

МРНТИ 68.41.49

УДК 636.22/.28:575.17

<https://doi.org/10.52269/SKVC2621047>

О РЕЗУЛЬТАТАХ ГЕНОТИПИРОВАНИЯ КОРОВ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ ПО ЛОКУСУ ГЕНА TLR4/ALU1 И ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА TLR4 НА ВОСПРОИЗВОДИТЕЛЬНУЮ ФУНКЦИЮ

Нурпеисова Р.К.* – магистр ветеринарных наук, докторант, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Республика Казахстан.

Тургумбаев А.А. – PhD доктор, старший преподаватель кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Республика Казахстан.

Иманбаев А.А. – кандидат ветеринарных наук, профессор кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Республика Казахстан.

Усенбеков Е.С. – кандидат биологических наук, профессор кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Республика Казахстан.

Актуальность исследования определяется необходимостью повышения эффективности воспроизводства молочного скота с использованием молекулярно-генетических маркеров, позволяющих прогнозировать фертильность животных. Цель работы – проведение генотипирования коров голштинской породы по локусу гена TLR4/Alu1 и установление взаимосвязи между его аллелями и показателями репродуктивной функции. В задачи входило выделение геномной ДНК, амплификация участка гена TLR4 длиной 382 п.н., рестрикционный анализ с ферментом Alu1. Исследование включало 190 клинически здоровых коров голштинской породы, содержащихся в одинаковых условиях кормления и микроклимата в ТОО «Байсерке-Агро». Генотипирование по локусу гена TLR4/Alu1 выполнено методом PCR-RFLP; распределение генотипов проверено на соответствие равновесию Харди–Вайнберга. Ассоциативный анализ проводили с учётом срока плодотворного осеменения коров после отёла (45–60; 61–90; 91–120; ≥ 121 дней) и индекса невозврата на 58-й день (NRI-58). Выявлены три генотипа: TT – 39,5 %, TC – 43,7 %, CC – 16,8 %; частоты аллелей: T = 0,61, C = 0,39; распределение соответствует HWE ($\chi^2 = 1,97$; $p > 0,05$). В группе 45-60 дней доли TT/TC/CC составили 42/48/10 %, при удлинении сервис-периода (61–90; 91–120 дней), отмечен рост доли CC до 16 – 22 %. По NRI – 58 зарегистрировано: TT – 19 голов, TC – 24 голов, CC – 0 (в сумме 43 из 190). Полученные результаты указывают на благоприятную роль T-аллеля и неблагоприятную – C-аллеля в формировании фертильности. Локус TLR4/Alu1 информативен для оценки репродуктивной функции у голштинов, T-аллель ассоциирован с более ранним плодотворным осеменением и лучшими показателями фертильности, что подтверждает эффективность его использования как селекционного ДНК маркера.

Ключевые слова: SNP полиморфизм гена TLR4, генотипирование коров, репродуктивная функция, ДНК маркеры, индекс невозврата.

ГОЛШТЕИН ТҰҚЫМДАС СИЫРЛАРЫНДА TLR4/ALU1 ГЕН ЛОКУСЫ БОЙЫНША ГЕНОТИПТЕУ ЖҰМЫСТАРЫНЫҢ НӘТИЖЕСІ ЖӘНЕ TLR4 ГЕН АЛЛЕЛДЕРІНІҢ ӨСІП ӨНУ ҚЫЗМЕТІНЕ ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ

Нурпеисова Р.К.* – ветеринария ғылымдарының магистрі, докторант, КЕАҚ «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Тургумбаев А.А. – PhD доктор, «Клиникалық пәндер» кафедрасының аға оқытушысы, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Иманбаев А.А. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Клиникалық пәндер» кафедрасының профессоры, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Усенбеков Е.С. – биология ғылымдарының кандидаты, «Клиникалық пәндер» кафедрасының профессоры, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Зерттеудің өзектілігі – жануарлардың ұрықтандырғыш қасиетін болжауға мүмкіндік беретін молекулярлық-генетикалық маркерлерді пайдалану арқылы сүт бағытындағы сиырлардың көбеюін арттыру қажеттілігімен анықталады. Зерттеудің мақсаты – TLR4/Alu1 генінің локусы бойынша голштеин сиырларын генотиптеу және оның аллельдері мен көбею көрсеткіштері арасындағы өзара байланысты анықтау. Геномдық ДНК бөліп алу, ұзындығы 382 жұп негіз фрагментін амплификациялау және Alu1 ферментімен рестрикциялық талдау жүргізу. Зерттеу жұмысы Алматы облысындағы

«Байсерке-Агро» ЖШС шаруашылығындағы 190 бас – клиникалық сау голштин тұқымдас сиырлары зерттелді, олардың азықтануы мен микроклимат жағдайы бірдей жағдайда болуын қадағаланды. TLR4/AluI бойынша генотиптеу PCR-RFLP әдісімен жүргізілді; генотиптердің таралуы Харди–Вайнберг тепе-теңдігіне (Gene-Cal) сәйкестігі бойынша тексерілді. Ассоциативтік талдау сиырлардың бұзаулағаннан кейінгі кезеңнен кейінгі ұрықтандыру уақыты (45–60; 61–90; 91–120; ≥121 күн) және 58-күнгі қайтып келмеу индексіне (NRI-58) негізделді. Нәтижесінде – үш генотип анықталды: TT – 39,5 %, TC – 43,7 %, CC – 16,8 %; аллель жиіліктері: T = 0,61, C = 0,39; үлестірім Харди – Вайнберг тепе-теңдігіне сай ($\chi^2 = 1,97$; $p > 0,05$). 45–60 күндік топта TT/TC/CC үлестері 42/48/10 % болды; сервис-период ұзарған сайын (61–90; 91–120 күн) CC үлесі 16 – 22 % дейін артты. NRI-58 бойынша: TT – 19 бас, TC – 24 бас, CC – 0 (барлығы 43 бас). Мәліметтер T аллелінің ұрықтандырғыштық қасиетіне қолайлы, ал C аллелінің кері әсер ететінін көрсетеді. TLR4/AluI локусы голштин сиырларының көбею функциясын бағалауда ақпаратты мәлімет болып табылады; T аллелі ерте ұрықтанумен және жоғары фертильділікпен байланысты, TLR4/ALUI селекциядық ДНҚ маркер ретінде қолдануға болады.

Түйінді сөздер: TLR4 генінің SNP полиморфизмі, сиырларды генотиптеу, репродуктивтік қызмет, ДНҚ маркерлері, қайтып келмеу индексі.

RESULTS OF GENOTYPING OF HOLSTEIN COWS BY THE TLR4/ALUI GENE LOCUS AND STUDYING THE INFLUENCE OF TLR4 GENE ALLELES ON REPRODUCTIVE FUNCTION

Nurpeissova R.K.* – Master of Veterinary Sciences, PhD student, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Turgumbekov A.A. – PhD, Senior Lecturer of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Imanbayev A.A. – Candidate of Veterinary Sciences, Professor of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan.

Ussenbekov Ye.S. – Candidate of Biological Sciences, Professor of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Almaty, Republic of Kazakhstan.

The relevance of this study is determined by the need to improve the efficiency of dairy cattle reproduction using molecular genetic markers that can predict animal fertility. The aim of the study was to genotype Holstein cows for the TLR4/AluI gene locus and establish the relationship between its alleles and reproductive function indicators. The objectives included isolating genomic DNA, amplifying a 382-bp TLR4 gene region, and performing restriction analysis with the AluI enzyme. The study included 190 clinically healthy Holstein cows maintained under identical feeding and microclimate conditions at Baiserke-Agro LLP. TLR4/AluI genotyping was performed using PCR-RFLP; the genotype distribution was tested for compliance with Hardy-Weinberg equilibrium. Association analysis was performed taking into account the period of fruitful insemination of cows after calving (45–60; 61–90; 91–120; ≥121 days) and the non-return rate on day 58 (NRI-58). Three genotypes were identified: TT – 39.5%, TC – 43.7%, CC – 16.8%; allele frequencies: T = 0.61, C = 0.39; the distribution corresponds to HWE ($\chi^2 = 1.97$; $p > 0.05$). In the 45–60-day group, the TT/TC/CC shares were 42/48/10%, with an increase in the open period (61–90; 91–120 days) an increase in the CC share to 16–22% was noted. According to NRI, 58 animals were registered: TT – 19 heads, TC – 24 heads, CC – 0 (a total of 43 out of 190). The data indicate a favorable role for the T allele and an unfavorable role for the C allele in determining fertility. The TLR4/AluI locus is informative for assessing reproductive function in Holsteins; the T allele is associated with earlier fruitful insemination and better fertility indicators, supporting its use as a selection DNA marker.

Keywords: SNP polymorphism of TLR4 gene, genotyping of cows, reproductive function, DNA markers, non-return rate.

Введение. Послеродовые бактериальные воспаления у молочных коров нарушают функции репродуктивных органов и снижают фертильность. Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) гена TLR4 связаны с репродуктивными показателями (число осеменений и длительность открытого периода) и активностью иммунных клеток. Таким образом, полиморфизмы гена TLR4 влияют как на иммунную реакцию, так и на репродуктивную способность коров, что делает их перспективным генетическим маркером для отбора животных с высоким репродуктивным потенциалом [1, с. 212]. Полиморфизмы в локусах генов LTF/EcoRI и TLR4/AluI достоверно влияют на молочную и репродуктивную продуктивность коров голштинской породы. Исследованием установлена значимая связь ($p \leq 0.05$) между генотипами LTF и показателями молочной продуктивности: суточным удоем, удоем за 305 дней и продолжительностью сухостойного периода, за исключением длительности лактации. Генотипы TLR4 оказали статистически значимое влияние ($p \leq 0.05$) на ключевые репродуктивные показатели: возраст первого отела, интервал между отелами, количество осеменений на одно зачатие, восстановление функции яичников, что подтверждает их важную роль в формировании репродуктивного потенциала животных. Установлено, что сочетание генотипов LTF и TLR4 может использоваться для прогнозирования репродуктивных показателей и отбора животных с высокой продуктивностью [2, с. 678]. При заражении бактериальной флорой, врожденная иммунная система первой распознаёт их паттерны, ассоциированные с

патогенами (PAMPs), с помощью рецепторов распознавания образцов (PRRs). Среди них особое место занимают Toll-подобные рецепторы (TLRs) – трансмембранные. После связывания с лигандом TLR-рецепторы инициируют каскад сигнальных событий, способствующих экспрессии воспалительных цитокинов, интерферонов I типа и хемокинов, тем самым играя ключевую роль в модуляции врождённого и адаптивного иммунитета. Особый интерес представляет специфичность TLR-рецепторов в распознавании консервативных микробных компонентов: липопротеинов, липополисахаридов, жгутиковых белков, эндосомальных нуклеиновых кислот и других биологически активных метаболитов микробного происхождения. Эти взаимодействия позволяют лучше понять иммуномодулирующее действие TLR-рецепторов, изменения сигнальных путей в ходе инфекционного процесса, а также формируют новые подходы к разработке терапевтических стратегий против микробных инфекций [3, с. 5341].

Доказано, что взаимодействие сперматозоидов с эндометриальными эпителиальными клетками матки, активирует врождённый иммунный ответ через сигнальный путь TLR2/4, сопровождающийся повышением экспрессии воспалительных цитокинов TNFA, IL-1B, IL-8, PGES и активацией каскадов p38MAPK и JNK. TLR2/4 устраняет этот эффект, что подтверждает их ключевую роль в регуляции воспаления в репродуктивных органах [4, e0214516]. Исследование полиморфизма гена TLR4 у голштинских коров, адаптированных к условиям Индонезии, выявило три генотипа (CC, CT, TT) при рестрикционном анализе AluI. Популяция находилась в равновесии Харди–Вайнберга, преобладал гетерозиготный генотип CT. Установлено достоверное влияние полиморфизма TLR4|AluI на репродуктивную способность коров. Таким образом, данный локус может рассматриваться как потенциальный генетический маркер репродуктивной продуктивности у коров голштинской породы [5, с. 175]. У симментальских коров выявлены полиморфизмы генов TLR4 и TLR5, ассоциированные с репродуктивными параметрами. Наиболее значимые варианты TLR4 (g.610C>T, g.10310T>G, g.9422T>C) коррелировали с лёгкостью отёла, кистозом яичников и продуктивным долголетием. Отдельные SNP TLR5 связаны с частотой кист и показателями молочной продуктивности, что подчеркивает роль этих генов в регуляции воспроизводства и здоровья вымени у коров [6, с. 1]. Toll-подобные рецепторы (TLRs) играют ключевую роль в иммунном ответе против бактерий, вирусов, паразитов и грибов, участвуя как во врождённом, так и в адаптивном иммунитете. У крупного рогатого скота идентифицировано десять функциональных рецепторов (TLR1-TLR10), каждый из которых распознаёт специфические паттерны патогенов. Полиморфизмы TLR-генов рассматриваются как перспективные маркеры для селекции животных с повышенной устойчивостью и раннего скрининга риска заболеваний, что открывает новые возможности для молочного скотоводства [7, с. 425]. Воздействие липополисахарида (LPS) – основного лиганда TLR4 – на эндометриальные эпителиальные клетки коров (bEEC) вызывает активацию воспалительных сигнальных путей и нарушает экспрессию генов, участвующих во взаимодействии эмбриона и матки. По данным RNA-seq, под действием LPS изменялась транскрипция более 2000 генов, включая усиление экспрессии цитокинов и интерферон-зависимых генов, а также снижение экспрессии кадгерина, ответственных за клеточную адгезию. Эти изменения отражают TLR4-опосредованную иммунную активацию и могут быть связаны с нарушением функций эндометрия и снижением фертильности у крупного рогатого скота [8, с. e0222081].

Развитие эндометрита у коров связано с массивной бактериальной инвазией в послеродовом периоде, преимущественно грамотрицательными микроорганизмами. Их липополисахариды активируют клеточные рецепторы, прежде всего Toll-подобные рецепторы (TLRs) и NOD-рецепторы (NLRs), запускающие сигнальные пути MAPK и NF-κB, что приводит к экспрессии провоспалительных цитокинов. Эти каскады формируют основу молекулярного патогенеза эндометрита [9, с. 1516]. Ученые исследовали у коров породы Czech Fleckvieh ассоциации генов LEP, TLR4 и CXCR1 с репродуктивными показателями. Методом PCR-RFLP выявлено, что гетерозиготы по TLR4 с.-226C>G характеризуются укороченным интервалом между отёлами и тенденцией к повышению оплодотворяемости. Полиморфизмы LEP значительно влияли на возраст первого отёла и продолжительность сервис-периода, тогда как CXCR1 с.777C>G не показал связи с фертильностью [10, с. 1]. Сравнительный анализ генов TLR2, TLR4 и TLR6 у коров анатолийских и голштинских пород методом секвенирования нового поколения показал более высокое генетическое разнообразие у местных пород по сравнению с голштинской. Наибольшее количество вариаций обнаружено в TLR4 и TLR6, что предполагает их участие в формировании естественной устойчивости анатолийских пород к бактериальным инфекциям. Эти результаты подтверждают значимость TLR-генов как потенциальных маркеров устойчивости к заболеваниям у крупного рогатого скота [11, с. 23]. Изучение генетических факторов, влияющих на воспроизводительную способность крупного рогатого скота, имеет важное значение для повышения эффективности молочного животноводства. Одним из перспективных генов-кандидатов является ген эстрогенного рецептора (ERα), участвующий в регуляции овуляции, имплантации и поддержании беременности. Проведено генотипирование коров голштинской породы ТОО «Байсерке-Агро» по локусу ERα/BGLI SNP. Установлено преобладание гомозиготного генотипа GG (71,6%), тогда как генотипы AG и AA встречались с частотой 22,5% и 5,9% соответственно. Отмечено, что животные с гетерозиготным генотипом AG характеризовались лучшими показателями репродуктивной функции, включая более высокий индекс невозврата на 58-й день после осеменения. Таким образом, ERα/BGLI SNP полиморфизм может рассматриваться в качестве маркера отбора коров с повышенной фертильностью. [12, с.47]. Ген GDF9 (Growth Differentiation Factor 9) играет ключевую роль в регуляции роста и созревания фолликулов, а его полиморфизмы

могут влиять на воспроизводительную функцию коров. Проведённое генотипирование 120 коров голштинской породы методом ПЦР показало наличие трёх генетических вариантов: АА, АТ и ТТ. Анализ воспроизводительных показателей показал, что коровы с АА генотипом осеменялись плодотворно в более ранние сроки после отёла (45–90 дней), что указывает на возможное ассоциативное влияние гена GDF9 на фертильность [13, с.121]. Субклинический эндометрит является одной из наиболее распространенных и скрытых форм воспалительных заболеваний эндометрия у коров голштино-фризской породы, приводящих к снижению фертильности и экономическим потерям в молочном скотоводстве. Установлено, что 60-70% коров с субклиническим эндометритом остаются бесплодными, а частота его проявления возрастает в зимне-весенний период. Основной предпосылкой развития патологии является снижение иммунного статуса организма в послеродовой период, способствующее появлению воспалительных процессов [14, с. 49].

Генетические исследования последних лет показывают, что устойчивость к маститу может быть обусловлена полиморфизмом генов, регулирующих врождённый иммунный ответ и репаративные процессы молочной железы. В связи с этим проведено генотипирование коров голштинской породы племенного хозяйства ТОО «Амиран» по локусам генов TLR6 и BRCA1, ассоциированных с резистентностью к маститам. Установлено, что по локусу TLR6 наблюдается низкий уровень полиморфизма и преобладание гомозиготного генотипа ТТ, тогда как по локусу BRCA1 выявлено высокое генетическое разнообразие. Коровы с гомозиготными генотипами АА и ВВ по локусу BRCA1 проявляли повышенную устойчивость к клиническим и субклиническим формам мастита, что позволяет рассматривать SNP G22231T полиморфизм BRCA1 в качестве перспективного ДНК-маркера резистентности к маститам у голштинских коров [15, с. 69]. Одной из наиболее частых причин снижения фертильности является эндометрит, вызывающий удлинение сервис-периода, увеличение количества осеменений и рецидивов бесплодия. Это подтверждает необходимость ранней диагностики и профилактики воспалительных заболеваний матки у высокопродуктивных коров, а также обосновывает актуальность использования молекулярно-генетических подходов для оценки репродуктивного статуса животных [16, с. 284].

Эндометрит является одним из наиболее распространённых репродуктивных заболеваний у коров в хозяйствах Казахстана и существенно влияет на показатели воспроизводства. Основными возбудителями выступают *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, обладающие высокой патогенностью и антибиотикорезистентностью, что затрудняет терапию и способствует затягиванию воспалительного процесса. Использование ПЦР-диагностики для идентификации генетических детерминант патогенных микроорганизмов повышает точность диагностики и позволяет рационально подбирать терапию. Полученные данные подтверждают необходимость комплексного подхода к лечению и профилактике воспалительных заболеваний репродуктивных органов, а также изучения генетических факторов, влияющих на устойчивость и фертильность животных [17, с. 76]. Гипофункция яичников у коров является одной из распространённых причин снижения воспроизводительной способности и характеризуется морфофункциональными изменениями репродуктивных органов. Выявленные изменения указывают на нарушение координации работы репродуктивных органов и снижение их физиологической активности при гипофункции яичников [18, с. 61].

Цель работы – проведение генотипирования коров голштинской породы ТОО «Байсерке-Агро» по локусу гена TLR4 методом ПЦР-ПДРФ анализа, определение распространенности генетических вариантов у исследуемых животных и изучение ассоциативного влияния его аллелей на репродуктивную функцию.

Задачи исследования: создание экспериментальной группы животных с разными параметрами воспроизводительной функции, сбор биологического материала, экстракция ДНК из образцов, определение качества ДНК, моделирование эксперимента по генотипированию коров, анализ результатов ДНК паспортизации, изучение влияния аллелей гена TLR4 на репродуктивную функцию коров.

Материалы и методы. Работа по генотипированию коров по локусу гена TLR4 проводилась в 2024 году, в опытную группу были включены 190 клинически здоровые коровы голштинской породы, принадлежащих ТОО «Байсерке-Агро» Талгарского района Алматинской области. Коровы находились на 2–4 месяцах лактации со средней молочной продуктивностью 7600–8000 кг. Все животные содержались в идентичных условиях кормления и микроклимата, что позволило минимизировать влияние внешних факторов на результаты исследования. Для изучения ассоциативного влияния аллелей гена TLR4 в исследование были включены коровы голштинской породы, плодотворно осеменённые в различные сроки после отёла. Животные были разделены на четыре экспериментальные группы: через 45–60 дней ($n = 50$), 61–90 дней ($n = 50$), 91–120 дней ($n = 50$) и более 121 дня ($n = 40$) после отёла, в рамках наблюдений, проведенных в течение 2024 календарного года. Генотипирование проведено по локусу гена TLR4/AluI, с последующей идентификацией животных, различающихся по параметрам репродуктивной функции. Для определения теоретического распределения генотипов и расчёта цифрового значения критерия χ^2 в исследуемой популяции использовалась программа Hardy–Weinberg equilibrium [19]. Отбор биоматериала и выделение ДНК: для генотипирования использовали замороженные образцы крови объёмом 2 мл, отобранные из яремной вены в вакуумные пробирки с ЭДТА. Выделение геномной ДНК проводилось в лаборатории кафедры «Клинические дисциплины» и в лаборатории «Зелёной биотехнологии и клеточной инженерии» Казахстанско-Японского инновационного центра Казахского национального аграрного исследовательского университета классическим фенол-

хлороформным методом и с использованием коммерческого набора PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific) согласно инструкции производителя. Алгоритм проведения ДНК-идентификации включал следующие этапы: сбор и идентификация биологического материала; экстракция ДНК и определение её качества; измерение концентрации ДНК; анализ последовательностей гена TLR4 в 3-м экзоне (согласно базе данных NCBI, GenBank: DQ839567/1); амплификация участка гена длиной 382 п.н.; рестрикционный анализ с эндонуклеазой AluI с сайтом узнавания AG↓CT; проведение горизонтального электрофореза и определение генотипов животных. Амплификацию фрагмента гена TLR4 проводили методом ПЦР с использованием специфических праймеров: (F): 5' –AGACAGCATTTCACTCCCTC-3', (R): 5' – ACCACCGACACACTGATGAT-3' [5, с. 175]. Ожидаемая длина амплификата – 382 п.н. Реакционная смесь объемом 25 мкл содержала: 2,5 мкл 10 х ПЦР буфера, 1,5 мкл 25 мМ MgCl₂, 2 мкл смеси четырех dNTP, 1 мкл каждого праймера (10 пмоль/мкл), 0,2 мкл Taq-полимеразы, 3 мкл матричной ДНК и 13,8 мкл воды бидистиллированной. Условия амплификации (35 циклов): первоначальная денатурация – 94 °С 5 мин; денатурация – 94 °С 30 сек; отжиг праймеров – 60 °С 30 сек; элонгация – 72 °С 50 сек, финальная элонгация – 72 °С, 6 мин. Результаты амплификации проверяли с помощью горизонтального электрофореза в 3-4% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием. В качестве молекулярного маркера использовали рUC19|MspI. Наличие чёткой полосы на уровне 382 п.н. свидетельствовало об успешной амплификации целевого фрагмента.

Результаты. Амплификация участка гена TLR4 длиной 382 п.н. с использованием специфических праймеров прошла успешно у всех исследованных животных. При электрофоретическом анализе продуктов ПЦР в 3,0 % агарозном геле наблюдалась чёткая одиночная полоса, соответствующая ожидаемому размеру амплификата. Это подтверждало высокое качество выделенной ДНК и корректность подбора праймеров (рис. 1). Для горизонтального электрофореза использовали 5 мкл амплификата, что дало четкое изображение.

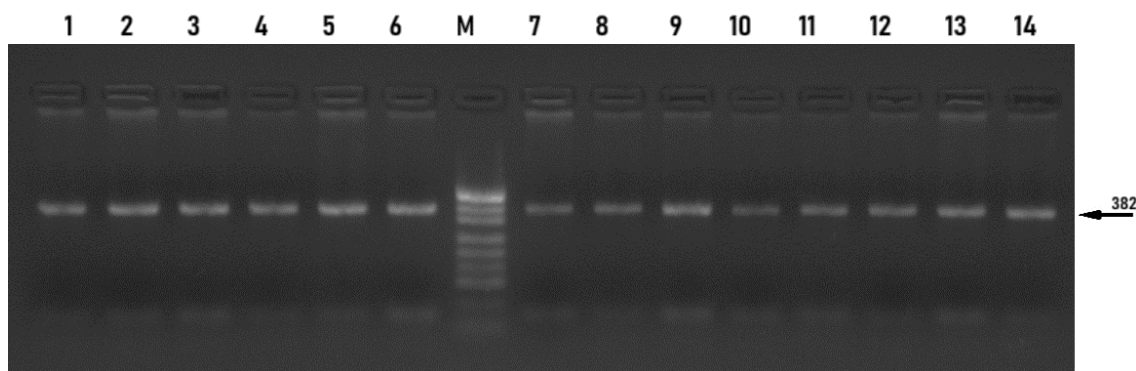


Рисунок 1 – Электрофореграмма амплификата гена TLR4, 3% агароза, лунки 1-6, 7-14 ПЦР продукт размером 382 п.н., М – ДНК маркер рUC19/MspI

Рестрикционный анализ и идентификация генотипов. Полученные амплификаты подвергли рестрикции эндонуклеазой AluI с сайтом узнавания AG↓CT. В результате электрофоретического анализа продуктов рестрикции фрагмента гена TLR4, амплифицированного методом ПЦР и обработанного эндонуклеазой AluI, были выявлены три генотипа: ТТ, ТС, СС. На электрофореграмме у особей с гомозиготным ТТ генотипом были обнаружены фрагменты: 142 п.н., 118 п.н., 77 п.н. (лунки 1-3, 5, 7, 8, 11, 13), у коров с гетерозиготным ТС генотипом фрагменты: 260 п.н., 142 п.н., 118 п.н. и 77 п.н. (лунки 4, 6, 9), у особей с гомозиготным СС генотипом – 260 п.н. и 77 п.н., (лунки 10, 12, 14). (рис 2).

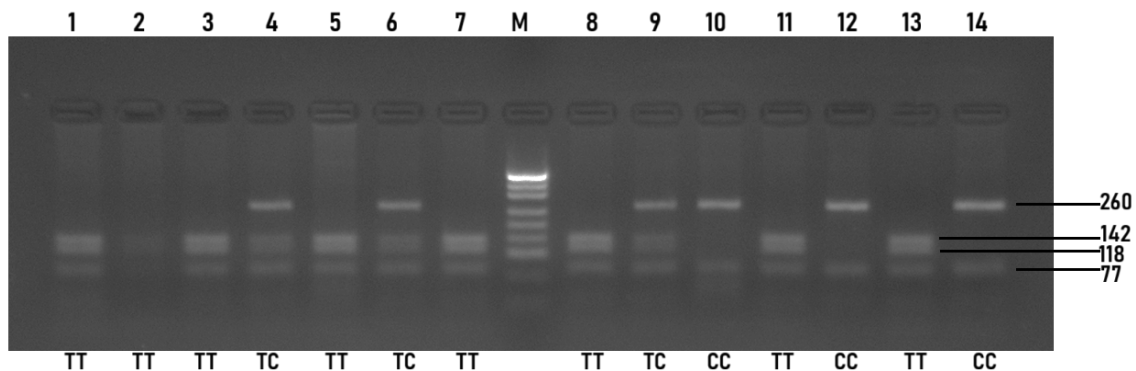


Рисунок 2 – Результаты рестрикционного PCR–RFLP анализа фрагмента гена TLR4 с ферментом AluI, М – ДНК маркер рUC19/MspI

В результате генотипирования 190 коров голштинской породы (табл 1) по локусу TLR4/AluI выявлены три генотипа: ТТ – 75 голов (39,5 %), ТС – 83 (43,7 %), СС – 32 (16,8 %). В исследуемой популяции преобладали особи с гетерозиготным генотипом (ТС), частоты аллелей составили: Т – 0,61, С – 0,39. Для анализа связи генотипа с репродуктивными показателями животные были разделены на четыре экспериментальные группы в зависимости от срока плодотворного осеменения после отела: через 45-60 дней (n = 50), 61-90 дней (n = 50), 91-120 дней (n = 50) и более 121 дня (n = 40). В группе коров, плодотворно осемененных через 45-60 дней, доля генотипов составила: ТТ – 42 %, ТС – 48 %, СС – 10 %. В период 61-90 дней отмечено увеличение доли СС до 16 %, а в 91-120 дней – до 22 %. Подобная тенденция отражает влияние аллеля С на удлинение сервис-периода.

Таблица 1 – Распределение генотипов коров по локусу гена TLR4/AluI с различными сроками плодотворного осеменения

Коровы голштинской породы с разными показателями репродуктивной функции	Частота аллелей		Распределение генотипа по локусу TLR4/AluI						
	Т	С	ТТ		ТС		СС		X2
			n	%	n	%	n	%	
Осеменение 45-60 дней (n= 50)	0,66	0,34	21	42	24	48	5	10	
Осеменение 61–90 дней (n= 50)	0,62	0,38	20	40	22	44	8	16	
Осеменение 91–120 дней (n= 50)	0,57	0,43	18	36	21	42	11	22	
Более 121 дней (n= 40)	0,60	0,40	16	40	16	40	8	20	
Фактическое распределение генотипа	0,67	0,33	75	39,5	83	43,7	32	16,8	
Теоретическое распределение генотипа (HW)			71,43		90,13		28,43		1.19
Отклонение от теоретического распределения			+3,57		-7,13		+3,57		
Доля коров с индексом не возврата на 58 день после осеменения (n=190)			19 (10,0%)		24 (12,6%)		0		

Наблюдаемая высокая доля гетерозигот (ТС) указывает на умеренный уровень генетического полиморфизма по локусу TLR4/AluI в исследуемой популяции. Анализ показал, что у животных с генотипом ТТ и ТС наблюдался более короткий сервис-период и более высокий индекс невозврата после искусственного осеменения (10,0%), у гетерозиготных коров ТС (12,6%) [20, с. 187], что свидетельствует о лучшей фертильности, а коровы с генотипом СС характеризовались удлинённым сервис-периодом и отсутствием невозвратов (0%), что указывает на возможную ассоциацию С-аллеля с пониженной репродуктивной способностью. Таким образом, проведённый рестрикционный анализ локуса TLR4/AluI у коров голштинской породы позволил выявить три генотипа (ТТ, ТС, СС) с преобладанием гетерозигот ТС. Полученные данные свидетельствуют о ассоциации аллеля Т с повышенной фертильностью и сокращением интервала между отёлом и плодотворным осеменением, что делает данный локус перспективным генетическим маркером для селекции по репродуктивным признакам.

Обсуждение. Проведена ДНК паспортизация племенных высокопродуктивных коров голштинской породы по локусу TLR4/AluI и у исследуемых животных были выявлены все три генетические варианты генотипа: гомозиготный ТТ генотип, гетерозиготный ТС генотип и гомозиготный и СС генотип, при этом преобладали гетерозиготные особи (ТС – 43,7%). Подобное распределение генотипов и частот аллелей (Т = 0,61; С = 0,39) соответствует равновесию Харди-Вайнберга ($\chi^2 = 1,19$; $p > 0,05$), что указывает на стабильное состояние популяции и отсутствие направленного отбора по данному локусу. Результаты исследования показали, что с увеличением срока плодотворного осеменения после отела наблюдалось постепенное снижение доли аллеля Т и увеличение аллеля С. В частности, в группе коров, осемененных в ранние сроки (45 – 60 дней), преобладал генотип ТТ (42%), тогда как при удлинении сервис-периода (91-120 дней и более 121 дня) увеличивалась частота СС-генотипа до 20-22%. Эти данные свидетельствуют о возможной ассоциации аллеля С с удлинённым интервалом между отёлом и осеменением и сниженной фертильностью животных. Показатель индекса не возврата

на 58 день (NRI – 58), использованный как критерий фертильности, также имел зависимость от генотипа животных. У животных с генотипами ТТ и ТС индекс не возврата составил соответственно 10,0% и 12,6%, тогда как у коров с генотипом СС не наблюдалось случаев не возврата (0%). Это подтверждает связь Т-аллеля с повышенной вероятностью успешного оплодотворения и укорочением сервис-периода. Следует отметить, что анализ полиморфизма TLR4/AluI у казахстанской популяции коров голштинской породы показывает локус гена TLR4/AluI может служить информативным генетическим маркером при оценке воспроизводительной функции у коров. Аллель Т ассоциируется с благоприятными репродуктивными признаками и может быть рекомендован для дальнейшего отбора животных с высокой фертильностью и устойчивостью к воспалительным заболеваниям репродуктивной системы.

Закключение. Прогнозирование репродуктивной способности коров является актуальной проблемой селекционной работы на молочных фермах, отбор животных с желательным генотипом позволяет повысить репродуктивную и молочную продуктивность стада. Изученный локус гена TLR4/AluI у коров голштинской породы ТОО «Байсерке-Агро» оказался полиморфным, у исследуемой популяции выявлен высокий уровень генетического разнообразия, что является желательным процессом. В группе животных, где более высокие показатели воспроизводительной функции (Осеменение 45-60 дней (n= 50), Осеменение 61–90 дней (n= 50)) преобладали коровы с генотипом ТТ (42%), ТС (48%), (I группа) и с генотипом ТТ (40%), ТС (44%), (II группа). У коров с низкими показателями репродуктивной функции, наоборот, наблюдается увеличение доли коров с генотипом СС и данный факт подтверждает наличие корреляционной связи между генотипами животных с параметрами воспроизводительной функции у коров. Считаем, что использование данного локуса в селекционно-племенной работе может повысить эффективность отбора животных с оптимальными репродуктивными показателями и улучшить экономическую эффективность.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Shimizu T. **Effect of Single Nucleotide Polymorphisms of Toll-Like Receptor 4 (TLR4) on Reproductive Performance and Immune Function in Dairy Cows** [Text] / T. Shimizu, Y. Kawasaki, Y. Aoki, F. Magata, Ch. Kawashima, A. Miyamoto // *Biochem Genet.* – 2017. – Vol. 55(3). – P. 212–222.
2. El-Domany W.B. **Genetic Polymorphisms in LTF/EcoRI and TLR4/AluI loci as candidates for milk and reproductive performance assessment in Holstein cattle** [Text] / W. B. El-Domany, H. A Radwan, A. I. Ateya, H. H. Ramadan, B. H Marghani, Sh. M. Nasr // *Reprod Domest Anim.* – 2019. Vol.54(4). – P. 678-686.
3. Xia P. **Research progress on Toll-like receptor signal transduction and its roles in antimicrobial immune responses** [Text] / P. Xia, Y. Wu, S. Lian, L. Yan, X. Meng, Q. Duan, G. Zhu // *Appl Microbiol Biotechnol.* – 2021, Vol.105(13): 5341-5355.
4. Ezz M.A. **TLR2/4 signaling pathway mediates sperm-induced inflammation in bovine endometrial epithelial cells in vitro** [Text] / M. A. Ezz, M. A. Marey, A. E. Elweza, T. Kawai, M. Heppelmann, Ch. Pfarrer, A. Z. Balboula, A. Montaser, K. Imakawa, S. M. Zaabel, M. Shimada, A. Miyamoto // *PLoS One.* – 2019, Vol.14(4): e0214516.
5. Sutopo. **Toll-Like Receptor 4 Gene Diversity, Its Potential as a Molecular Marker in Indonesian Dairy Cattle** [Text] / Sutopo, Y.W. Setyorini, E. Kurnianto, Sutyono, D. A. Lestari, A. Setiaji // *Journal of Human University (Natural Sciences).* – 2023, Vol. 50(10): 175–183.
6. Novák K. **Association of Variants in Innate Immune Genes TLR4 and TLR5 with Reproductive and Milk Production Traits in Czech Simmental Cattle** [Text] / K. Novák., T. Valčíková, K. Samaké, M. Bjelka // *Genes.* – 2024, Vol. 15(1): 1-24.
7. Maurić-Maljković M. **Prospects of Toll-Like Receptors in Dairy Cattle Breeding** [Text] / M. Maurić-Maljković, I. Vlahek, A. Piplica, A. Ekert Kabalin, V. Sušić, V. Stevanović // *Anim Genet.* – 2023, 54(4): 425–434.
8. Guo Y. **Differential gene expression in bovine endometrial epithelial cells after challenge with LPS; specific implications for genes involved in embryo maternal interactions** [Text] / Y. Guo, T. van Schaik, N. Jhamat, A. Niazi, M. Chanrot, G. Charpigny, J.F. Valarcher, E. Bongcam-Rudloff, G. Andersson, P. Humblot // *PLoS One.* – 2019, Vol. 14 (9): e0222081.
9. Oladejo A.O. **Modulation of bovine endometrial cell receptors and signaling pathways as a nanotherapeutic exploration against dairy cow postpartum endometritis** [Text] A.O. Oladejo, Y. Li, X. Wu, B.H. Imam, J. Yang, X. Ma, Z. Yan, S. Wang // *Animals (Basel).* – 2021, Vol.11(6): 1516.
10. Jecminkova K. **Association of Leptin, TLR4, and CXCR1 SNPs with fertility traits in Czech Fleckvieh cattle** [Text] K. Jecminkova, U. Müller, J. Kyselova, Z. Sztankóová, L. Zavadilova, M. Stipkova, I. Majzlík // *Asian-Australasian J Anim Sci.* – 2018, Vol.3(11): 1-8.
11. Bilgen N. **Determination of Genetic Variations of Toll-Like Receptor (TLR) 2, 4, and 6 with Next-Generation Sequencing in Native Cattle Breeds of Anatolia and Holstein Friesian** [Text] N. Bilgen, B. C. Kul, V. Offord, D. Werling, O. Ertugrul // *Diversity.* – 2016, Vol.8(4): 23.

12. Тургумбеков А.А. Исследование ER α /BGLI SNP полиморфизма у крупного рогатого скота, ассоциированного с репродуктивной функцией [Текст] / Тургумбеков А.А., Усенбеков Е.С. // 3i: intellect, idea, innovation – интеллект, идея, инновация – 2023. – № 2. – С. 47–51.
13. Тургумбеков А.А. Исследование GDF9 A625T/Dral SNP полиморфизма и ассоциативное влияние его аллелей на репродуктивную функцию коров [Текст] / Тургумбеков А.А., Усенбеков Е.С. // Ғылым және Білім – 2023. – № 2(2). – С. 121–129.
14. Узынтлеуова А.Д. Сиырлардың жасырын эндометритін ультрадыбыстық зерттеу диагностикасы [Текст] / Узынтлеуова А.Д., Джуланов М.Н., Койбағаров К.У., Абжалиева А.Б. // Ғылым және Білім – 2024. – №1(2). – С. 49–57.
15. Муслимова Ж.У. Результаты генотипирования коров голштинской породы по локусам генов TLR6 и BRCA1, ассоциированных с резистентностью к маститам [Текст] / Муслимова Ж.У., Нусупова С.Т., Усенбеков Е.С. // Ғылым және білім – 2024. – № 1(21). – С. 69–83.
16. Бименова Ж.Ж. Шаруашылық жағдайында эндометриттерді балау, алдын алу және заманауи емдеу әдістерін оңтайландыру [Текст] / Бименова Ж.Ж., Тургумбеков А.А., Несипбаева А.К. // Ветеринарные науки. – 2025. – № 3(2). – С. 284–292.
17. Сахариев Е.С. Сиыр эндометриті ауруына себепші микроорганизмдердің вируленттілігі мен антибиотикке резистенттілігін анықтау [Текст] / Сахариев Е.С., Усенбеков Е.С., Муратбаев Д.М. // Ветеринарные науки. – 2025. – № 2(2). – С. 76–88.
18. Хасанова М.А. Морфофункциональная характеристика яйцепроводов коров при гипофункции яичников [Текст] / Хасанова М.А., Аубакиров М.Ж. // Ветеринарные науки. – 2023. – № 2(1). – С. 61–67.
19. Bińkowski J., Miks S., (2018, September). Gene-Calc [Computer software]. Available from: www.gene-calc.pl. <https://gene-calc.pl/hardy-weinberg-page>.
20. Усенбеков Е.С. Эффективность схем синхронизации эстрального цикла у коров молочных пород и оптимальное время искусственного осеменения [Текст] / Ussenbekov, Y., Тургумбеков А. А, Омарбекова У. Ж, Ибрагимов П. Ш., Койбағаров К. У., & Усенбеков Е. С. // Ветеринария. Gylum žәне bilim. – 2023. № 4(73), – С.182–193. <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2023-4-1-182-193>.

REFERENCES:

1. Shimizu T., Kawasaki Y., Shimizu T., et al. Effect of Single Nucleotide Polymorphisms of Toll-Like Receptor 4 (TLR4) on Reproductive Performance and Immune Function in Dairy Cows. *Biochem Genet.*, 2017, vol. 55(3), pp. 212–222.
2. El-Domany W.B., Radwan H.A, Ateya A.I., et al. Genetic Polymorphisms in LTF/EcoRI and TLR4/AluI loci as candidates for milk and reproductive performance assessment in Holstein cattle. *Reprod Domest Anim.*, 2019, vol.54(4), pp. 678-686.
3. Xia P., Wu Y., Lian S., et al. Research progress on Toll-like receptor signal transduction and its roles in antimicrobial immune responses. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 2021, vol.105(13), pp. 5341-5355.
4. Ezz M.A., Marey M.A., Elweza A.E. et al. TLR2/4 signaling pathway mediates sperm-induced inflammation in bovine endometrial epithelial cells in vitro. *PLoS One*, 2019, vol.14(4), art. e0214516.
5. Sutopo, Setyorini Y.W., Kurnianto E., et al. Toll-Like Receptor 4 Gene Diversity, Its Potential as a Molecular Marker in Indonesian Dairy Cattle. *Journal of Hunan University (Natural Sciences)*, 2023, vol. 50(10), pp. 175–183.
6. Novák K., Valčíková T., Samáková K., Bješka M. Association of Variants in Innate Immune Genes TLR4 and TLR5 with Reproductive and Milk Production Traits in Czech Simmental Cattle. *Genes*, 2024, vol. 15(1), pp. 1-24.
7. Maurić-Maljković M., Vlahek I., Piplica A., et al. Prospects of Toll-Like Receptors in Dairy Cattle Breeding. *Anim Genet.*, 2023, 54(4), pp. 425–434.
8. Guo Y., van Schaik T., Jhamat N., et al. Differential gene expression in bovine endometrial epithelial cells after challenge with LPS; specific implications for genes involved in embryo maternal interactions. *PLoS One*, 2019, vol. 14 (9), art. e0222081.
9. Oladejo A.O., Li Y., Wu X., et al. Modulation of bovine endometrial cell receptors and signaling pathways as a nanotherapeutic exploration against dairy cow postpartum endometritis. *Animals (Basel)*, 2021, vol.11(6), art. 1516.
10. Jecminkova K., Müller U., Kyselova J., et al. Association of Leptin, TLR4, and CXCR1 SNPs with fertility traits in Czech Fleckvieh cattle. *Asian-Australasian J Anim Sci.*, 2018, vol.3(11), pp. 1-8.
11. Bilgen N., Kul B.C., Offord V., Werling D., Ertugrul O. Determination of Genetic Variations of Toll-Like Receptor (TLR) 2, 4, and 6 with Next-Generation Sequencing in Native Cattle Breeds of Anatolia and Holstein Friesian. *Diversity*, 2016, vol.8(4), art. 23.
12. Turgumbekov, A.A., Usenbekov E.S. Issledovanie ER α /BGLI SNP polimorfizma u krupnogo rogatogo skota, associirovannogo s reproductivnoj funkciej [Study of ER α /BGLI SNP polymorphism in cattle associated with reproductive function]. *3i: Intellect, Idea, Innovation*, 2023, (2), pp. 47–51. (In Russian).

13. Turgumbekov A.A., Usenbekov E.S. Issledovanie *GDF9 A625T/Dral* SNP polimorfizma i associativnoe vliyanie ego allelej na reproduktivnyuyu funkciyu korov [Study of *GDF9 A625T/Dral* SNP polymorphism and the associative influence of its alleles on the reproductive function of cows]. *Gylym zhane Bilim*, 2023, 2(2), pp. 121–129. (In Russian)
14. Uzyntleuova A.D., Dzhulanov M.N., Koibagarov K.U., Abzhaliyeva A.B. Siirlardyn zhasyryn endometritin ultradibystyk zertteu diagnostikasy [Ultrasonic diagnosis of latent endometritis in cows]. *Gylym zhane Bilim*, 2024, 1(2), pp. 49–57. (In Russian)
15. Muslimova Zh.U., Nusupova S.T., Usenbekov E.S. Rezul'taty' genotipirovaniya korov golshtinskoj porody' po lokusam genov TLR6 i BRCA1, associirovanny'h s rezistentnost'yu k mastitam [Results of genotyping Holstein cows by TLR6 and BRCA1 gene loci associated with resistance to mastitis]. *Gylym zhane Bilim*, 2024, 1(21), pp. 69–83. (In Russian)
16. Bimenova Zh.Zh., Turgumbekov A.A., Nesipbaeva A.K. Sharuyashylyk zhagdayynda endometritterdi balau, aldyn alu zhane zamanau emdeu adisterin ontaylandyru [Diagnosis, prevention and optimization of modern treatment methods for endometritis under farm conditions]. *Veterinarnye Nauki*, 2025, 3(2), pp. 284–292. (In Kazakh)
17. Sahariyev E.S., Usenbekov E.S., Muratbayev D.M. Siir endometriti auruynna sebepshi mikro-organizmdardyn virulenttiligi men antibiotikke rezistenttiligin anyqtay [Determination of virulence and antibiotic resistance of microorganisms causing endometritis in cows]. *Veterinarnye Nauki*, 2025, 2(2), pp. 76–88. (In Kazakh)
18. Hasanova M.A., Aubakirov M.Zh. Morfofunkcional'naya harakteristika yajceprovodov korov pri gipofunkcii yaichnikov [Morphofunctional characteristics of oviducts in cows with ovarian hypofunction]. *Veterinarnye Nauki*, 2023, 2(1), pp. 61–67. (In Russian)
19. Bińkowski J., Miks S., Gene-Calc [Computer software]. 2018, available at: www.gene-calc.pl. <https://gene-calc.pl/hardy-weinberg-page> (accessed 23 April 2026).
20. Ussenbekov Y., Turgumbekov A.A., Omarbekova U.Zh., et al. E'ffektivnost' shem sinhronizatsii e'stral'nogo cikla u korov molochny'h porod i optimal'noe vremya iskusstvennogo osemneniya [Efficiency of estrous cycle synchronization schemes in dairy cows and optimal time for artificial insemination]. *Veterinariya. Gylym zhane bilim*, 2023, 4(73), pp. 182–193. <https://doi.org/10.52578/2305-9397-2023-4-1-182-193>. (In Russian)

Сведения об авторах:

Нурпеисова Раушан Кадирбаевна* – магистр ветеринарных наук, PhD докторант, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Республика Казахстан, 050038, г. Алматы, микрорайон Зерделі, дом-1/171, кв-4. тел.: 87007766250, e-mail: rauua0504@icloud.com.

Турғұмбеков Асет Абдымаратович – PhD доктор, старший преподаватель кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Республика Казахстан, 041600, Алматинская область, Талғарский район, поселок Арқабай, ул. Бұхар жырау 5. тел.: 87783579723, e-mail: asset.turgumbekov@kaznaru.edu.kz.

Иманбаев Айтқали Альмурзаевич – кандидат ветеринарных наук, профессор кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Республика Казахстан, 050006, г. Алматы, Ауезовский р-н мкр-н Аксай-1А, дом 276 кв 48, тел.: 87017228572, e-mail: aitkali.63@mail.ru.

Усенбеков Есенғали Серикович – кандидат биологических наук, профессор кафедры клинических дисциплин, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Республика Казахстан, 050006, г. Алматы, микрорайон Калкаман-2, ул. Абилова 21, тел.: 87059160272, e-mail: yessengali.usenbekov@kaznaru.edu.kz.

Нурпеисова Раушан Кадирбаевна* – ветеринария ғылымдарының магистрі, PhD докторант, «Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 050038, Алматы қ, Зерделі ықшам ауд, 1/171 – үй, 4 п. тел.: 87007766250, e-mail: rauua0504@icloud.com.

Турғұмбеков Асет Абдымаратович – PhD доктор, «Клиникалық пәндер» кафедрасының аға оқытушысы, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 041600, Алматы облысы, Талғар ауданы, Арқабай ауылы, Бұхар жырау көш, 5. тел.: 87783579723, e-mail: asset.turgumbekov@kaznaru.edu.kz.

Иманбаев Айтқали Альмурзаевич – ветеринария ғылымдарының кандидаты, «Клиникалық пәндер» кафедрасының профессоры, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 050006, Алматы қ, Ақсай 1 ықшам ауд, үй 276, пәтер 48. тел.: 8701722857, e-mail: aitkali.63@mail.ru.

Усенбеков Есенғали Серикович – биология ғылымдарының кандидаты «Клиникалық пәндер» кафедрасының профессоры, «Қазақ Ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 050006, Алматы қ, Калкаман 2 ықшам ауданы, Абилов көш, 21. тел.: 87059160272, e-mail: yessengali.usenbekov@kaznaru.edu.kz.

Nurpeissova Raushan Kadirbayevna – Master of Veterinary Sciences, PhD Student, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Republic of Kazakhstan, 050038, Almaty, Zerdeli microdistrict, bld. 1/171, apt. 4., tel.: 87007766250, e-mail: raua0504@icloud.com.

Turgumbekov Asset Abdymaratovoch – PhD, Senior Lecturer of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Republic of Kazakhstan, 041600, Almaty region, Talgar district, Arkabay village, 5 Bukharzhyrau Str., tel.: 87086533257, e-mail: asset.turgumbekov@kaznaru.edu.kz.

Imanbayev Aitkali Almurzayevich – Candidate of Veterinary Sciences, Professor of the Department of clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Republic of Kazakhstan, 050026, Almaty, Auezov district, Aksai microdistrict, 1, bld. 27b, apt. 48, tel.: 87017228572, e-mail: aitkali.63@mail.ru.

Ussenbekov Yessengali Serikovich – Candidate of Biological Sciences, Professor of the Department of Clinical disciplines, Kazakh National Agrarian Research University NJSC, Republic of Kazakhstan, 050026, Almaty, 2-Kalkaman microdistrict, 21 Abilov Str., tel.: 87059160272, e-mail: yessengali.usсенbekov@kaznaru.edu.kz.

МРНТИ 68.41.31

УДК 637.146

<https://doi.org/10.52269/SKVC2621056>

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА ВЕРБЛЮЖЬЕГО МОЛОКА И ШУБАТА В ЗАВИСИМОСТИ ОТ РЕГИОНА И СЕЗОНА

Оспанова М.С. – магистр педагогических наук, старший преподаватель, «Южно-Казахстанский университет имени М. Ауэзова», г. Шымкент, Республика Казахстан.

*Сыман К.** – кандидат биологических наук, кафедра биологии, «Казахский национальный педагогический университет имени Абая», г. Алматы, Республика Казахстан.

Яхин Р.Ф. – магистр естественных наук, НАО «Казахский национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова», г. Алматы, Республика Казахстан.

Закирова Ф.Б. – кандидат сельскохозяйственных наук, НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, Республика Казахстан.

Цель работы – провести ветеринарно-санитарную оценку качества и безопасности верблюжьего молока и шубата с учётом сезонной и региональной специфики Казахстана и показать экономические последствия отклонений. Анализировались физико-химические характеристики сырого молока (массовая доля жира и белка, титруемая кислотность/pH), микробиологические показатели (общее микробное число, КМАФАнМ, БКГ/колиформы, содержание соматических клеток) и санитарная надёжность шубата как ферментированного продукта (соответствие микробиологическим нормативам и допустимому диапазону кислотности). Отбор проб осуществлялся в четырёх типах кластеров – западном пастбищно-кочевом, южном мелкотоварном, центральном полукооперативном и пригородном индустриализирующемся – во все сезоны года, с фиксацией логистических условий (полевое доение, наличие/отсутствие охлаждения, длительность тёплой транспортировки, тип брожения, санитарное состояние тары). Установлено, что наибольшие риски приходятся на тёплый период в удалённых пастбищных кластерах при неконтролируемом брожении и продолжительной перевозке без охлаждения: растёт доля несоответствий по микробиологии и кислотности, увеличиваются отказы в приёмке, скидки и списания, что снижает маржинальность производителей. Зимой и в ранневесенний период при охлаждении сырья и управляемой ферментации риск существенно ниже, что позволяет формировать ценовую премию и поддерживать позиционирование шубата как функционального продукта. Практические меры включают целевое летнее охлаждение непосредственно после доения, стандартизацию процессов ферментации (использование заквасок, контроль времени и температуры, соблюдение санитарии тары), дифференциацию закупочных цен на основе подтверждённых ветсан-показателей и развитие региональной маркировки «безопасный шубат». Полученные данные подтверждают, что устойчивость ветеринарно-санитарных параметров – ключевой экономической актив в цепочке добавленной стоимости верблюдоводства.

Ключевые слова: верблюжье молоко, шубат, ветеринарно-санитарная оценка, микробиологическая безопасность, сезонность, региональные различия.

ТҮЙЕ СУТІ МЕН ШҰБАТТЫҢ АЙМАҚҚА ЖӘНЕ МАУСЫМҒА БАЙЛАНЫСТЫ ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ ЖӘНЕ САНИТАРИЯЛЫҚ БАҒАЛАУЫ

Оспанова М.С. – аға оқытушы, педагогика ғылымдарының магистрі, «М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан университеті», Шымкент қ, Қазақстан Республикасы.

*Сыман К.** – биология ғылымдарының кандидаты, «Абай атындағы Қазақ ұлттық педагогикалық университеті», Алматы қ, Қазақстан.