

## ANIMAL HUSBANDRY

DOI: <https://doi.org/10.23649/jae.2022.1.21.17>

Safina N.Yu.<sup>1\*</sup>, Shakirov Sh.K.<sup>2</sup>, Zinnatova F.F.<sup>3</sup>, Fattakhova Z.F.<sup>4</sup>, Gaynutdinova E.R.<sup>5</sup>, Nizamov R.M.<sup>6</sup>

<sup>1, 2, 3, 4, 5, 6</sup> Tatar Scientific Research Institute of Agriculture, Federal Research Center “Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences”, Kazan, Russia

\* Corresponding author (natysafina[at]gmail.com)

Received: 25.10.2021; Accepted: 01.03.2022; Published: 11.04.2022

### ON THE RELATIONSHIP BETWEEN THE POLYMORPHISM OF THE TOLL–LIKE RECEPTOR 4 (TLR4) GENE AND ECONOMICALLY SIGNIFICANT TRAITS OF HOLSTEIN CATTLE IN THE REPUBLIC OF TATARSTAN

Research article

#### Abstract

In recent years, there has been a growing interest in the use of genetic methods to create more disease-resistant livestock. Because of its important role in the immune system, in such studies, the toll-like receptor 4 (TLR4) gene is one of the promising genes. The article focuses on studying the polymorphism (c.9421C > T) of the TLR4 – Alu I gene by PCR–RLFP in the population of Holstein cattle in the Republic of Tatarstan. During DNA diagnostics of 390 cows, alleles A (0.451) and B (0.549) and genotypes AA (19.5%), AB (51.3%) and BB (29.2%) were identified. Milk yield for the first standard lactation (p 0.01), the content of milk fat (p 0.05) and protein (p 0.01), as well as dry matter (p 0.01) in milk was statistically significantly higher in first-calf cows with the AA genotype of the TLR4 gene. In cows with the AA genotype, the number of somatic cells, with a statistical difference (p 0.001), was more than 50.0% lower than this indicator in animals with the BB genotype. The calculation of the economic efficiency of milk production from cows with different genotypes of the TLR4 gene showed that with the same financial costs, profit, and profitability are significantly higher from livestock with the AA genotype.

**Keywords:** gene, genotype, polymorphism, TLR4, Toll-like receptor 4, mastitis, milk yield, somatic cells, cattle.

Сафина Н.Ю.<sup>1\*</sup>, Шакиров Ш.К.<sup>2</sup>, Зиннатова Ф.Ф.<sup>3</sup>, Фаттахова З.Ф.<sup>4</sup>, Гайнутдинова Э.Р.<sup>5</sup>, Низамов Р.М.<sup>6</sup>

<sup>1, 2, 3, 4, 5, 6</sup> Татарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства ФИЦ КазНЦ РАН, Казань, Россия

\* Корреспондирующий автора (natysafina[at]gmail.com)

Получена: 25.10.2021; Доработана: 01.03.2022; Опубликована: 11.04.2022

### ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ ПОЛИМОРФИЗМОМ ГЕНА TOLL–ПОДОБНОГО РЕЦЕПТОРА 4 (TLR4) И ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ ПРИЗНАКАМИ ГОЛШТИНСКОГО СКОТА РЕСПУБЛИКИ ТАТАРСТАН

Научная статья

#### Аннотация

В последние годы растет интерес к использованию генетических методов для создания более устойчивого к болезням поголовья сельскохозяйственных животных. В таких исследованиях ген toll-подобного рецептора 4 (TLR4) является одним из перспективных генов из-за его важной роли в иммунной системе. Работа была направлена на изучение полиморфизма (с.9421С > Т) гена TLR4 – Alu I методом ПЦР–ПДРФ в популяции голштинского скота Республики Татарстан. В ходе ДНК–диагностики 390 голов коров идентифицированы аллели А (0,451) и В (0,549) и генотипы – АА (19,5%), АВ (51,3%) и ВВ (29,2%). Удой за первую стандартную лактацию (р < 0,01), содержание молочного жира (р < 0,05) и белка (р < 0,01), а также сухого вещества (р < 0,01) в молоке статистически значимо превышало у коров-первотелок с генотипом АА гена TLR4. У коров с генотипом АА количество соматических клеток, со статистической разницей (р < 0.001) было более чем на 50,0 % ниже этого показателя у животных с ВВ–генотипом. Расчет экономической эффективности производства молока от коров с разными генотипами гена TLR4 показал, что при одинаковых финансовых затратах, прибыль и рентабельность значительно выше от поголовья с генотипом АА.

**Ключевые слова:** ген, генотип, полиморфизм, TLR4, Toll-подобный рецептор 4, мастит, удой, соматические клетки, крупный рогатый скот.

## 1. Введение

Мастит является наиболее частым, сложным и дорогостоящим заболеванием в молочных стадах и приводит к серьезным экономическим убыткам из-за снижения надоев и потерь молока, непригодного для употребления, что приводит к массовому применению антибиотиков и преждевременной выбраковке. Интрамаммарные инфекции часто возникают у молочного скота в периоды, когда нарушены врожденные защитные механизмы: в послеродовой период и в период ранней лактации. В настоящее время профилактика мастита, вызываемого инфекционными бактериями или бактериями окружающей среды, которые проникают в молочную железу через канал сосков, более важна, чем постинфекционное лечение [1], [2], [3].

Устойчивость или предрасположенность к маститу – это сложный признак, который зависит от генетических компонентов, участвующих в сигнальных путях, и скоординированной активности различных молекул и клеток. Несколько исследований сканирования генома выявили локусы количественных признаков и несколько молекулярных маркеров, таких как однонуклеотидные полиморфизмы (SNP), которые связаны с маститом, что позволяет предположить, что устойчивость к этому состоянию имеет значительный генетический компонент, несмотря на его низкую наследуемость [4], [5].

Toll-подобные рецепторы (*TLR*) представляют собой мультигенное семейство рецепторов распознавания образов, которые являются членами суперсемейства *TLR*-интерлейкин 1 (*IL-1*). Эти рецепторы распознают большое количество PAMP (патоген-ассоциированные молекулярные паттерны) и, следовательно, играют центральную роль в инициации воспалительной реакции и последующего адаптивного иммунного ответа на микробные патогены [6]. Открытие *TLR* не только дало возможность лучше понять защитный механизм организма против патогенов, но и облегчило идентификацию генов, определяющих устойчивость животных к маститу. Сообщается, что семейство генов *TLR* является многообещающим молекулярным маркером корреляции между иммунными ответами хозяина и бактериальными патогенами при мастите [7].

Исследования показали, что возбудителями мастита являются коагулазонегативные стафилококки, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* и *Corynebacterium spp.* [8]. Согласно S.A. El-Khodery and S.A. Osman, 2008, бактерии группы кишечной палочки (*Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*) были наиболее распространенным патогеном, за ними следуют *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* и *Streptococcus agalactiae* [9]. У крупного рогатого скота *Streptococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* и колиформные бактерии являются основными возбудителями мастита, а *Corynebacterium bovis* и коагулазонегативные стафилококки – второстепенными возбудителями мастита [10].

*TLR-4* (Toll-подобный рецептор 4) был идентифицирован как рецептор распознавания образов для липополисахаридов и липотейхоевой кислоты – грамотрицательных и грамположительных бактерий соответственно, инициирует PAMP для *E. coli*. [11]. Экспрессия bovine *TLR4* сильно увеличивается в молочной железе во время мастита, вызванного *S. aureus* [1].

Ген *TLR4* крупного рогатого скота был открыт в 2003 г. и картирован на дистальном конце *Bos taurus autosome 8 (BTA8)* [12]. Ген *TLR4* крупного рогатого скота длиной около 3739 п.н. содержит открытую рамку считывания из 2526 п.н., кодирующую 841 аминокислоту [13]. Ген *TLR4* крупного рогатого скота является высокополиморфным: на сегодняшний день обнаружено более 40 SNP гена *TLR4* крупного рогатого скота, что означает в среднем 1 «точковая мутация» на 90 п.н. [4]. *Bovine TLR4* имеет три экзона, экзон 1 включает кодирующие пары оснований 1–95, экзон 2 состоит из 96–260 пар оснований, а экзон 3 состоит из 261–2526 пар оснований. Структурные различия, кодируемые геном *TLR4*, могут представлять дополнительный физиологический механизм, усиливающий резистентность к маститу.

Так как *TLR4* высокополиморфен у коров, а его экспрессия связана с имаммарной инфекцией, этот ген может быть потенциальным кандидатом для использования в селекции с помощью маркеров для повышения устойчивости к маститу у молочного скота.

Цель исследования. Изучение полиморфизма гена *TLR4* в популяциях голштинского скота Республики Татарстан и его ассоциации с молочной продуктивностью, качественным составом молока коров отечественной и зарубежной селекции.

## 2. Методы исследования

Всего для опыта было отобрано 390 образцов крови коров голштинской породы. Биологический материал был получен из хвостовой вены в вакуумные пробирки, K–3 EDTA, содержащие антикоагулянт ЭДТА (APEXLAB, Китай). Большую часть отобранной популяции (243 гол.) составили полновозрастные коровы КФХ «Мухаметшин 3.3.» Сабинского района Республики Татарстан. Остальное поголовье (147 гол.) представлено коровами–перволеткамии СХПК «Племзавод им. Ленина» Атнинского района Республики Татарстан. Во время эксперимента опытные стада содержались в хозяйствах благополучных по инфекционным и инвазионным заболеваниям, согласно ветеринарным нормам и стандартным условиям кормления.

Первичные данные зоотехнического и ветеринарного учета опытных животных были получены из ИАС «СЕЛЭКС. Молочный скот». «СЕЛЭКС. Молочный скот (w. 7.1.0)» (версия Windows) (АРМ «Плино», Россия). Качественный состав молока методами инфракрасной спектроскопии и проточной цитометрии проводился на оборудовании CombiFoss™ 7, MilkoScan™ 7 RM, Fossomatic™ 7 (FOSS, Дания) в лаборатории АО «ГПП «Элита» Высокогорского района Республики Татарстан.

Праймеры для идентификации SNP (с.9421С > Т) гена *TLR4* (GenBank No. DQ839566) были сконструированы путем лигирования специально разработанной последовательности адаптера с геномной ДНК крупного рогатого скота

[4]. ПЦР–анализ проводили для специфического участка экзона 3 (382 п.н.) в предполагаемой области связывания корцептора 2 (T4CRBR2) в экзоне 3 гена TLR4 (NCBI: NC\_037335.1) с использованием следующего комплекта праймеров с заданной олигонуклеотидной последовательностью: F: 5' AGA CAG CAT TTC ACT CCC TC 3', R: 5' ACC ACC GAC ACA CTG ATG AT 3' (Евроген, Россия).

Амплификация фрагментов осуществлялась на программируемых термоциклерах “Т–100 Thermal Cycler” и “My Cycler” (BIO RAD, США). Продукт ПЦР гена TLR4 размером 382 п.н. был получен в ходе амплификации по специально разработанному протоколу и модифицированных температурно–временных режимах.

Расщепление полученных ПЦР–проб выполнялось реакционной смесью с эндонуклеазой рестрикции Alu I из штамма E.coli, несущего клонированный ген Alu I из *Arthrobacter luteus* (СибЭнзим, Россия), вносимой конечным объемом 5 мкл в пробирки с ампликатами. Гидролиз образцов осуществляли при температуре 37 °С в течение 16 ч.

Электрофоретическое разделение полученных продуктов ПЦР–ПДРФ анализа проводилось в 3 %-ном агарозном геле и 1x TBE буфере, в присутствии 1%-го бромида этидия при напряженности поля 20 В/см в течение 25 мин в камере горизонтального фореза (Helicon, Россия).

Визуализация, видеофиксация и документирование рестриционных фрагментов осуществлялось посредством УФ–трансиллюминатора и геледокументирующей системы (BIO RAD, США). Идентификация генотипов выполнялась за счет предоставления из бюджета Республики Татарстан грантов на государственную поддержку научных исследований и разработок в области агропромышленного комплекса бюджетным и автономным учреждениям в 2021 г., договор №40 от 14.12.2021 г.

Частоту встречаемости генотипов определяли по формуле Г.Н. Шангина–Березовского (1983), частоту отдельных аллелей определяли по формуле Е.К. Меркурьевой (1977). Генетическое равновесие в популяции рассчитывалось согласно закону Харди–Вайнберга. Проверка варибельности между наблюдаемым и ожидаемым распределением генотипов в популяции проводилась по методу хи–квадрат Пирсона ( $\chi^2$ ).

Критерий достоверности разницы между группами рассчитывался по методикам Н.А. Плохинского (1969). Достоверность проверялась согласно критерию t–Стьюдента для независимых выборок. Обработка данных совершалась на персональном компьютере в программе MS Excel, приобретенного за счет финансирования в рамках государственного задания ФИЦ КазНЦ РАН.

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

### 3. Результаты исследования

Изучаемый нами полиморфизм локуса T4CRBR2 был индуцирован SNP (с.9421C > T) на нуклеотиде 1397 п.н. в экзоне 3 гена TLR4. В результате полимеразной цепной реакции с применением указанного выше комплекта олигонуклеотидных праймеров, были получены ампликоны. Последующая обработка проб эндонуклеазой Alu I и визуализация результатов ПДРФ показала, что группы исследуемых животных представлены двумя аллелями и тремя генотипами гена TLR4 и являются полиморфными популяциями.

В общем в исследуемых группах животных аллели А и В встречались с частотой равной 0,451 и 0,549. Особей с генотипом TLR4<sup>AA</sup> было обнаружено 19,5 % (76 гол.), с генотипом TLR4<sup>AB</sup> – 51,3 % (200 гол.) и с генотипом TLR4<sup>BB</sup> – 29,2 % (114 гол.). Варибельность распределения между наблюдаемой и ожидаемой частотой встречаемости генотипов, тестируемая методом хи–квадрат, составила 0,49 по всей оцениваемой популяции, что ниже критического значения. Из этого следует, что генетическое равновесие не нарушено и согласуется с законом Харди–Вайнберга.

Генетическая структура популяций двух изучаемых хозяйств сходна (Рис. а и б). Минимальное количество особей представлено гомозиготным генотипом AA. Самые многочисленные группы коров имели гетерозиготный генотип AB – более 50,0 % от общего поголовья. Средняя частота встречаемости зафиксирована у генотипа BB.

Оценка варибельности распределения аллелей и генотипов методом хи–квадрат показала, что в обеих популяциях генетическое равновесие не нарушено, так как значения  $\chi^2$  ниже допустимого  $\chi_{крит.}$ . Мониторинг работ других авторов–исследователей голштинского скота различного ареала обитания указывают на значительное варьирование результатов идентификации генотипов гена TLR4.

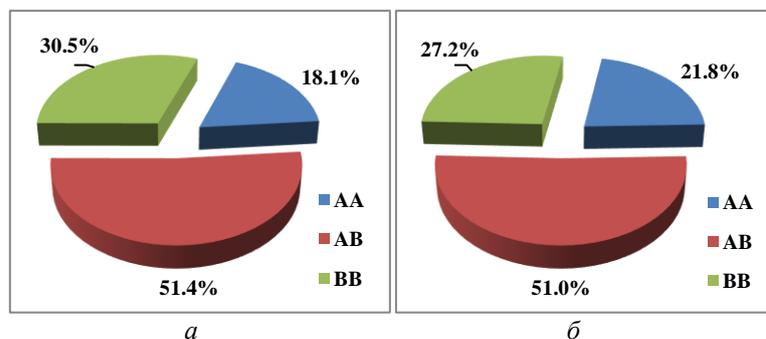


Рис. 1 – Генетическая структура популяций по гену TLR4:  
а - КФХ «Мухаметшин 3.3.» ( $\chi^2=0,49$ ); б - СХПК «ИЗ им. Ленина» ( $\chi^2=0,08$ )

Анализ ассоциаций полиморфизма гена TLR4 (T4CRBR2) с показателями удоя и качественного состава молока, представленный в таблице 1, свидетельствует о влиянии различных генотипов изучаемого гена на признаки молочной

продуктивности. Максимальный удой за первую стандартную лактацию получен от коров–первотелок с генотипом AA, что статистически значимо превосходит показатели полученного молока от коров с генотипом BB на 601,2 кг (7,7 %;  $p < 0,01$ ), а с генотипом AB на 368,1 кг (4,7 %). В работах Ch. Beecher и др. (2010), и H. Zhou (2017) сообщались похожие результаты, где высокими удоями отличались особи с генотипом AA гена TLR4, далее шли животные с генотипом AB, а наименьший удой зафиксирован у гомозиготных BB–коров [5], [14]. Однако существуют совершенно противоположные данные, свидетельствующие об обильномолочности коров с генотипом BB [15]. По содержанию массовой доли жира и белка статистически значимой разницы между опытными группами не установлено, и превосходство по этим показателям животные с генотипом AA носит характер тенденции. В исследованиях голштинского скота R. Mišeikienė и др. (2020) повышенным содержанием жира и белка характеризуются особи, несущие в локусе TLR4–Alu I гетерозиготные генотип AB [16]. Из результатов, полученных M. Wang и др. (2018), следует, что молоко коров с генотипом BB отличается повышенным содержанием массовой доли жира и белка [17].

Таблица 1 – Молочная продуктивность и качественный состав молока коров голштинской породы с разными генотипами гена *TLR4*

Показатель	Генотипы гена <i>TLR4</i>		
	<i>AA (M ± m)</i>	<i>AB (M ± m)</i>	<i>BB (M ± m)</i>
Удой за 305 дн. лактации, кг	7857,0±172,3**	7488,9±156,6	7255,8±152,1
Массовая доля жира, %	3,88±0,05	3,85±0,04	3,81±0,04
Массовая доля белка, %	3,31±0,03	3,29±0,03	3,23±0,03
Выход молочного жира, кг	304,9±8,5*	288,3±5,4	276,4±87,6
Выход молочного белка, кг	260,1±7,5**	246,1±3,7	234,3±6,2
Сухое вещество, %	12,2±0,09**	12,0±0,08	11,8±0,09
Соматические клетки, тыс./см <sup>3</sup>	160,3±15,4	203,2±21,1	337,0±18,9***

Примечание: \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,01$ ; \*\*\* –  $p < 0,001$  по отношению к наименьшему показателю

Анализ качественного состава молока опытных коров показал, что высокое содержание сухого вещества наблюдается в образцах, полученных от особей с генотипом AA, и составляет 12,2%, что на 0,4 абс. % ( $p < 0,01$ ) выше этого показателя в молоке животных с генотипом BB и на 0,2 абс. %, чем у гетерозиготных. Сведения по этому показателю, которые представлены в исследованиях китайской популяции голштинского скота, указывают на превосходство особей с генотипом BB. Промежуточный результат закрепился за животными гетерозиготного генотипа AB, а наименьшее содержание сухого вещества установлено у коров с генотипом AA [17].

Так как во многих странах содержание соматических клеток используется в качестве косвенного критерия отбора для повышения устойчивости к маститу, мы в своем исследовании провели сравнительную оценку проб молока, отобранного раз за сезон, в опытных стадах. Определено, что в молоке коров с генотипом BB гена TLR4 содержание соматических клеток статистически значимо выше, чем в молоке коров генотипа AB на 133,8 тыс./см<sup>3</sup> (39,7%;  $p < 0,001$ ), а коров генотипа AA на 176,7 тыс./см<sup>3</sup> (52,4%;  $p < 0,001$ ). Схожая информация представлена в работах зарубежных авторов [4], [5], [17]. А также существуют иные сведения по этому показателю, свидетельствующие о превышении допустимого уровня соматических клеток в молоке коров гетерозиготного AB генотипа [16], и особей с генотипом AA [11], [18].

Мастит относят к категории сложных и убыточных заболеваний, особенно его скрытая форма, которая по данным Всемирной организации ветеринарного здравоохранения наносит весомый удар по экономике молочного скотоводства. В современных условиях экономики получение валового удоя молока от коров должно оправдывать затраты на свое производство, и прежде всего, эксплуатацию животных, сочетающих высокий уровень продуктивности, резистентность к маститу и высококачественный состав молока.

Анализ ассоциаций полиморфизма гена toll–подобного рецептора 4 с признаками молочной продуктивности и содержанием соматических клеток в молоке, позволил рассчитать экономическую эффективность производства молока–сырья коров с разными генотипами гена TLR4 (Табл. 2), с учетом пересчета надоенного молока на базисный жир и белок, затрат на лечение мастита и закупочной цены на молоко.

Таблица 2 – Молочная продуктивность и экономическая эффективность (на 1 гол.) производства молока–сырья коров с разными генотипами гена *TLR4*

Показатель	Генотипы гена <i>TLR4</i>		
	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
Средний удой за 305 кг./гол.	7857,0	7488,9	7255,8
Среднее содержание соматических клеток, тыс./см <sup>3</sup>	170,2	201,2	337,0
Здоровье вымени	здоровое	хорошее	удовлетворит.
Количество молока базисн. жир (3,4%) и белок (3,0%), кг	8796,9	8327,8	7949,2
Потери молока, кг	0,0	469,1	847,7
Потери молока, %	0,0	5,3	9,6
Себестоимость молока, руб./кг*	19,32	19,32	19,32
Закупочная цена молока, руб./кг*	27,28	27,28	27,28
Выручка от реализации, руб./гол.	239979,43	227182,38	216854,18
Себестоимость молока за удой, руб./гол.	169956,11	160893,10	153578,54
Потери выручки с продажи молока, руб./гол.	0,0	13313,42	23625,26
в т.ч. затраты на лечение, руб./гол.	0,0	500,0	500,0
Прибыль, руб.	70023,32	52975,86	39650,38
Рентабельность, %	41,20	32,93	25,82

Примечание: \*по данным производителей на 1 декабря 2021г.

При равных условиях содержания, кормления, кормообеспеченности и ветеринарных нормах коровы с генотипом *AA* продуцируют молока больше, чем коровы с другими генотипами гена *TLR4*. В пересчете на базисное содержание жира (3,4%) и белка (3,0%) в молоке различие в удое между группами было: генотип *AA* к *AB* – 469,1 кг (5,3%), генотип *AA* к *BB* – 847,7 (9,6%). Учитывая издержки на лечение и недополученный удой за лактацию, потери выручки с продажи молока коров с генотипом *AB* составили 13313,42 руб./гол., а коров с генотипом *BB* – 23625,26 руб./гол. Доля чистой прибыли от реализации молока коров с генотипом *AA* гена *TLR4* на 30372,94 руб./гол. превышает прибыль от коров с генотипом *BB*, и на 17047,46 руб./гол. выше дохода, полученного от коров с генотипом *AB*.

В результате выручки от реализации молока животных с генотипом *AA* рентабельность производства продукции оказалась выше на 8,27 и 15,38 %, чем от особей с генотипами *AB* и *BB* соответственно.

#### 4. Выводы

В результате идентификации генотипов гена *TLR4* коров голштинской породы Республики Татарстан было установлено, что исследуемая популяция полиморфна и находится в состоянии генетического равновесия согласно закону Харди–Вайнберга. Отмечено положительное влияние аллеля *A* на уровень молочной продуктивности за стандартную лактацию, качественный состав молока (массовая доля жира, белка, сухого вещества), выход молочного жира и белка и содержание соматических клеток в молоке опытных коров.

Анализ проведенного исследования позволяет сделать вывод, что наибольший экономический эффект дало использование коров голштинской породы с генотипом *AA*. Основываясь на результатах изучения SNP (с.9421С > Т) локуса *TLR4–Alu I*, можно предположить, что toll–подобный рецептор 4 является перспективным геном–маркером для отбора коров, обладающих высокой молочной продуктивностью и устойчивостью к поражениям молочной железы (маститам). Полученные новые знания и экспериментальные данные по созданию поголовья местного скота найдут широкое применение в сельском хозяйстве, в частности, в отрасли молочного скотоводства, при составлении плана селекционно–племенных мероприятий.

#### Funding

This work was supported by the State Assignment of the Federal Research Center KazSC RAS and by providing from the budget of the Republic of Tatarstan a grant for state support of scientific research and development in the field of the agro–industrial complex to budgetary and autonomous institutions in 2021, contract No. 40 dated 12/14/2021.

#### Финансирование

Данная работа была поддержана Государственным заданием ФИЦ КазНЦ РАН и за счет предоставления из бюджета Республики Татарстан гранта на государственную поддержку научных исследований и разработок в области агропромышленного комплекса бюджетным и автономным учреждениям в 2021 г, договор №40 от 14.12.2021 г.

## Acknowledgments

The team of authors thanks the Minister of Agriculture of the Ministry of Agriculture of the Republic of Tatarstan Zyabbarov Marat Azatovich and the Deputy Minister of Agriculture of the Ministry of Agriculture of the Republic of Tatarstan Garipov Lenar Nailevich for their interest in the research work of the TatNIISH, a separate structural subdivision of the FRC KazSC RAS in the field of molecular genetic studies of cattle.

## Благодарности

Коллектив авторов благодарит министра сельского хозяйства МСХиП РТ Зяббарова Марата Азатовича и заместителя министра сельского хозяйства МСХиП РТ Гарипова Ленара Наилевича за проявленный интерес к научно-исследовательской работе ТатНИИСХ – обособленного структурного подразделения ФИЦ КазНЦ РАН в области молекулярно-генетических исследований крупного рогатого скота.

## Conflict of Interest

None declared.

## Конфликт интересов

Не указан.

## References

1. Carvajal A.M. Single nucleotide polymorphisms in immunity-related genes and their association with mastitis in Chilean dairy cattle / A.M. Carvajal, P. Huircan, A. Lepori // *Genetics and Molecular Research*. – 2013. – Vol. 12 (3). – P. 2702–2711. DOI: 10.4238/2013.July.30.8
2. Сафина Н.Ю. Анализ полиморфизма гена лактоферрина (LTF) в популяциях голштинского скота / Н.Ю. Сафина, Ю.Р. Юльметьева, Ф.Ф. Зиннатова и др. // *Ветеринария, зоотехния и биотехнология*. – 2019. – № 2. – С. 88–94. DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.201902014
3. Сафина, Н.Ю. Полиморфизм гена манноза-связывающего лектина 1 (MBL1) в популяции голштинского скота Республики Татарстан / Н.Ю. Сафина, Ф.Ф. Зиннатова, Ф.Ф. Шакиров и др. // *Аграрный научный журнал*. – 2021. – № 9. – С. 71–74. DOI: 10.28983/asj.y2021i9pp71-74
4. Wang X. Genetic Polymorphism of TLR4 Gene and Correlation with Mastitis in Cattle / X. Wang, Sh. Xu, X. Gao et al. // *Journal of Genetics and Genomics*. – 2007. – Vol. 34(5). – P. 406–412.
5. Beecher Ch. Polymorphisms in bovine immune genes and their associations with somatic cell count and milk production in dairy cattle / Ch. Beecher, M. Daly, S. Childs et al. // *BMC Genetics*. – 2010. – No 11:99. DOI:10.1186/1471-2156-11-99
6. Sharma B.S. Association of Toll-Like Receptor 4 Polymorphisms with Somatic Cell Score and Lactation Persistency in Holstein Bulls / B.S. Sharma, I. Leyva, F. Schenkel et al. // *J. Dairy Sci.* – 2006. – Vol. 89. – P. 3626–3635.
7. Girish H. TLR4 Gene Polymorphism and its Association with Mastitis Resistance in Indigenous and Crossbred Cattle of Tamil Nadu, India / H. Girish, S.N. Sivaselvam, S.M.K. Karthickeyan et al. // *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*. – 2016. – Vol. 3(1). – P. 32–35. DOI: 10.15406/jdvar.2016.03.00069
8. Moura E.O. Evaluation of microbiological, cellular and risk factors associated with subclinical mastitis in female buffaloes / E.O. Moura, A.H.N. Rangel, M.C.N. Melo et al. // *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. – 2017. – Vol. 30. – P. 1340–1349.
9. El-Khodery S.A. Acute coliform mastitis in buffaloes (*Bubalus bubalis*): clinical findings and treatment outcomes / S.A. El-Khodery, S.A. Osman // *Tropical Animal Health and Production*. – 2008. – Vol. 40. – P. 93–99.
10. Reyher K.K. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—a systematic review and meta-analysis / K.K. Reyher, D. Haine, I.R. Dohoo et al // *Journal of Dairy Science*. – 2012. – No 95. – P. 6483–6502.
11. Schepper St.De. The toll-like receptor-4 (TLR-4) pathway and its possible role in the pathogenesis of *Escherichia coli* mastitis in dairy cattle / St.De. Schepper, A.De. Ketelaere, D.D. Bannerman et al. // *Vet. Res.* – 2008. – Vol. 39. – P. 05. DOI: 10.1051/vetres:2007044
12. White S.N. Haplotype variation in bovine Toll-like receptor 4 and computational prediction of a positively selected ligand-binding domain / S.N. White, K.H. Taylor, C.A. Abbey et al. // *Genetics*. – 2003. – Vol. 100(18) DOI: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073.pnas.1333957100
13. El-Domany W.B. Genetic polymorphisms in LTF/EcoR I and TLR4/Alu I loci as candidates for milk and reproductive performance assessment in Holstein cattle / W.B. El-Domany, H.A. Radwan, A.I. Ateya et al. // *Reprod Domest Anim.* – 2019. – Vol. 54(4). – P. 678–686. DOI: 10.1111/rda.13408
14. Zhou H. Variation in the Toll-like Receptor 4 (TLR4) gene affects milk traits in dairy cows / H. Zhou, L. Cheng, H. Gong et al. // *Journal of Dairy Research*. – 2017. – Vol. 84. – P. 426–429. DOI:10.1017/S0022029917000711
15. Noori R. Association of polymorphism in Exon 3 of toll-like receptor 4 gene with somatic cell score and milk production traits in Holstein dairy cows of Iran / R. Noori, A.H. Mahdavi, M.A. Edriss et al. // *South African Journal of Animal Science*. – 2013. – Vol 43 (No 4). – 493–498. DOI: http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v43i4.6
16. Mišeikienė R. The influence of TLR4 gene polymorphisms on milk quality and composition of Lithuanian Holstein cows / R. Mišeikienė, A. Švedaitė, R. Bižienė et al. // *Mljekarstvo*. – 2020. – No 70 (2). – P. 112–119 DOI: 10.15567/mljekarstvo.2020.0205
17. Wang M. Toll-like receptor 4 gene polymorphisms influence milk production traits in Chinese Holstein cows / M. Wang, H. Song, X. Zhu et al. // *Journal of Dairy Research*. – 2018. – Vol. 85 (4). – P. 1–5. DOI:10.1017/S0022029918000535
18. Roldan-Montes V. Polymorphisms in TLR4 Gene Associated With Somatic Cell Score in Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*) / V. Roldan-Montes, D.F. Cardoso, N.A. Hurtado-Lugo et al. // *Front. Vet. Sci.* – 2020. – No 7:568249. DOI: 10.3389/fvets.2020.568249

### References in English

1. Carvajal A.M. Single nucleotide polymorphisms in immunity-related genes and their association with mastitis in Chilean dairy cattle / A.M. Carvajal, P. Huircan, A. Lepori // *Genetics and Molecular Research*. – 2013. – Vol. 12 (3). – P. 2702–2711. DOI: 10.4238/2013.July.30.8
2. Safina N.Yu. Analiz polimorfizma gena laktoferrina (LTF) v populyaciyah golshtinskogo skota [Analysis of polymorphism lactoferrin gene (LTF) in the holstein cattle population] / N.Yu. Safina, Yu.R. Yulmeteva, F.F. Zinnatova et al. // *Veterinariya, Zootekhnika i Biotekhnologiya* [Veterinary, Animal Science and Biotechnology]. – 2019. – No 2. – P. 88–94. DOI: 10.26155/vet.zoo.bio.201902014 [in Russian]
3. Safina N.Yu. Polimorfizm gena mannoza–svyazyvayushchego lektina 1 (MBL1) v populyacii golshtinskogo skota Respubliki Tatarstan [Polymorphism of MBL1 gene in Holstein cattle of Republic of Tatarstan] / N.Yu. Safina, F.F. Zinnatova, Sh.K. Shakirov et al. // *Agrarnyj nauchnyj zhurnal* [Agrarian Scientific Journal]. – 2021. – No 9. – P. 71–74. DOI: 10.28983/asj.y2021i9pp71–74 [in Russian]
4. Wang X. Genetic Polymorphism of TLR4 Gene and Correlation with Mastitis in Cattle / X. Wang, Sh. Xu, X. Gao et al. // *Journal of Genetics and Genomics*. – 2007. – Vol. 34(5). – P. 406–412.
5. Beecher Ch. Polymorphisms in bovine immune genes and their associations with somatic cell count and milk production in dairy cattle / Ch. Beecher, M. Daly, S. Childs et al. // *BMC Genetics*. – 2010. – No 11:99. DOI:10.1186/1471–2156–11–99
6. Sharma B.S. Association of Toll–Like Receptor 4 Polymorphisms with Somatic Cell Score and Lactation Persistency in Holstein Bulls / B.S. Sharma, I. Leyva, F. Schenkel et al. // *J. Dairy Sci.* – 2006. – Vol. 89. – P. 3626–3635.
7. Girish H. TLR4 Gene Polymorphism and its Association with Mastitis Resistance in Indigenous and Crossbred Cattle of Tamil Nadu, India / H. Girish, S.N. Sivaselvam, S.M.K. Karthickeyan et al. // *Journal of Dairy, Veterinary & Animal Research*. – 2016. – Vol. 3(1). – P. 32–35. DOI: 10.15406/jdvar.2016.03.00069
8. Moura E.O. Evaluation of microbiological, cellular and risk factors associated with subclinical mastitis in female buffaloes / E.O. Moura, A.H.N. Rangel, M.C.N. Melo et al. // *Asian–Australasian Journal of Animal Sciences*. – 2017. – Vol. 30. – P. 1340–1349.
9. El–Khodery S.A. Acute coliform mastitis in buffaloes (*Bubalus bubalis*): clinical findings and treatment outcomes / S.A. El–Khodery, S.A. Osman // *Tropical Animal Health and Production*. – 2008. – Vol. 40. – P. 93–99.
10. Reyher K.K. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—a systematic review and meta-analysis / K.K. Reyher, D. Haine, I.R. Dohoo et al // *Journal of Dairy Science*. – 2012. – No 95. – P. 6483–6502.
11. Schepper St.De. The toll–like receptor–4 (TLR–4) pathway and its possible role in the pathogenesis of *Escherichia coli* mastitis in dairy cattle / St.De. Schepper, A.De. Ketelaere, D.D. Bannerman et al. // *Vet. Res.* – 2008. – Vol. 39. – P. 05. DOI: 10.1051/vetres:2007044
12. White S.N. Haplotype variation in bovine Toll–like receptor 4 and computational prediction of a positively selected ligand–binding domain / S.N. White, K.H. Taylor, C.A. Abbey et al. // *Genetics*. – 2003. – Vol. 100(18) DOI: www.pnas.org/cgi/doi/10.1073.pnas.1333957100
13. El–Domany W.B. Genetic polymorphisms in LTF/EcoR I and TLR4/Alu I loci as candidates for milk and reproductive performance assessment in Holstein cattle / W.B. El–Domany, H.A. Radwan, A.I. Ateya et al. // *Reprod Domest Anim.* – 2019. – Vol. 54(4). – P. 678–686. DOI: 10.1111/rda.13408
14. Zhou H. Variation in the Toll–like Receptor 4 (TLR4) gene affects milk traits in dairy cows / H. Zhou, L. Cheng, H. Gong et al. // *Journal of Dairy Research*. – 2017. – Vol. 84. – P. 426–429. DOI:10.1017/S0022029917000711
15. Noori R. Association of polymorphism in Exon 3 of toll–like receptor 4 gene with somatic cell score and milk production traits in Holstein dairy cows of Iran / R. Noori, A.H. Mahdavi, M.A. Edriss et al. // *South African Journal of Animal Science*. – 2013. – Vol 43 (No 4). – 493–498. DOI: http://dx.doi.org/10.4314/sajas.v43i4.6
16. Mišeikienė R. The influence of TLR4 gene polymorphisms on milk quality and composition of Lithuanian Holstein cows / R. Mišeikienė, A. Švedaitė, R. Bižienė et al. // *Mljekarstvo*. – 2020. – No 70 (2). – P. 112–119 DOI: 10.15567/mljekarstvo.2020.0205
17. Wang M. Toll–like receptor 4 gene polymorphisms influence milk production traits in Chinese Holstein cows / M. Wang, H. Song, X. Zhu et al. // *Journal of Dairy Research*. – 2018. – Vol. 85 (4). – P. 1–5. DOI:10.1017/S0022029918000535
18. Roldan–Montes V. Polymorphisms in TLR4 Gene Associated With Somatic Cell Score in Water Buffaloes (*Bubalus bubalis*) / V. Roldan–Montes, D.F. Cardoso, N.A. Hurtado–Lugo et al. // *Front. Vet. Sci.* – 2020. – No 7:568249. DOI: 10.3389/fvets.2020.568249