

На правах рукописи

ЛИХАЧЕВА ТАТЬЯНА ЕВГЕНЬЕВНА

**АССОЦИАЦИЯ МУТАЦИИ ДЕФИЦИТ ХОЛЕСТЕРИНА
С РЕПРОДУКТИВНЫМИ КАЧЕСТВАМИ И ХОЗЯЙСТВЕННО -
ПОЛЕЗНЫМИ ПРИЗНАКАМИ МОЛОЧНОГО СКОТА**

06.02.07 - разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных животных

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени кандидата биологических наук

п. Лесные поляны, Московская область

2020 г.

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт — Петербургский государственный аграрный университет».

Научный руководитель: доктор сельскохозяйственных наук, профессор
Шапиев Исмаил Шапиевич

Официальные оппоненты:

Ковалюк Наталья Викторовна — доктор биологических наук, ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии» Министерства науки и высшего образования РФ, лаборатория биотехнологии, ведущий научный сотрудник.

Шендаков Андрей Игоревич — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, ФГБОУ ВО «Орловский государственный аграрный университет», кафедра частной зоотехнии и разведения сельскохозяйственных животных, заведующий кафедрой.

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии — МВА им. К.И. Скрябина» Министерства сельского хозяйства РФ.

Защита состоится «22» мая 2020 г. в 11-00 на заседании диссертационного совета Д 220.017.01, созданного на базе ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела», по адресу: 141212, Московская область, Пушкинский район, п. Лесные поляны, ул. Ленина, строение 13. Тел. 8 (495) 515-95-57, e — mail vniiplem@mail.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБНУ «Всероссийский научно — исследовательский институт племенного дела» и на сайте www.vniiplem.ru.

Автореферат разослан « » _____ 2020г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
доктор сельскохозяйственных наук

Тяпугин Сергей Евгеньевич

1. ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

1.1 Актуальность темы исследования. Мониторинг генетических дефектов крупного рогатого скота является важнейшей частью профилактической ветеринарии и корректирующей селекции. Это обусловлено тем, что генетические мутации наносят значительный экономический ущерб хозяйствам.

Распространение летальных и полуметальных генетических мутаций в популяциях крупного рогатого скота становится причиной эмбриональной и постэмбриональной смертности телят. Использование ограниченного числа быков — производителей создает опасность широкого распространения генетических аномалий. Рецессивный дефект голштинского скота — дефицит холестерина HCD (haplotype cholesterol deficiency) характеризуется гибелью телят в первые дни или месяцы жизни. Степень распространения этого дефекта в настоящее время очень высока (в разных странах от 6 % до 17 %). Следует отметить, что в целом сведений о связи рецессивных мутаций с продуктивностью молочного скота немного, а данные о влиянии мутации HCD на селекционно — значимые признаки крайне ограничены.

1.2 Степень разработанности темы исследований. Летальный генетический дефект HCD был идентифицирован и зарегистрирован в 2015 году. Анализ родословных позволил определить «родоначальника» мутации — быка MAUGHLIN STORM 1991 года рождения [Kipp S. et al., 2015]. Методом полногеномного секвенирования, или SNP скрининга с использованием ДНК — чипов высокой и средней плотности была определена причина данной мутации — вставка мобильного элемента (indel — полиморфизм) размером 1299 п.н. расположенного в 5 — м экзоне гена *APOB* (аполипопротеина) [Charlier C., 2008; Menzi F. et al., 2016; Schütz E. et al., 2016].

Вопросы изучения встречаемости HCD у быков, используемых в России, изложены в 2016 году в работах российских ученых Зиновьевой Н.А., и соавт. (2016). Среди зарубежных авторов можно выделить таких как Kipp S. et al., (2015), (2016), Menzi F. et. al. (2016), Schütz E. et al. (2016). Изучением влияния ряда генетических дефектов, в том числе и HCD на удои и фертильность коров молочных пород занимались Cole J.B. et. al. (2016). Особенности биохимического профиля у телят — гетерозиготных носителей HCD рассматриваются в работах Gross J.J. (2016), Saleem S. et al. (2016).

Увеличение количества научных работ в данной сфере, и их прикладное применение на практике необходимо для разработки новых подходов к оценке племенного материала, углубленного генетического анализа результатов селекционно — племенной работы и ее коррекции на основе достижений биотехнологии.

1.3 Цель и задачи исследований. Цель настоящей работы: анализ встречаемости мутации HCD у российских черно — пестрых коров и телок Ленинградской области, и их сравнительная оценка по ряду хозяйственно ценных признаков и биохимическим показателям крови. В соответствии с поставленной целью необходимо было решить следующие задачи:

1. Провести генотипирование животных методом АС — ПЦР на предмет носительства генетического дефекта HCD;
2. Определить встречаемость генетического дефекта HCD в анализируемой выборке животных;
3. Провести сравнительный анализ животных по ряду хозяйственно ценных признаков в зависимости от их статуса по HCD;
4. Изучить особенности липидного обмена у коров в зависимости от их статуса по HCD.

1.4 Научная новизна исследований. Получены новые данные о встречаемости генетического дефекта HCD в выборке российского черно — пестрого скота с высокой долей кровности по голштинской породе. Оценен уровень молочной продуктивности, репродуктивные качества коров, а также рост и развитие молодняка в зависимости от статуса животного по HCD. Определена интенсивность липидного обмена коров свободных от HCD и гетерозиготных носителей данной мутации.

1.5 Теоретическая и практическая значимость работы. Проведенный АС — ПЦР анализ на предмет выявления мутаций HCD позволяет понять степень её распространения у племенных животных Ленинградской области. Скрининг популяции на носительство генетического дефекта HCD даст возможность избежать экономических потерь. Результаты исследований могут быть использованы на практике в животноводстве для эффективного повышения селекции крупного рогатого скота черно — пестрой породы.

1.6 Методология и методы исследования. Определение генотипов животных проводили методом ПЦР с использованием аллель — специфичных праймеров. Полученные данные обработаны методами вариационно — статистического анализа. Дисперсионный анализ ANOVA и подсчет средних выполняли в программе RStudio на основании модели с одним фиксированным эффектом. Показатель РПЦ (расчетная племенная ценность) по признакам удой, жир и белок определяли методом BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) Animal Model, решение уравнения смешанной модели проводилось с помощью программного обеспечения MiX99. Концентрацию триглицеридов и холестерина в сыворотке крови, определяли на автоматическом биохимическом анализаторе RX Daytona («Randox Laboratories», Великобритания). Живую массу телок определяли путем ежемесячного индивидуального взвешивания.

1.7 Положения, выносимые на защиту:

1. Проведен анализ генеалогической структуры стада и схемы — подбора быков производителей.
2. Определена встречаемость генетического дефекта HCD в выборках черно — пестрого скота Ленинградской области (коров $n=451$, тёлков $n=236$).
3. Проведена сравнительная оценка молочной продуктивности коров по первой и второй законченной лактации с учетом статуса животных по HCD.
4. Изучены репродуктивные качества коров свободных от HCD и коров — гетерозиготных носителей HCD.
5. Выявлена связь *indel*-полиморфизма в гене *APOB* с ростом и развитием телок от рождения до 16 месяцев.
6. Изучены биохимические показатели липидного обмена коров в зависимости от статуса по HCD.
7. Изучены фенотипические показатели потомства с гомозиготным генотипом по HCD гена *APOB*.

1.8 Апробация работы. Результаты проведенных исследований были представлены на следующих конференциях:

- Международная научно — практическая конференция «Практическое использование геномных и новых селекционных достижений» (Санкт — Петербург, Пушкин, 2018);
- Международная научно — практическая конференция «Практическое использование геномных и новых селекционных достижений» (Санкт — Петербург, Пушкин, 2018);
- Международная научно — практическая конференция «Достижения в генетике, селекции и воспроизводстве сельскохозяйственных животных» (Санкт — Петербург, Пушкин, 2019).
- Деловая программа XXVII международной агропромышленной выставки «АГРОРУСЬ — 2018» (Санкт — Петербург, 2018);
- Конференция «Роль молодых ученых в решении актуальных задач АПК» (Санкт — Петербург, 2018);

1.9 Публикации. По теме диссертации опубликовано 5 статей, из которых 3 — в изданиях ведущих рецензируемых научных журналах, («Генетика и разведение животных», «Известия Оренбургского государственного аграрного университета», «Сельскохозяйственная биология» (Scopus)).

1.10 Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из следующих глав: введение, обзор литературы, материалы и методы, результаты собственных исследований, обсуждение, заключение, практические предложения и список использованной литературы. Работа содержит 109 страниц, 17 таблиц, 10 рисунков, 14 приложений. Библиография включает 178 источников, в том числе 100 на иностранных языках.

2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в соответствии со структурно — логической схемой экспериментов, представленной на рисунке 1.

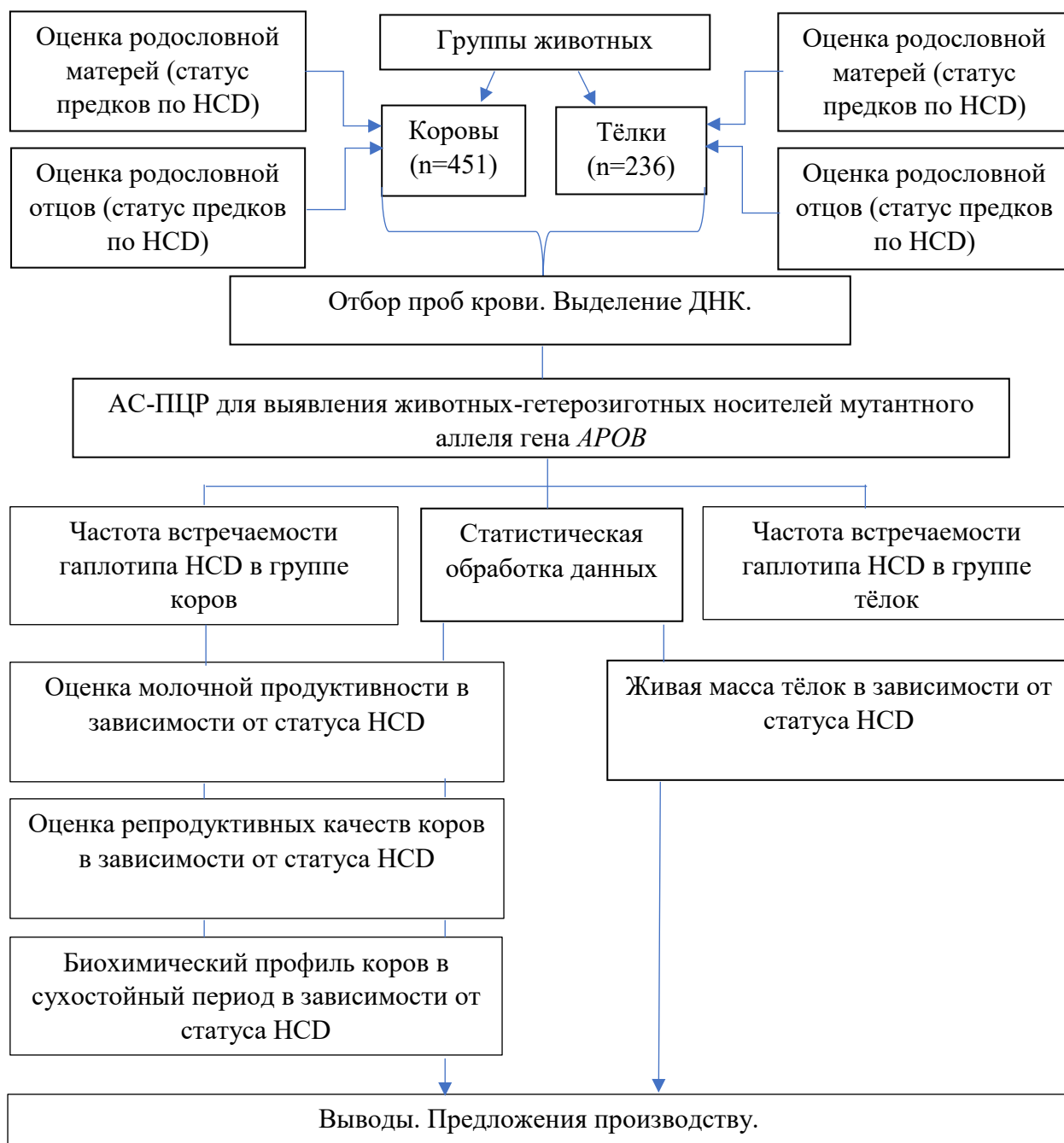


Рисунок 1. Структурно - логическая схема экспериментов.

Исследование проводилось в период с 2017 — 2019 гг. во ВНИИГРЖ и АО «ПЗ «Мельниково» (Ленинградская область). В качестве объекта исследования были отобраны следующие животные: коровы маточного поголовья стада ($n = 451$), выборка была случайной, в нее вошли животные с 2009 по 2015 года рождения; телки ($n = 236$) в возрасте от 3 — х до 16 — ти

месяцев. Выборку составляли животные, имеющие в родословной отца или отца матери — гетерозиготного носителя HCD.

Данные по молочной продуктивности и репродуктивных качеств коров были получены из племенных карточек (форма 2МОЛ, ООО «РЦ «Плино»). Учитывали удои по 1 — й и 2 — й лактации, выход молочного жира и выход молочного белка, возраст первого отела, возраст первого осеменения, количество осеменений до плодотворного, сервис период, межотельный период. Показатель РПЦ (расчетная племенная ценность) по признакам удои, жир и белок определяли методом BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) Animal Model. Концентрацию триглицеридов и холестерина в сыворотке крови, определяли на автоматическом биохимическом анализаторе RX Daytona («Randox Laboratories», Великобритания).

Живую массу телят определяли путем индивидуального ежемесячного взвешивания животных. Данные о родословных тёлках получены из племенных карточек формы 2 — МОЛ.

Материалом исследования являлись образцы ДНК, полученные из венозной крови животных. Забор крови производили из хвостовой вены в вакуумные пробирки, содержащие консервант 0,5М ЭДТА.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Генеалогическая структура стада АО «ПЗ «Мельниково»

В генетической и селекционной работе большое значение имеют данные генеалогии, свидетельствующие, от каких именно родителей и более далеких предков происходят изучаемые животные. Родословная устанавливает родственные связи животного с его предками. В животноводстве, зная биологические и продуктивные качества не только родителей, но и более отдаленных прямых предков, а также родственников по боковой линии, можно с большей точностью подбирать для скрещивания родительские пары в целях совершенствования породы или отдельных стад.

Основными структурными элементами стада, как и породы в целом, являются линии и семейства. Чтобы обеспечивать оптимальную структуру стада необходимо вести целенаправленную племенную работу. Цель разведения по линиям заключается в закреплении и развитии в потомстве ценных особенностей родоначальника и его продолжателей.

В стаде племзавода «Мельниково» сложилась определенная генеалогическая структура в разведении животных по линиям, что, несомненно, способствует ускорению селекции за счет влияния на животных наиболее ценных производителей. Анализ генеалогической структуры стада (таблица 1) показал, что животные принадлежат к следующим генеалогическим линиям: Вис Бэк Айдиала 933122, Рефлекшн Соверинга 198998 и Монтвик Чифтейна 95679.

Таблица 1. Генеалогическая структура маточного стада по принадлежности к линиям (по данным на 01.01.2018 г.)

Кличка и инв. № родоначальника линии	Всего КРС		В том числе коров				Телки	
			Всего		в т.ч. по 1			
	число	%	число	%	число	%	число	%
Вис Бэк Айдиал 933122	454	38,5	391	48,2	120	40,7	63	17,1
Рефлекшн Соверинг 198998	647	54,8	348	42,9	148	50,2	299	81,0
Монтвик Чифтейн 95679	79	6,7	72	8,9	27	9,1	7	1,9
ИТОГО:	1180	100	811	100	295	100	369	100

В хозяйстве основная масса крупного рогатого скота в 2017 году относится к двум линиям — это Рефлекшн Соверинг (54,8 %) и Вис Айдиал (38,5 %). Коровы линии Вис Айдиал составляли 48,2 %, в том числе по 1 — ой лактации — 40,7 %, телок всех возрастов — 17,1 %. Больше всего маточного поголовья в линии Вис Айдиал это дочери быков Модеста 2347 (п=49), Далласа 363 (п=34), Оракула 3222 (п=34). В линии Рефлекшн Соверинг всего коров 42,9 %, в том числе первотелок 50,2 %, телок всех возрастов 81,0 %. В этой линии больше всего дочерей быков Гудвина 1741 (п=66), Марселя 8198 (п=47), Стрельца 5427 (п=45), Нильса 2928 (п=43)

Планы закрепления быков — производителей за маточным поголовьем АО «ПЗ «Мельниково» были составлены в марте 2015 и в июне 2016 гг. главным зоотехником отдела по племенной работе ОАО «Невское» и зоотехником — селекционером хозяйства. Стоит отметить, что информация по HCD мутации стала частично доступной после 2015 года, в связи с этим, не представлялось возможным провести коррекцию плана подбора быков.

Канадский Молочный Союз (CDN) и Канадская голштинская ассоциация разработали подход, который показывает вероятность носительства по каждому гаплотипу, выраженный как обычный процент от 1% до 99%. Животные генотипированные и те, которым присвоили гаплотип, получают вероятность носительства 99 %. При анализе родословных было выявлено, что часть быков — производителей, являются носителями.

В искусственном осеменении участвовали 5 быков — носителей летального гаплотипа HCD (таблица 2).

Таблица 2. Схема подбора быков — производителей АО «ПЗ «Мельниково».

п/п	Основной	Происхождение	Гаплотип HCD
1	Маркус 2630	NL 532426303	Носитель
2	Геркулес 7330	NL 523673301	Носитель
3	Маскарад 2409	USA 71181885	Носитель
4	Крокус 8888	NL 680288882	Носитель
5	Сальвадор 2359	USA 71181835	Носитель
6	Дуглас 959	NL 522909591	Свободный от мутаций
7	Мазай 6311	NL 661863110	Свободный от мутаций
8	Джеймс 2	USA 55618743	Свободный от мутаций
9	Модест 2347	USA 71181823	Свободный от мутаций
10	Кардинал 6147	NL 867661479	Свободный от мутаций
11	Бархат 5524	NL 492255249	Нет данных
12	Дорогой 4279	Российская селекция	Нет данных
13	Нефрит 253	Российская селекция	Нет данных
14	Урмас 4793	Российская селекция	Нет данных
15	Стрелец 5427	Российская селекция	Нет данных
16	Водолей 4101	Российская селекция	Нет данных
17	Маресель 8198	Российская селекция	Нет данных

3.2 Оценка быков — производителей АО «ПЗ «Мельниково».

В селекции основную долю генетического прогресса в продуктивности обеспечивают быки — производители. Важным шагом является решение, какие быки наиболее вероятно обеспечат быстрейший прогресс при разумных затратах. Выбор быка для стада сегодня определяет, какие коровы будут через три года.

Улучшение стада, рост генетического потенциала молочной продуктивности осуществляется главным образом за счет широкого использования при искусственном осеменении лучших оцененных производителей.

В АО «ПЗ «Мельниково» для совершенствования племенных и продуктивных качеств животных стада в подборках пар на 2016 — 2018 годы

на маточном поголовье использовали быков голландской, американской и ленинградской селекций.

В таблице 3 приведена продуктивность женских предков быков, поставленных на оценку по качеству потомства и принадлежащих ОАО «Невское». Молодые быки являются потомками североамериканских производителей, широко используемых во всем мире и имеющие высокую племенную ценность. Материнские предки отличались высокой продуктивностью. Удой матерей быков превышает 10000 кг молока.

Таблица 3. Продуктивность женских предков быков — производителей

Кличка и инв. № быка	Год, место рождения	Удой за наивысшую лактацию					
		Матери			матери отца		
		удой, кг	жир, %	белок, %	удой, кг	жир, %	белок, %
Вис Айдиал 933122							
Крокус 8888	Голландия, 2015	14790	4,26	3,11	-	-	-
Мазай 6311	Голландия, 2015	14884	3,70	2,95	6496	4,30	3,40
Софит 1015	Голландия, 2016	11059	4,19	3,57	13880	3,40	2,90
Рамзес 4503	Голландия, 2016	-	-	-	11340	3,20	3,40
Морган 1014	Голландия, 2016	11059	4,19	3,57	15581	4,10	3,30
Рефлексн Соверинг 198998							
Урмас 4793	Гражданский, 2014	10237	3,91	3,17	13309	4,10	3,20
Кардинал 6147	Голландия, 2015	10920	3,74	3,37	12846	3,80	3,20

3.3 Анализ встречаемости мутации HCD в анализируемом поголовье животных

Методом АС — ПЦР определены генотипы животных в анализируемых группах. Всего мы протестировали 55,7% маточного поголовья коров на носительство мутантного аллеля HCD гена *АРОВ*. По результатам исследования 35 коров (7,76 %) оказались гетерозиготными носителями HCD.

По анализу родословных телок определено, что у 157 голов отцы, а у 79 голов — отцы матерей имели подтверждённый статус HCD. Результаты нашего исследования показали, что частота встречаемости носительства дефекта HCD в анализируемой группе тёлочек оставляла 26,7% (63 гол. из 236). Наследуемость по отцовской линии составляла 29,3% (46 гол. из 157), а по материнской — 21,5% (17 гол. из 79). Одна телка имела гомозиготный генотип.

Среди протестированных животных частота встречаемости дефицита холестерина составляет порядка 10% в разные годы рождения (рисунок 2), что говорит о необходимости своевременного и постоянного анализа поголовья племенных хозяйств для сокращения числа животных носителей.

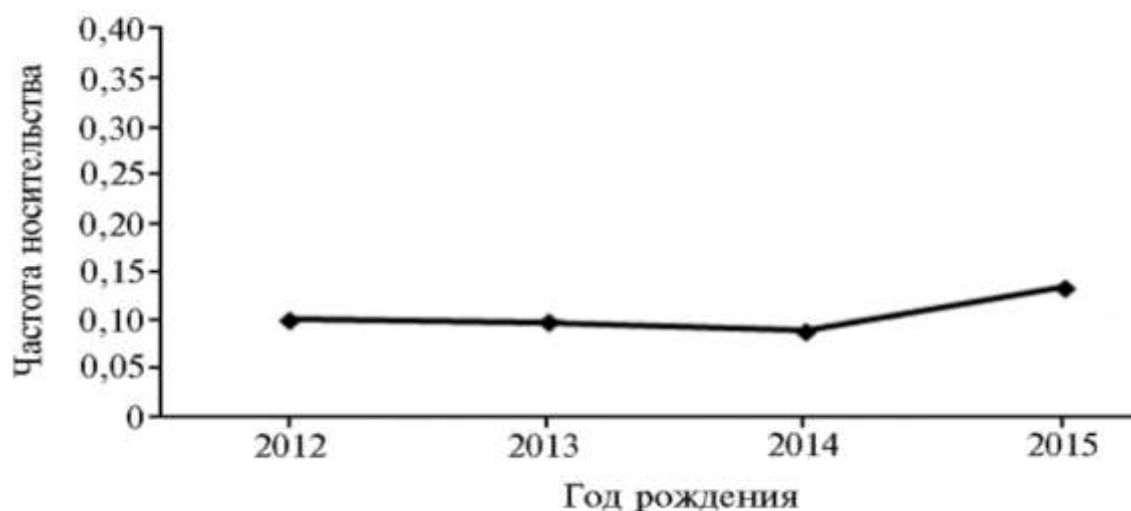


Рисунок 2. Частота носительства мутации дефицита холестерина HCD среди черно-пестрых коров Ленинградской области разных лет рождения

3.4 Оценка молочной продуктивности коров в зависимости от статуса по HCD

Анализ молочной продуктивности (таблица 4) показал, что коровы — носители HCD не уступают своим сверстницам по молочной продуктивности. Для сравнения были выбраны коровы 2012 — 2014 года рождения. Учитывалась 1 — ая и 2 — ая лактации. Так, коровы — скрытые носители мутантного аллеля гена *АРОВ* 2013 года рождения достоверно превосходят здоровых животных: по 1 — ой лактации по удою на 1219 кг ($p \leq 0,003$), по выходу молочного жира на 13,8 кг, по выходу молочного белка на 19,9 кг ($p \leq 0,04$); по 2 — ой лактации — по удою на 1392 кг ($p \leq 0,001$), по выходу молочного жира на 44 кг ($p \leq 0,05$), по выходу молочного белка на 39,8 кг ($p \leq 0,006$). В группах коров 2012 и 2014 г.р. не выявлено достоверных различий между группами, но при этом, коровы — скрытые HCD носители не уступили своим сверстницам, а иногда даже превосходили по показателям молочной продуктивности.

Таблица 4. Молочная продуктивность коров по вариантам генотипов по *indel* — полиморфизму в гене *АРОВ*

Год рождения	Статус животных по HCD	голов	удой	Жир, кг	Белок, кг
1 — ая лактация					
2012	Носитель	3	8750±440	342,6±28,6	281,7±20,4
	Свободные	22	8894±256	333,7±10,1	280,8±7,8
2013	Носители	8	9471±261 ^a	353,8±7,8	292,0±8,5 ^c
	Свободные	73	8252±142 ^b	340,0±5,9	272,1±4,5 ^d
2014	Носители	10	8780±378	346,5±10,0	268,9±9,1
	Свободные	101	8646±126	347,0±5,4	271,0±4,1
2 — ая лактация					
2012	Носители	3	10339±787	390,6±76,9	330,8±43,8
	Свободные	22	9596±385	371,9±16,4	300,1±11,3
2013	Носители	6	10872±346 ^e	428,7±20,1 ^g	339,7±12,2 ⁱ
	Свободные	49	9480±233 ^f	384,7±9,0 ^h	299,9±6,9 ^j

a — b $p \leq 0,003$; c — d $p \leq 0,04$; e — f $p \leq 0,001$; g — h $p \leq 0,05$; i — j $p \leq 0,006$

Средняя расчетная племенная ценность (РПЦ) протестированных животных по признакам удой, жир и белок в кг показана в таблице 5. Средняя РПЦ носителей HCD выше на 6,8 % по удою, 8,1 % по жиру и 4,8 % по белку, животных свободных от носительства.

Таблица 5. Показатели средней расчетной племенной ценности у животных различного статуса по HCD

Статус животных по HCD	Средняя РПЦ по удою (кг)	Средняя РПЦ по жиру (кг)	Средняя РПЦ по белку (кг)
Носители	1100,8	42,5	28,3
Свободные	1030,5	39,3	27,1

Дисперсионный анализ показывает стойкий положительный эффект влияния носительства HCD на продуктивность (таблица 6). Такое превосходство не имеет четкого объяснения, однако может быть обусловлено

нахождением гена *AROV* в участке генома, отвечающем за высокую молочную продуктивность.

Таблица 6. Дисперсионный анализ расчетной племенной ценности чернопестрых коров Ленинградской области, гетерозиготных по мутации дефицита холестерина HCD

Признак продуктивности	Эффект	P — значение
Удой (кг)	4,076	0,0442
Жир (кг)	6,617	0,0105
Белок (кг)	1,905	0,168

3.5 Оценка репродуктивных качеств коров в зависимости от статуса по HCD

Анализ данных репродуктивных качеств коров в зависимости от их статуса по HCD представлен в таблице 7. Рассматривая влияние HCD на показатели воспроизводства можно отметить, что у животных, являющихся скрытыми носителями дефекта, для плодотворного осеменения использовали меньше доз криоконсервированного семени, а также показатели сервис-периода и межотельного периода были существенно сниженными, что можно расценивать как положительное явление. Однако, в связи с недостаточным размером выборки в подгруппах скрытых носителей HCD (2012 г.р. n=3; 2013 г.р. n=8) не выявлено достоверных различий.

Таблица 7. Показатели репродуктивных качеств коров в зависимости от статуса HCD

Показатель	Группы животных			
	2012 г.р.		2013 г.р.	
	Носители HCD (n=3)	Свободные от HCD (n=97)	Носители HCD (n=8)	Свободные от HCD (n=141)
Возраст 1-го осеменения, мес.	16,3±1,2	15,9±0,8	15,8±0,5	15,5±0,6
Возраст 1-го отела, мес.	25,0±2,8	24,7±0,5	25,9±0,4	25,3±0,5
Количество осеменений до плодотворного	1,33±0,3	1,80±0,11	1,50±0,1	1,68±0,1
Сервис период, дн.	105,6±26,5	175,3±10,5	155,0±30,1	158,3±8,3
Межотельный период, дн.	395,3±29,0	436,9±9,8	386,5±18,6	420,5±7,2

3.6 Характеристика роста и развития телок в зависимости от статуса по HCD

Данные таблицы 8 показывают, что тёлки — носители гетерозиготного генотипа HCD значительно уступают в развитии своим сверстницам во все возрастные периоды жизни. В среднем разница между показателями составляет от 5,2% (2 месяца) до 21,0% (10 месяцев). Постепенное увеличение показателя наблюдалось с 3 — х до 10 месяцев (14,8% до 21,0%). А с 11 — ти месячного возраста разница в живой массе несколько уменьшалась с 20,0% до 18,3%.

Таблица 8. Интенсивность развития тёлочек в разные возрастные периоды в зависимости от статуса HCD

Возраст, мес.	Живая масса, кг			
	n	Носитель HCD	n	Свободный от HCD
При рождении	63	42,6±0,1	173	47,6±0,1 ***
1	63	57,1±0,2	173	61,3±0,2 ***
2	63	73,8±0,3	173	77,9±0,6 ***
3	63	86,4±0,4	173	101,2±0,3 ***
4	59	109,6±0,2	165	126,2±0,2 ***
5	57	133,1±0,4	158	158,4±0,1 ***
6	56	157,6±0,5	152	190,9±0,2 ***
7	52	180,1±0,7	138	218,4±0,1 ***
8	46	204,7±0,3	122	245,9±0,2 ***
9	41	227,4±0,4	107	272,1±0,3 ***
10	39	249,7±0,6	95	309,3±0,3 ***
11	33	272,9±0,3	78	341,8±0,4 ***
12	32	299,8±1,1	67	371,1±0,4 ***
13	27	324,1±0,8	59	400,6±0,6 ***
14	25	357,9±0,6	54	432,2±0,4 ***
15	22	379,5±0,8	47	460,2±0,5 ***
16	18	400,9±0,7	43	490,7±0,5 ***

Уровень достоверности *** $p \leq 0,001$

Данные диаграммы (рисунок 3) наглядно показывают, что тёлки, имеющие в своём генотипе мутантный аллель, начиная с 3 — х месячного возраста резко отстают в росте в сравнении со своими сверстницами.

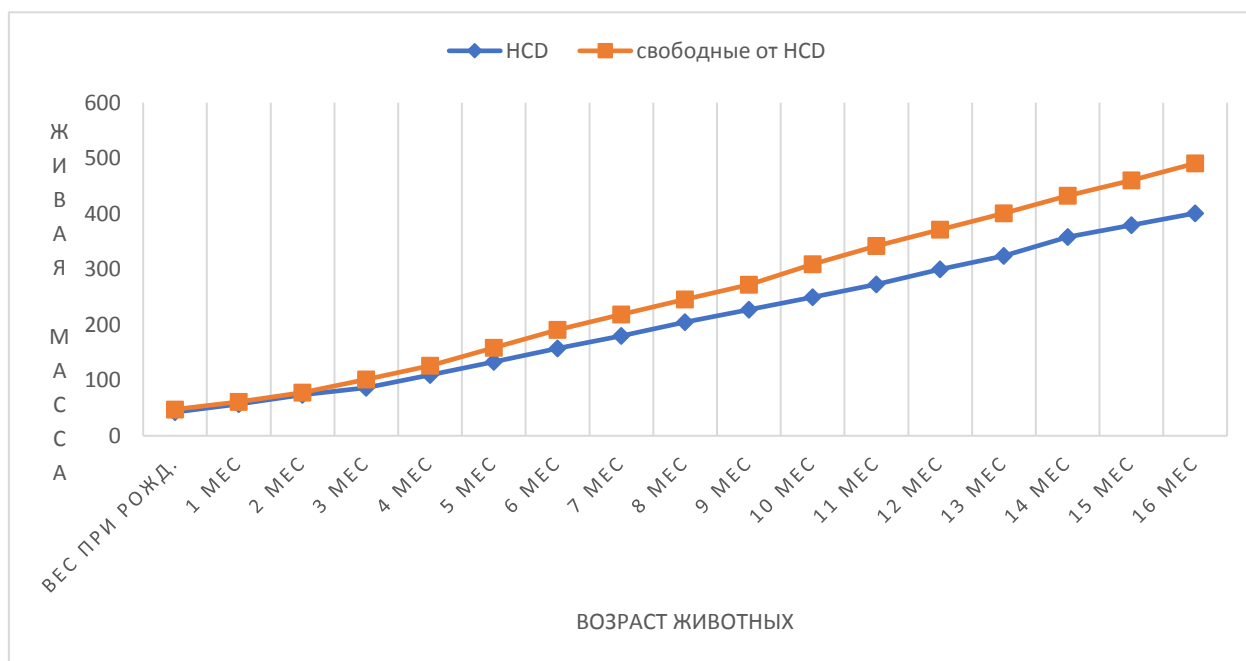


Рисунок 3. Динамика живой массы тёлок в зависимости от статуса HCD.

Интенсивность роста тёлок молочных пород является важным моментом при выращивании ремонтного молодняка, так как во многом определяет его дальнейшую молочную продуктивность, а также сроки первого осеменения и первого отела. Наиболее важным в жизни тёлки является период полового созревания, продолжающийся с 6 — ти до 9 — ти месяцев. Наступление половой зрелости в большей мере зависит от живой массы тёлки, чем от возраста. Если тёлка отличается низким уровнем прироста живой массы, то половая зрелость у неё может наступить в более поздние сроки. Для тёлок голштинской породы первое осеменение рекомендовано проводить в возрасте 14 — 16 мес., но только после того, как тёлка достигнет 50 — 60% живой массы от взрослого веса, что составляет 380 — 400 кг. По результатам наших исследований можно отметить, что тёлки-носители HCD достигают оптимальной живой массы для первого осеменения только к возрасту 16-ти месяцев, тогда как животные свободные от данной мутации уже в 13 месяцев имеют достаточную живую массу. Можно предположить, что низкий темп роста животного может привести к снижению сроков осеменения, что в свою очередь повлечет за собой экономические затраты хозяйства.

В ходе исследования была выявлена одна тёлка с гомозиготным генотипом HCD. Данное животное имело следующие клинические признаки: значительное отставание в росте и развитии, истощение, диарея не ясной этиологии, неподдающаяся медикаментозному лечению. Вес при рождении — 39 кг, вес в 2 месяца — 49 кг, вес в 3 месяца — 49 кг. Среднесуточный прирост

от рождения до достижения возраста 2 месяцев — 166 г. По результатам генотипирования статус матери по HCD определен как положительный, при этом отец данной телки также являлся носителем мутантного аллеля. Анализируя родословные родителей, можно отметить, что среди предков матери — бык М. Шторм 5457798 (ОООМ), среди предков отца — Голдвин 10705608 (ОММО). В России данные быки и их потомки используются в системе искусственного осеменения уже несколько лет и отмечены как скрытые носители HCD.

3.7 Биохимические показатели липидного обмена коров в зависимости от статуса по HCD

В нашем исследовании был проведен анализ проб сыворотки крови на содержание холестерина и триглицеридов у коров — носителей HCD ($n=3$) и коров свободных от данной мутации ($n=14$). Сравнительный анализ не выявил достоверных отклонений между группами по содержанию в крови холестерина ($3,04 \pm 0,31$ мм/л и $3,33 \pm 0,12$ мм/л соответственно) и триглицеридов ($0,197 \pm 0,01$ мм/л и $0,170 \pm 0,01$ мм/л). Уровни концентрации этих метаболитов в обеих группах были также в пределах стандартных интервалов: 0,05 — 0,3 мм/л для холестерина и 0,05 — 0,3 мм/л для триглицеридов.

ВЫВОДЫ

1. Генеалогическая структура стада представлена животными двух голштинских линий — это Рефлексн Соверинг 198998 (54,8 %) и Вис Айдиал 933122 (38,5 %).
2. На маточном поголовье стада использовались 3 быка — производителя линии Рефлексн Соверинг 198998 и 2 быка — производителя линии Вис Айдиал 933122, имеющих в своем генотипе гаплотип HCD (haplotype cholesterol deficiency).
3. Установлено, что частота встречаемость гаплотипа HCD среди маточного поголовья коров АО «ПЗ «Мельниково» составила 7,8%.
4. В исследуемой группе тёлочек АО «ПЗ «Мельниково», имеющих в родословной предка — носителя гаплотипа HCD, частота встречаемости составила 26,7%.
5. Наличие гаплотипа HCD не влияет на снижение продуктивных качеств и воспроизводительных способностей маточного поголовья стада.
6. Биохимический анализ крови животных не выявил достоверных различий у носителей гаплотипа HCD и свободных от него.
7. Животные с гаплотипом HCD отличаются низкими темпами прироста живой массы в различные возрастные периоды в сравнении со сверстницами свободными от данного гаплотипа.
8. В результате исследования выявлено, что потомство с гомозиготным генотипом по HCD гена *APOB* не жизнеспособно.

ПРАКТИЧЕСКИЕ ПРЕДЛОЖЕНИЯ

1. С целью снижения экономических потерь и своевременного вывода из системы воспроизводства, необходимо генотипировать быков — производителей на носительство гаплотипа HCD.
2. При проведении исследований на достоверность происхождения целесообразно устанавливать носительство гаплотипа HCD.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

в рецензируемых научных журналах:

1. Лихачева Т.Е. Влияние мутации дефицит холестерина на репродуктивные качества коров голштинизированной черно-пестрой породы / М.В. Позовникова, **Т.Е. Лихачева**, Г.В. Ширяев // Генетика и разведение животных. - 2018. - №2. - С. 61-66.
2. Лихачева Т.Е. Мутация HCD у российских голштинизированных черно – пестрых коров не влияет на молочную продуктивность и содержание холестерина и триглицеридов в крови / М.В. Позовникова, **Т.Е. Лихачева**, А.А. Кудинов, В.Б. Лейбова, Н.В. Дементьева // Сельскохозяйственная биология. - 2018. - Т. 53. - №6. - С. 1142 - 1151.
3. Лихачева, Т.Е. Влияние гаплотипа «дефицит холестерина» (HCD) на интенсивность прироста живой массы тёлочек голштинской породы / **Т.Е. Лихачева**, М.В. Позовникова // Известия Оренбургского аграрного государственного университета. - 2019. - №1. - С. 166 - 168.

в других изданиях:

4. Лихачева, Т.Е. Мутация – дефицит холестерина голштинского скота, как причина постнатальной смертности телят / **Т.Е. Лихачева**, М.В. Позовникова // Качественный рост российского агропромышленного комплекса: возможности, проблемы и перспективы: Материалы деловой программы XXVII международной агропромышленной выставки «АГРОРУСЬ – 2018» - 2018. – С 183 - 186.
5. Лихачева, Т.Е. Поиск мутации «дефицит холестерина» у коров методом полимеразной цепной реакции / **Т.Е. Лихачева** // Роль молодых учёных в решении актуальных задач АПК: Сборник научных трудов международной научно-практической конференции молодых ученых СПбГАУ. - СПб. - 2018. - С. 155-157.