЦР, ПЦР-ПДРФ-анализа определения полиморфизма генов белков молока (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*), гормонов (*GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*), фермента (*DGAT1*) и наследственных заболеваний (*CD18*, *SLC35A3*, *F11*, *PYGM*, *UMPS*, *ASS*).

2. Племенным хозяйствам, занимающимся разведением крупного рогатого скота разных пород, с целью повышения и улучшения у них хозяйствственно-значимых признаков рекомендуем активно использовать достижения молекулярной генетики в селекционно-племенной работе.

3. Организациям и предприятиям по племенному животноводству рекомендуем при создании новых типов и пород крупного рогатого скота учитывать полученные нами результаты исследований.

4. Комплексная аттестация племенных животных по генетическим мутациям (*BLAD*, *CVM*, *FXID*, *GSD DUMPS*, *BC*, *MSTN*) позволит направлено формировать группы быков-производителей и быковоспроизводящих коров, тем самым накапливать племенной материал (банк спермы и эмбрионов) от «здоровых» животных.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ**

Дальнейшая работа будет направлена на изучение аллельных вариантов генов белков молока (*CSN1S1*, *CSN2*, *CSN3*, *BLG*, *LALBA*), гормонов (*GH*, *PRL*, *LEP*, *TG5*) и фермента (*DGAT1*) у крупного рогатого скота других пород. Выявление возможной ассоциации генотипов генов белков молока, гормонов и ферментов не только с молочной продуктивностью коров, но и с технологическими качествами их молока.

## **СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК Минобразования и науки РФ**

1. Шарафутдинов Г.С. Качество быков-производителей разной селекции / Г.С. Шарафутдинов, Р.Р. Шайдуллин, С.В. Тюлькин // Вестник Казанского ГАУ. – 2006. – № 4. – С. 41-44.
2. Шарафутдинов, Г.С. Использование голштинских производителей разной селекции. / Г.С. Шарафутдинов, Р.Р. Шайдуллин, С.В. Тюлькин // Молочное и мясное скотоводство. – 2007. - № 6. - С. 21-23.
3. Вафин, Р.Р. Оптимизация способов генотипирования крупного рогатого скота по гену каппа-казеина. / Р.Р. Вафин, Т.М. Ахметов, Э.Ф. Валиуллина, О.Г. Зарипов, С.В. Тюлькин // Ветеринарная практика. – 2007. – № 2 (37). – С. 54-69.
4. Валиуллина, Э.Ф. Характеристика быков производителей с различными комбинациями генотипов каппа-казеина, бета-лактоглобулина по молочной

продуктивности их матерей. / Э.Ф. Валиуллина, О.Г. Зарипов, С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Р.Р. Вафин // Ветеринарная практика. – 2007. – № 4 (39). – С. 59-63.

5. Ахметов, Т.М. Молочная продуктивность и воспроизводительная способность голштинизированных коров в зависимости от генотипа каппа-казеина. / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Э.Ф. Валиуллина // Ветеринарный врач. – 2007. - № 4. – С. 58-61.

6. Ахметов, Т.М. Качество и технологические свойства сыра, изготовленного из молока коров с разными генотипами каппа-казеина / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов, Э.Ф. Валиуллина, Р.Р. Вафин // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2009. – № 1. – С. 20-23.

7. Шарафутдинов Г.С. Молочная продуктивность первотелок разной селекции в зависимости от возраста первого отела. / Г.С. Шарафутдинов, Р.Р. Шайдуллин, С.В. Тюлькин, И.И. Хатыпов // Вестник Казанского ГАУ. – 2008. – Т. 3. - № 4 (10). – С. 119-122.

8. Ахметов, Т.М. Качество и технологические свойства творога, изготовленного из молока коров с разными генотипами каппа-казеина. / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов, Э.Ф. Валиуллина // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2009. – Т. 196. – С. 45-49.

9. Ахметов, Т.М. Состав молока и его физико-химические показатели у коров с разными генотипами каппа-казеина. / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов, Э.Ф. Валиуллина // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2009. – Т. 196. – С. 49-54.

10. Ахметов, Т.М. Генотипирование коров по локусам каппа-казеина, бета-лактоглобулина и BLAD-мутации. / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Э.Ф. Валиуллина // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2011. – Т. 205. – С. 11-17.

11. Ахметов, Т.М. Оптимизация техники выделения ДНК из крови и спермы / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Ф.М. Нургалиев // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2011. – Т. 205. – С. 18-23.

12. Тюлькин, С. Технологические свойства молока коров с разными генотипами каппа-казеина. / С.В. Тюлькин, Т. Ахметов, М. Нургалиев // Молочное и мясное скотоводство. – 2011. - № 8. – С. 4-5.

13. Тюлькин, С.В. Технологические свойства молока коров с разными генотипами *B*-лактоглобулина в условиях республики Татарстан. / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, М.Г. Нургалиев // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 11. – С. 61-62.

14. Ахметов, Т.М. Молочная продуктивность коров с разными комбинациями генотипов каппа-казеина и бета-лактоглобулина / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Э.Ф. Валиуллина // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2011. – Т. 207. – С. 51-57.

15. Нургалиев, Ф.М. Оптимизация способов выявления у животных рецессивных мутаций / Ф.М. Нургалиев, С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2011. – Т. 208. – С. 39-44.

16. Ахметов, Т.М. Использование ДНК-маркеров в диагностике наследственных мутаций у крупного рогатого скота и свиней / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Ф.М. Нургалиев, Р.Р. Вафин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2012. – Т. 210. – С. 7-13.

17. Ахметов, Т.М. Характеристика быков-производителей с разными генотипами бета-казеина по происхождению / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Р.Р. Вафин, И.Ф. Кабиров // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2012. – Т. 210. – С. 14-20.

18. Тюлькин, С.В. Полиморфизм по генам соматотропина, пролактина, лептина, тиреоглобулина быков-производителей / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Э.Ф. Валиуллина, Р.Р. Вафин // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2012. – Т. 16. – № 4/2. – С. 1008-1012.

19. Тюлькин, С.В. Характеристика быков-производителей с разными генотипами генов соматотропина, пролактина, лептина и тиреоглобулина по молочной продуктивности женских предков / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, А.В. Муратова, Р.Р. Вафин // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. – 2013. – № 1 (17). – С. 27-30.
20. Тюлькин, С.В. Оценка быков-производителей с разными комплексными генотипами молочных белков по происхождению / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, А.В. Муратова, Р.Р. Вафин // Молочное и мясное скотоводство. – 2013. – № 2. – С. 14-15.
21. Ахметов, Т.М. Экономическая эффективность использования коров с разными генотипами каппа-казеина / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2013. – Т. 216. – С. 35-40.
22. Ахметов, Т.М. Экономическая эффективность производства сыра из молока коров с разными генотипами каппа-казеина / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2013. – Т. 216. – С. 40-43.
23. Тюлькин, С.В. Характеристика быков-производителей с разными генотипами альфа-лактальбумина по происхождению / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, А.В. Муратова // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2013. – Т. 216. – С. 324-328.
24. Тюлькин, С.В. Идентификация генетических мутаций DUMPS и BC у быков-производителей / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, Р.Р. Вафин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2013. – Т. 216. – С. 329-333.
25. Тюлькин, С.В. Идентификация генетических мутаций GSD и FXID у быков-производителей / С.В. Тюлькин, И.И. Хатыпов, Т.М. Ахметов, Р.Р. Вафин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2014. – Т. 218. – С. 266-271.
26. Тюлькин, С.В. Разработка способа проведения ПЦР-ПДРФ на примере DGAT1-гена крупного рогатого скота / С.В. Тюлькин, Р.Р. Вафин, А.В. Муратова, И.И. Хатыпов, Л.Р. Загидуллин, Е.Н. Рачкова, Т.М. Ахметов, Р.Х. Равилов // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2-17. – С. 3773-3775.
27. Тюлькин, С.В. Разработка способа проведения аллель-специфичной ПЦР для генотипирования крупного рогатого скота по аллеям A и B гена каппа-казеина / С.В. Тюлькин, А.В. Муратова, И.И. Хатыпов, Т.М. Ахметов, Р.Х. Равилов, Р.Р. Вафин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2015. – Т. 222 (2). – С. 221-224.
28. Тюлькин, С.В. Полиморфизм гена бета-казеина в стадах крупного рогатого скота Республики Татарстан / С.В. Тюлькин, Л.Р. Загидуллин, С.Ф. Шайдуллин, Т.М. Ахметов, Р.Р. Вафин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2016. – Т. 228 (4). – С. 78-81.
29. Тюлькин, С.В. Сравнительный анализ полиморфизма генов белков молока у быков-производителей Республики Татарстан / С.В. Тюлькин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2017. – Т. 230 (2). – С. 152-155.
30. Тюлькин, С.В. Характеристика быков-производителей с разными генотипами диацилглицерол-О-ацилтрансферазы по происхождению / С.В. Тюлькин, Л.Р. Загидуллин, Т.М. Ахметов, Н.Ю. Сафина, Р.Р. Вафин // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2017. – Т. 230 (2). – С. 155-158.
31. Тюлькин, С.В. Ассоциация полиморфизма гена альфа-лактальбумина с молочной продуктивностью и качеством молока коров / С.В. Тюлькин, Л.Р. Загидуллин, Т.М. Ахметов, Р.Р. Шайдуллин, Т.Х. Фаизов, И.О. Ефимова // Ветеринарный врач. – 2018. – № 6. – С. 52-56.

*\* – в изданиях, включённых в базы данных Scopus и/или Web of Science*

32. \*Tyul'kin, S.V. Polymorphism of Somatotropin, Prolactin, Leptin, and Thyreoglobulin Genes in Bulls / S.V. Tyul'kin, T.M. Akhmetov, E.F. Valiullina, R.R. Vafin // Russian Journal of Genetics: Applied Research. – 2013. – V. 3. – № 3. – P. 222-224.

33. \*Vafin, R.R. Development of PCR Methods for Cattle Genotyping by Allelic Variants of DGAT1 Gene / R.R. Vafin, S.V. Tyulkina, L.R. Zagidullin, A.V. Muratova, T.M. Akhmetov, F.F. Zinnatova, Yu.R. Yulmetyeva, Sh.K. Shakirov, M.Sh. Tagirov, R.Kh. Ravilov // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2016 – V. 7. – I. 2. – P. 2075-2080.

34. \*Tyulkina, S.V. Technological properties of milk of cows with different genotypes of kappa-casein and beta-lactoglobulin / S.V. Tyulkina, R.R. Vafin, L.R. Zagidulin, T.M. Akhmetov, A.N. Petrov, F. Diel // Foods and Raw Materials. – 2018. – V. 6. – № 1. – P. 154-162.

35. \*Ganiev, A.S. Reproductive quality of cows of different genotypes on Csn3 and Dgat1 genes depending on milk level / A.S. Ganiev, R.R. Shaidullin, F.S. Sibagatullin, G.S. Sharafutdinov, A.B. Moskvicheva, S.V. Tyulkina, T.H. Faizov // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2018. – № 9 (6). – P. 1504-1509.

### **Монография**

36. Шайдуллин, Р.Р. Использование ДНК-маркеров при оценке и совершенствовании крупного рогатого скота в Республике Татарстан: монография / Р.Р. Шайдуллин, Т.М. Ахметов, Т.Х. Фаизов, С.В. Тюлькин, Л.А. Калашникова. – Казань: Изд-во Казанского ГАУ, 2018. – 192 с.

### **Методические рекомендации**

37. Ахметов, Т.М. Методические рекомендации по использованию новейших достижений ДНК-технологии в селекционно-племенной работе, направленной на улучшение технологических свойств молока / Т.М. Ахметов, И.Р. Закиров, М.Г. Нурагалиев, С.В. Тюлькин, Р.А. Хаертдинов, Н.Н. Мухаметгалиев. / Главное гос. с.-х. управление племенным делом в животноводстве МСХ и продовольствия РТ. – Казань, 2007. – 27 с.

38. Тюлькин, С.В. Использование ДНК-анализа для тестирования крупного рогатого скота по генам молочных белков и гормонов / С.В. Тюлькин, Э.Ф. Валиуллина, Т.М. Ахметов, А.В. Муратова, Р.Р. Вафин, А.А. Нуруллин, Л.А. Калашникова / Методические рекомендации ФГБНУ ВНИИплем МСХ РФ. – М.: ФГБНУ ВНИИплем, 2013. – 22 с.

### **Патенты РФ**

39. Тюлькин, С.В. Способ проведения ПЦР-ПДРФ для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1. Патент на изобретение РФ № 2528743 / С.В. Тюлькин, Р.Р. Вафин, А.В. Муратова, Э.Ф. Валиуллина, Т.М. Ахметов, Л.А. Калашникова // Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели». – опубликовано 20.09.2014. – Бюл. № 26.

40. Тюлькин, С.В. Способ проведения ПЦР в реальном времени для генотипирования крупного рогатого скота по аллелям А и К гена DGAT1. Патент на изобретение РФ № 2619167 / С.В. Тюлькин, Р.Р. Вафин, Т.М. Ахметов, Р.Р. Шайдуллин, Е.Н. Рачкова, Ш.К. Шакиров, Ю.Р. Юльметьева, Ф.Ф. Зиннатова, Э.Ф. Валиуллина, А.В. Муратова, Л.Р. Загидуллин // Официальный бюллетень «Изобретения. Полезные модели». – опубликовано 12.05.2017. – Бюл. № 14.

### **В других научных изданиях, включая конференции**

41. Ахметов, Т.М. Характеристика быков производителей с различными генотипами бета-лактоглобулина по молочной продуктивности их матерей. / Т.М. Ахметов, О.Г. Зарипов, С.В. Тюлькин, Э.Ф. Валиуллина // Материалы всероссийской научно-

практической конференции «Технологические и технические аспекты развития сельского хозяйства». Посвящается 85-летию КГАУ. – Казань, 2007. – Т. 74. – Ч. 3-4. – С. 8-10.

42. Ахметов, Т.М. Термоустойчивость молока коров с разными генотипами каппа-казеина. / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 135-летию академии «Современные подходы развития АПК». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2008. – Т.193. – С. 31-34.

43. Ахметов, Т.М. Белковый состав молока коров с разными генотипами каппа-казеина. / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов, Э.Ф. Валиуллина // Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 135-летию академии «Современные подходы развития АПК». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2008. – Т. 193. – С. 35-40.

44. Ахметов, Т.М. Технологические свойства сыра, произведенного из молока коров с разными генотипами каппа-казеина / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов, Э.Ф. Валиуллина // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Современные тенденции развития ветеринарной медицины и инновационные технологии в ветеринарии и животноводстве». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2009. – Т. 199. – С. 7-12.

45. Ахметов, Т.М. Полиморфизм каппа-казеина в стадах крупного рогатого скота / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов, С.Ф. Шайдуллин, Р.Р. Муллахметов // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Современные тенденции развития ветеринарной медицины и инновационные технологии в ветеринарии и животноводстве». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2009. – Т. 199. – С. 12-18.

46. Ахметов, Т.М. Молочная продуктивность коров с разными генотипами бета-лактоглобулина. / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, Э.Ф. Валиуллина // Материалы международной научно-практической конференции «Кадровое и научное обеспечение инновационного развития отрасли животноводства». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2010. – Т. 202. – С. 31-36.

47. Ахметов, Т.М. Полиморфизм гена бета-лактоглобулина в стадах крупного рогатого скота. / Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин, О.Г. Зарипов. // Материалы международной научно-практической конференции «Кадровое и научное обеспечение инновационного развития отрасли животноводства». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2010. – Т. 202. – С. 36-41.

48. Муллахметов, Р.Р. Полиморфизм гена каппа-казеина у быков-производителей. / Р.Р. Муллахметов, Т.М. Ахметов, С.В. Тюлькин. // Материалы международной научно-практической конференции «Кадровое и научное обеспечение инновационного развития отрасли животноводства». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2010. – Т. 202. – С. 145-151.

49. Тюлькин, С.В. Характеристика быков-производителей с разными генотипами альфа S1-казеина по происхождению / С.В. Тюлькин, Т.М. Ахметов, А.В. Муратова, Р.Р. Вафин // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы научного и кадрового обеспечения инновационного развития АПК». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2012. – Т. 212. – С. 384-390.

50. Тюлькин, С.В. Идентификация мутаций генов *MSTN* и *RYR1*, связанных с мясной продуктивностью животных / С.В. Тюлькин, Ф.М. Нургалиев, Т.М. Ахметов, Р.Р. Вафин // Материалы всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы научного и кадрового обеспечения инновационного развития АПК». Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2012. – Т. 212. – С. 390-395.

51. Тюлькин, С.В. Применение ДНК-диагностики для выявления рецессивных мутаций у сельскохозяйственных животных / С.В. Тюлькин, И.И. Гиниятуллин, Т.М. Ахметов, Л.А. Рахматов, Ф.М. Нургалиев, Р.Р. Вафин. – сб. тр. VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – М., 2014. – Т. 2. – С. 524-525.
52. Тюлькин, С.В. Полиморфизм гена каппа-казеина в стадах крупного рогатого скота Республики Татарстан / С.В. Тюлькин, Ахметов, Л.Р. Загидуллин, Е.Н. Рачкова, С.Ф. Шайдуллин, Х.Х. Гильманов // Ученые записки Казанской ГАВМ. – 2016. – Т. 225 (1). – С. 148-151.
53. Тюлькин, С.В. Типы лактационных кривых и коэффициент постоянства лактаций у коров с разными генотипами каппа-казеина / С.В. Тюлькин, Л.Р. Загидуллин, Е.Н. Рачкова, Т.М. Ахметов, Г.Ф. Кабиров // Материалы международной научной конференции «Современные проблемы ветеринарной и аграрной науки и образования», посвящённой 150-летию образования Государственной ветеринарной службы России. Ученые записки КГАВМ. – Казань, 2016. – Т. 226 (2). – С. 213-217.
54. Тюлькин, С.В. Сравнительный анализ термоустойчивости молока у коров с разными генотипами генов каппа-казеина и бета-лактоглобулина / С.В. Тюлькин, Л.Р. Загидуллин, Э.Ф. Валиуллина, Е.Н. Рачкова, Т.М. Ахметов, Р.Р. Вафин. – Материалы международной научно-практической конференции, посвящённой памяти Василия Матвеевича Горбатова. – М., 2017. - № 1. – С. 332-334.
55. Тюлькин, С.В. Встречаемость комплексных генотипов генов каппа-казеина и бета-лактоглобулина среди коров разных пород Республики Татарстан / С.В. Тюлькин // Инновационное развитие. – 2017. - № 7 (12). – С. 49-50.
56. Тюлькин, С.В. Влияние генотипа коров на их продуктивность и качество молока / С.В. Тюлькин // Пищевые системы. – 2018. – Т. 1. – № 3. – С. 38-43.
57. Тюлькин, С.В. Оценка молочной продуктивности и качества молока коров с разными генотипами бета-казеина / С.В. Тюлькин. – Материалы 21-ой международной научно-практической конференции, посвящённой памяти Василия Матвеевича Горбатова. – М., 2018. – С. 256-257.
58. Тюлькин, С.В. Оценка молочной продуктивности и качества молока коров с разными генотипами бета-лактоглобулина / С.В. Тюлькин. – Материалы 21-ой международной научно-практической конференции, посвящённой памяти Василия Матвеевича Горбатова. – М., 2018. – С. 258-259.