



<https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-76-81>
УДК 619:618.19-002:636.22/.28:577.21



Ассоциации полиморфизмов гена *TLR4* с риском развития мастита крупного рогатого скота

М. В. Бытов, Ю. А. Осипова, Ч. Р. Юсупова, В. Д. Зубарева

ФГБНУ «Уральский федеральный аграрный научно-исследовательский центр Уральского отделения Российской академии наук» (ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН),
ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Воспалительные заболевания молочной железы коров остаются наиболее распространенной проблемой молочного скотоводства, несмотря на оптимизируемые профилактические меры и схемы лечения. Одним из способов предупреждения развития мастита у коров молочного направления продуктивности является генетическая селекция наиболее устойчивых к заболеванию особей. Толл-подобный рецептор 4 (*TLR4*) играет ключевую роль во врожденном иммунитете, в литературе имеются данные о его значимом влиянии на развитие мастита, описаны ассоциации генетических полиморфизмов гена *TLR4* со значениями индекса соматических клеток.

Цель исследования. Определение генетического разнообразия и степени ассоциации с развитием клинического мастита для 3 полиморфных локусов, расположенных в гене *TLR4*.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели использованы данные анамнеза крупного рогатого скота ($n = 421$), проведена диагностика субклинического мастита при помощи экспресс-теста для определения количества соматических клеток в молоке, при генотипировании крупного рогатого скота по полиморфизмам rs8193046, rs8193060, rs29017188 применена полимеразная цепная реакция в реальном времени по технологии TaqMan.

Результаты. При проведении ассоциативных тестов установлено, что полиморфизмы rs8193046 и rs29017188 являются наиболее перспективными кандидатами для использования в селекционных программах для снижения риска заболеваемости маститом в популяциях Уральского региона. Для rs8193060 отдельно достоверных результатов ассоциативных тестов не выявлено, однако животные с гаплотипом GCG (для аллелей SNP rs8193046, rs8193060, rs29017188) имеют статистически значимый более низкий риск развития мастита.

Заключение. Отмечено, что данные полиморфизмы можно использовать для маркер-ориентированной селекции крупного рогатого скота для профилактики риска развития мастита в популяциях Уральского региона.

Ключевые слова: *TLR4*, мастит, крупный рогатый скот, риск развития заболевания, ассоциативные тесты

Благодарности: Работа выполнена в рамках государственного задания Минобрнауки России по теме № 0532-2022-0001 «Разработка технологии для маркер-ориентированной селекции крупного рогатого скота по генам, ассоциированным с устойчивостью к заболеваниям».

Для цитирования: Бытов М. В., Осипова Ю. А., Юсупова Ч. Р., Зубарева В. Д. Ассоциации полиморфизмов гена *TLR4* с риском развития мастита крупного рогатого скота. *Ветеринария сегодня*. 2025; 14 (1): 76–81. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-76-81>

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Для корреспонденции: Зубарева Владлена Дмитриевна, младший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, ул. Белинского, 112а, г. Екатеринбург, 620142, Россия, zzub97@mail.ru

Polymorphisms in *TLR4* gene associated with risks of bovine mastitis development

Maksim V. Bytov, Yulia A. Osipova, Chulpan R. Yusupova, Vladlena D. Zubareva

Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia

ABSTRACT

Introduction. Inflammatory mammary diseases in cows remain the most common challenge in dairy industry, notwithstanding the improved preventive measures and treatment schemes. One of the methods to prevent mastitis in dairy cows is the genetic selection of the most disease-resistant individuals. Toll-like receptor 4 (*TLR4*) plays a central role in the innate immune response. There are publications about *TLR4* significance for mastitis development, its genetic polymorphisms associated with somatic cell counts.

Objective. Determination of genetic diversity and association with the development of clinical mastitis for three polymorphic locuses of *TLR4*.

Materials and methods. To achieve the objective cattle health history ($n = 421$) was used, subclinical mastitis was diagnosed using rapid test for somatic cell counting in milk, TaqMan real-time polymerase chain reaction was used for genotyping of cattle for rs8193046, rs8193060, rs29017188 polymorphisms.

Results. Association studies established that rs8193046 and rs29017188 polymorphisms are the most promising candidates to be used in selection programs aimed at mastitis risk mitigation in the Ural populations. For rs8193060 no reliable results of association tests are obtained, though risk of mastitis in GCG haplotype-animals (for SNP rs8193046, rs8193060, rs29017188 alleles) is statistically lower.

Conclusion. It is noted that the abovementioned polymorphisms can be used for marker-assisted selection of cattle to prevent risks of mastitis in the populations in the Ural.

Keywords: *TLR4*, mastitis, cattle, risk of disease development, association tests

Acknowledgements: The research was carried out within the framework of the state assignment of the Ministry of Education and Science of Russia No. 0532-2022-0001 "Development of technology for marker-assisted selection of cattle for genes associated with disease resistance".

For citation: Bytov M. V., Osipova Yu. A., Yusupova Ch. R., Zubareva V. D. Polymorphisms in *TLR4* gene associated with risks of bovine mastitis development. *Veterinary Science Today*. 2025; 14 (1): 76–81. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2025-14-1-76-81>

Conflict of interests: The authors declare no conflict of interests.

For correspondence: Vladlena D. Zubareva, Junior Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, 112a Belinsky str., Ekaterinburg 620142, Russia, zzub97@mail.ru

ВВЕДЕНИЕ

Воспаление ткани молочной железы (мастит) является одним из наиболее экономически затратных заболеваний крупного рогатого скота. Активно ведется оптимизация профилактических мер и схем лечения, в том числе с целью экономии труда и финансовых средств. К таким мероприятиям можно отнести профилактику вакцинацией и применение различных антимикробных препаратов [1, 2, 3]. Альтернативой, ведущей к уменьшению количества случаев маститов в хозяйствах, является геномная селекция. Длительная селекция молочного скота, направленная исключительно на увеличение продуктивности, пригодности молочной железы к машинному доению, привела к развитию повышенной восприимчивости к маститу в результате ослабления сфинктера соскового канала – естественного защитного барьера для проникновения инфекционных патогенных агентов [4]. Восприимчивость к маститу зависит от ряда факторов – как внешних (кормление, содержание, воздействие стресса, организация процессов доения), так и внутренних (иммунные процессы в организме, механизм которых важно понимать, чтобы повысить резистентность животных) [5].

Иммунный ответ играет ключевую роль в патогенезе заболеваний. Толл-подобный рецептор 4 (*TLR4*) – внутренний иммунный рецептор – демонстрирует широко распространенную экспрессию *in vivo*, нарушение его работы способствует возникновению различных болезней, включая сердечно-сосудистые заболевания, неопластические состояния и воспалительные процессы в организме [6]. В результате поиска ассоциаций с риском развития колиэнтерита было обнаружено, что аллель *G** полиморфизма rs8193046 гена *TLR4* более распространена среди телят, страдающих диареей, по сравнению с контрольной группой животных [7]. В исследовании ассоциации однонуклеотидного полиморфизма (SNP) с риском развития паратуберкулеза, вызванного *Mycobacterium avium*, показано, что гетерозиготы *A/G* имели больший риск развития данного инфекционного заболевания [8]. В эксперименте по поиску гаплотипов полиморфизмов в гене *TLR4*, проведенном в разных популяциях крупного рогатого скота, было выявлено, что аллель *A** присутствует во всех гаплотипах, имеющих отрицательный вклад в значения индекса соматических клеток в молоке, аллель *C** также имеет негативный эффект, а *G** – положительный [9]. Стоит отметить, что в данной работе не сделаны поправки на множественное сравнение при поиске статистически значимых гаплотипов. При этом

в исследовании ассоциации отдельных SNPs с риском развития субклинического мастита показано, что особи с генотипом *G/G* имеют большие средние значения индекса соматических клеток в молоке [10].

Для полиморфизма rs8193060 продемонстрированы достоверные ассоциации с репродуктивными признаками: частота встречаемости кистозных яичников, ранние репродуктивные нарушения, легкость отела и продуктивное долголетие [11]. Существуют данные о связи полиморфизма с риском развития паратуберкулеза, причем установлено, что генотип *C/T* является неблагоприятным вариантом [12]. В исследовании по поиску гаплотипов полиморфизмов в гене *TLR4* для rs8193060 получены неоднозначные результаты: аллель *C** присутствует в гаплотипах как с положительным, так и с отрицательным эффектом [9]. При анализе ассоциаций rs8193060 с индексом соматических клеток показано, что генотип *T/T* является неблагоприятным [10].

Наибольшей плейотропией по результатам полногеномных исследований обладает полиморфизм rs29017188. Имеются данные о его влиянии на межотельный период [13], постоянство лактации [14] и состав молока [15].

К сожалению, на сегодняшний день не выявлено, как именно полиморфизмы гена *TLR4* воздействуют на иммунные функции организма. В работе R. R. Bhat et al. описан предположительный механизм влияния полиморфизмов в 5'-нетранслируемом регионе и промоторах гена *TLR4*. Исследователями обнаружен низкий уровень гетерозиготности в данных локусах у особей с предрасположенностью к развитию мастита, что, вероятнее всего, обусловлено связыванием данных участков с транскрипционными факторами, это в конечном счете снижает уровень экспрессии данного гена [16].

Исходя из вышеизложенного, целью исследований являлось изучение генетического разнообразия и поиск ассоциаций полиморфизмов гена *TLR4* с риском развития мастита крупного рогатого скота.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для проведения генотипирования крупного рогатого скота в количестве 421 гол. использован протокол, ранее описанный A. Q. de Mesquita et al. [10], с использованием олигонуклеотидов для rs8193046 (табл. 1). При этом по rs8193060 и rs29017188 генотипированы все животные, а по rs8193046 – 387 особей. Исследованы коровы из пяти сельскохозяйственных организаций Уральского региона.

Таблица 1
Последовательности использованных олигонуклеотидов

Table 1
Oligonucleotide sequences

SNP	Последовательность олигонуклеотидов	Длина ампликона, п. н.
rs8193046	F, GAGAGGAGAGTTGCTTGAAGTCT	107
	R, GCTCCATGCACTGGTAACTAATGT	
	P1, [HEX]CAGGAAGACACCGCA[BHQ1]	
	P2, [ROX]CAGGAAGACACCA[BHQ2]	
rs8193060	F, CCACTCGTCCGGATCCT	79
	R, CCTTGGCAAATCTGTAGTCTTG	
	P1, [HEX]ACTGCAGTTTCAACCGTATC[BHQ1]	
	P2, [ROX]ACTGCAGTTTCAACCGTA[BHQ2]	
rs29017188	F, CCAGCTTCTCTGTGTACTTCA	150
	R, CGGGAGGAGAGGAAGTGAGA	
	P1, [HEX]TATTTATCTCTCTGCCACCGGA[BHQ1]	
	P2, [ROX]TTATCTCTCTGCCACCGAG[BHQ2]	

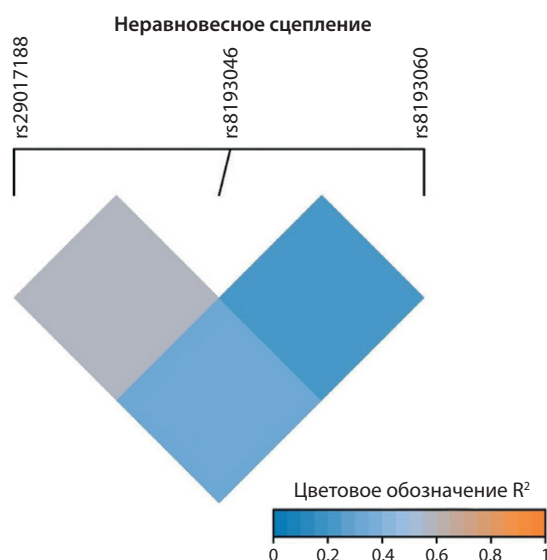


Рис. 1. График индекса R^2 для неравновесного сцепления изучаемых SNP

Fig. 1. Linkage disequilibrium (R^2) plot of the studied SNPs

Таблица 2

Оценка распределения генотипов и аллельного разнообразия. Оценка отклонения от равновесия Харди – Вайнберга

Table 2
Genotype distribution, allele frequency, and p -value of Hardy – Weinberg equilibrium

Локус	Генотип	Количество животных, гол.	Частота генотипов, %	Аллели	Абсолютная частота аллелей	χ^2 (p -value)
rs8193046 $G > A$	A/A	89	23,0	A* G*	323 451	20,397 (< 0,0001)
	A/G	145	37,5			
	G/G	153	39,5			
rs8193060 $T > C$	C/C	184	43,7	C* T*	559 283	0,116 (0,734)
	C/T	191	45,4			
	T/T	46	10,9			
rs29017188 $G > C$	C/C	75	17,8	C* G*	362 480	0,314 (0,575)
	C/G	212	50,4			
	G/G	134	31,8			

Критерием отнесения животного к группе риска являлось наличие случаев клинического и субклинического мастита в анамнезе. Для диагностики субклинического мастита использовали экспресс-тесты по определению содержания соматических клеток в молоке. Если у животного не были зарегистрированы случаи мастита в течение трех лактаций, а также экспресс-тест показал отрицательный результат, то оно считалось устойчивым к маститу. У всех животных проводился отбор крови из хвостовой вены в вакуумные пробирки с ЭДТА (этилендиаминтетрауксусной кислотой) в качестве фиксатора.

Распределение генотипов проверяли на соответствие закону Харди – Вайнберга, вычисления степени неравновесного сцепления и индекса разнообразия Шеннона выполнены с помощью пакета GenAlEx (версия 6.5) для Microsoft Excel [17]. Графики для отражения степени неравновесного сцепления построены с использованием веб-инструмента SnpPlot [18].

Ассоциативные тесты для каждого SNP в отдельности, поиск наиболее распространенных гаплотипов и их ассоциаций с риском развития мастита выполнены в программной среде R с помощью пакета SNPAssoc (версия 2.1.0) [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Аллельное разнообразие и распределение генотипов представлено в таблице 2. При расчете критерия Харди – Вайнберга число степеней свободы было принято за 1. По результатам проведенного анализа в случае полиморфизма rs8193046 выявлено статистически значимое отклонение от равновесного распределения аллелей. Подобные отклонения могут возникать по ряду причин: давление отбора, ошибки генотипирования, инбредные скрещивания. Наиболее вероятным объяснением является давление искусственного отбора.

По данным анализа неравновесного сцепления можно сделать вывод, что пары аллелей rs8193046 и rs8193060, а также rs29017188 и rs8193060 наследуются несцепленно: $R^2 = 0,2$ и $R^2 = 0,4$ соответственно (рис. 1).

Также проведена оценка генетического разнообразия исследуемых популяций крупного рогатого скота по полиморфизмам гена *TLR4*. Индекс биологического разнообразия Шеннона, приближаясь к единице, отражает высокий уровень разнообразия. В результате анализа установлено, что разнообразие между

популяциями выражено слабо ($D' = 0,015$). Однако в среднем внутри популяций можно наблюдать более высокое значение индекса разнообразия ($D' = 0,403$), из чего можно сделать вывод об их генетической стабильности (рис. 2). Поскольку различия в разнообразии по данным полиморфизмам между анализируемыми популяциями не наблюдается, дальнейшие исследования проведены совместно.

По отдельности для каждого из исследуемых полиморфизмов гена *TLR4* проведены ассоциативные тесты, направленные на выявление связи с риском развития мастита, краткое содержание результатов которых представлено в таблице 3. SNP rs29017188 показал наибольшее количество статистически значимых моделей наследования, в том числе и с учетом поправки Бонферрони, тогда как рецессивная модель наследования риска мастита была значимой для rs8193046 и rs29017188. Рецессивная модель наследования для rs8193046 также имеет наименьшее значение информационного критерия Акаике (AIC), а отношение шансов (odds ratio, OR) указывает, что у животных с генотипом A/A выше риск развития мастита. Для rs29017188 рецессивная модель также имела наименьшее значение AIC, OR для генотипа C/C было равно 2,30, то есть у особей исследованных популяций риск заболеваемости маститом предположительно выше более чем в 2 раза.

Результаты поиска гаплотипов показали, что ACC, GCG, GTG (для аллелей SNP rs8193046, rs8193060, rs29017188 соответственно) являются самыми распространенными – на их долю приходится более 85% всей выборки (табл. 4).

Животные с гаплотипом GCG имеют статистически значимый более низкий риск развития мастита (для SNP rs8193046, rs8193060, rs29017188). Предполагаем, что увеличение доли особей с данным гаплотипом в хо-

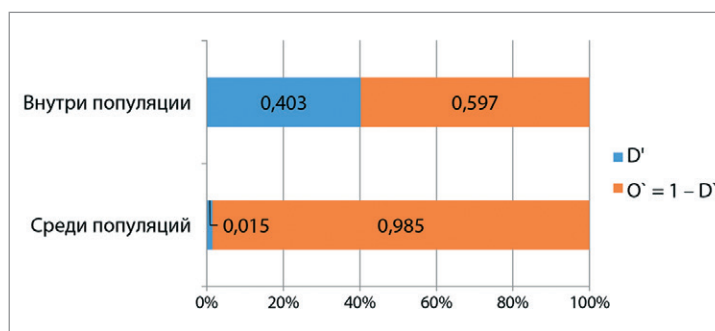


Рис. 2. Индекс биологического разнообразия Шеннона при внутри- и межпопуляционной оценке: D' – индекс разнообразия; O' – индекс идентичности

Fig. 2. Shannon diversity index for intra- and interpopulation assessment: D' – diversity index; O' – overlap index

зяйствах, где остро стоит проблема заболеваемости маститом коров молочного направления продуктивности, может оказать положительный эффект на распространение данного заболевания. Результаты поиска ассоциаций гаплотипов с фенотипами совпадают с результатами по выявлению ассоциаций отдельных полиморфизмов и в большей степени согласуются с данными, полученными X. P. Wang et al. [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе работы был проведен анализ генетического разнообразия уральских популяций крупного рогатого скота молочного направления продуктивности. Для полиморфизма rs8193046 гена *TLR4* обнаружено отклонение от равновесия Харди – Вайнберга, что, вероятнее всего, связано с воздействием давления искусственного отбора.

Таблица 3

Результаты ассоциативных тестов для каждого из SNP по пяти моделям наследования

Table 3

Results of association tests for each of the SNPs for five inheritance models

SNP	Кодоминантная	Доминантная	Рецессивная	Овердоминантная	log-аддитивная
rs8193046	0,04887*	0,17175	0,01478*	0,47568	0,02935*
rs8193060	0,51985	0,34612	0,73568	0,25287	0,58147
rs29017188	0,00671*	0,06545	0,00248*	0,57736	0,00368*

* p -value $\leq 0,05$; жирный шрифт (in bold) – p -value $\leq 0,016$ (поправка Бонферрони / Bonferroni correction).

Таблица 4

Результаты поиска гаплотипов и их ассоциаций с риском развития мастита

Table 4

Haplotypes and their associations with mastitis risks

rs8193046, rs8193060, rs29017188	Частота	OR	95%-й доверительный интервал	p -value
ACC	0,3491	1,00	референсный гаплотип	–
GCC	0,0643	0,86	0,45–1,64	0,6515
GCG	0,2145	0,53	0,36–0,80	0,0022*
GTG	0,3020	0,74	0,52–1,05	0,0894
Другие редкие гаплотипы	0,0701	0,60	0,33–1,12	0,1083

* p -value $\leq 0,05$; жирный шрифт (in bold) – p -value $\leq 0,016$ (поправка Бонферрони / Bonferroni correction).

На основании результатов ассоциативных тестов сделано предположение, что SNP rs8193046 и rs29017188 являются наиболее перспективными кандидатами для использования в селекционных программах для снижения риска заболеваемости маститом в исследованных популяциях. Стоит отметить низкую эффективность экстраполяции геномных оценок даже среди популяций одной породы, однако полученные в ходе исследования результаты совпадают с ранее представленными данными [9]. Установлено, что гаплотип GCG для rs8193046, rs8193060, rs29017188 является статистически значимым по результатам поиска ассоциаций. По данному гаплотипу, вероятно, можно проводить положительный отбор для снижения риска развития клинического мастита в популяциях крупного рогатого скота молочного направления продуктивности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Исакова М. Н., Ряпосова М. В., Опарина О. Ю. Изменения показателей иммунного статуса коров на фоне применения противомаститной вакцины. *Ветеринарный фармакологический вестник*. 2019; (1): 91–95. <https://doi.org/10.17238/issn2541-8203.2019.1.91>
- Исакова М. Н., Лысова Я. Ю. Влияние композиции на основе бактериоцина низина в схеме лечения коров с субклиническим маститом на микробиоту молока. *Ветеринария сегодня*. 2024; 13 (3): 261–268. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268>
- Дроздова Л. И., Баркова А. С., Исакова М. Н., Ларионов Л. П., Пермикин В. В., Стариков Н. М., Хонина Т. Г. Оценка ранозаживляющего эффекта кремнийцинкборсодержащего глицерогидрогеля и влияние его на молочную железу высокопродуктивных коров. *Ветеринария сегодня*. 2023; 12 (4): 322–330. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-4-322-330>
- Brajnik Z., Ogorevc J. Candidate genes for mastitis resistance in dairy cattle: a data integration approach. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2023; 14:10. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00821-0>
- Zemanova M., Langova L., Novotná I., Dvorakova P., Vrtkova I., Havlicek Z. Immune mechanisms, resistance genes, and their roles in the prevention of mastitis in dairy cows. *Archives Animal Breeding*. 2022; 65 (4): 371–384. <https://doi.org/10.5194/aab-65-371-2022>
- Wei J., Zhang Y., Li H., Wang F., Yao S. Toll-like receptor 4: A potential therapeutic target for multiple human diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023; 166:115338. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115338>
- Judi H., Judi R., Saqban A.-K. Molecular study of colibacillosis susceptibility in calves and lambs. *Nano Biomedicine and Engineering*. 2020; 12 (2): 153–159. <https://doi.org/10.5101/nbe.v12i2.p153-159>
- Gopi B., Singh R. V., Kumar S., Kumar S., Chauhan A., Kumar A., Singh S. V. Single-nucleotide polymorphisms in *CLEC7A*, *CD209* and *TLR4* gene and their association with susceptibility to paratuberculosis in Indian cattle. *Journal of Genetics*. 2020; 99:14. <https://doi.org/10.1007/s12041-019-1172-4>
- Wang X. P., Luoreng Z. M., Gao S. X., Guo D. S., Li J. Y., Gao X., et al. Haplotype analysis of *TLR4* gene and its effects on milk somatic cell score in Chinese commercial cattle. *Molecular Biology Reports*. 2014; 41 (4): 2345–2351. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3088-7>
- De Mesquita A. Q., e Rezende C. S. M., de Mesquita A. J., Jardim E. A. G., Kipnis A. P. J. Association of *TLR4* polymorphisms with subclinical mastitis in Brazilian holsteins. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012; 43 (2): 692–697. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000200034>
- Novák K., Valčíková T., Samaké K., Bjelka M. Association of variants in innate immune genes *TLR4* and *TLR5* with reproductive and milk production traits in Czech Simmental cattle. *Genes*. 2023; 15 (1):24. <https://doi.org/10.3390/genes15010024>
- Kumar S., Kumar S., Singh R. V., Chauhan A., Kumar A., Sulabh S., et al. Genetic association of polymorphisms in bovine *TLR2* and *TLR4* genes with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in Indian cattle population. *Veterinary Research Communications*. 2019; 43 (2): 105–114. <https://doi.org/10.1007/s11259-019-09750-2>
- Jecminkova K., Müller U., Kyselova J., Sztankoova Z., Zavdilova L., Stipkova M., Majzlik I. Association of leptin, toll-like receptor 4, and chemokine receptor of interleukin 8 C-X-C motif single nucleotide polymorphisms with fertility traits in Czech Fleckvieh cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2018; 31 (11): 1721–1728. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0900>
- Sharma B. S., Leyva I., Schenkel F., Karrow N. A. Association of toll-like receptor 4 polymorphisms with somatic cell score and lactation per-

sistency in Holstein bulls. *Journal of Dairy Science*. 2006; 89 (9): 3626–3635. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72402-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72402-X)

15. Wang M., Song H., Zhu X., Xing S., Zhang M., Zhang H., et al. Toll-like receptor 4 gene polymorphisms influence milk production traits in Chinese Holstein cows. *Journal of Dairy Research*. 2018; 85 (4): 407–411. <https://doi.org/10.1017/s0022029918000535>

16. Bhat R. R., Bhat N. N., Shabir A., Mir M. U. R., Ahmad S. B., Hus-sain I., et al. SNP analysis of *TLR4* promoter and its transcriptional factor binding profile in relevance to bovine subclinical mastitis. *Biochemical Genetics*. 2024; 62 (5): 3605–3623. <https://doi.org/10.1007/s10528-023-10578-4>

17. Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 2006; 6 (1): 288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>

18. Tang D., Chen M., Huang X., Zhang G., Zeng L., Zhang G., et al. SRplot: A free online platform for data visualization and graphing. *PLoS ONE*. 2023; 18 (11):e0294236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294236>

19. González J. R., Armengol L., Solé X., Guinó E., Mercader J. M., Estivill X., Moreno V. SNPpass: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*. 2007; 23 (5): 644–645. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm025>

REFERENCES

- Isakova M. N., Ryaposova M. V., Oparina O. Yu. Changes in the indices of general resistance of the organism of cows on the background of the use of anti-mastitis vaccines. *Bulletin of Veterinary Pharmacology*. 2019; (1): 91–95. <https://doi.org/10.17238/issn2541-8203.2019.1.91> (in Russ.)
- Isakova M. N., Lysova Ya. Yu. The effect of the nisin-based pharmaceutical formulation used in the treatment plan for cows with subclinical mastitis on the milk microbiota. *Veterinary Science Today*. 2024; 13 (3): 261–268. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2024-13-3-261-268>
- Drozдова L. I., Barkova A. S., Isakova M. N., Larionov L. P., Per-mikin V. V., Starikov N. M., Khonina T. G. Evaluating wound-healing effect of silicon-zinc-boron-containing glycerohydrogel and its effect on mammary glands of high producing dairy cows. *Veterinary Science Today*. 2023; 12 (4): 322–330. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2023-12-4-322-330>
- Brajnik Z., Ogorevc J. Candidate genes for mastitis resistance in dairy cattle: a data integration approach. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2023; 14:10. <https://doi.org/10.1186/s40104-022-00821-0>
- Zemanova M., Langova L., Novotná I., Dvorakova P., Vrtkova I., Havlicek Z. Immune mechanisms, resistance genes, and their roles in the prevention of mastitis in dairy cows. *Archives Animal Breeding*. 2022; 65 (4): 371–384. <https://doi.org/10.5194/aab-65-371-2022>
- Wei J., Zhang Y., Li H., Wang F., Yao S. Toll-like receptor 4: A potential therapeutic target for multiple human diseases. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2023; 166:115338. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115338>
- Judi H., Judi R., Saqban A.-K. Molecular study of colibacillosis susceptibility in calves and lambs. *Nano Biomedicine and Engineering*. 2020; 12 (2): 153–159. <https://doi.org/10.5101/nbe.v12i2.p153-159>
- Gopi B., Singh R. V., Kumar S., Kumar S., Chauhan A., Kumar A., Singh S. V. Single-nucleotide polymorphisms in *CLEC7A*, *CD209* and *TLR4* gene and their association with susceptibility to paratuberculosis in Indian cattle. *Journal of Genetics*. 2020; 99:14. <https://doi.org/10.1007/s12041-019-1172-4>
- Wang X. P., Luoreng Z. M., Gao S. X., Guo D. S., Li J. Y., Gao X., et al. Haplotype analysis of *TLR4* gene and its effects on milk somatic cell score in Chinese commercial cattle. *Molecular Biology Reports*. 2014; 41 (4): 2345–2351. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3088-7>
- De Mesquita A. Q., e Rezende C. S. M., de Mesquita A. J., Jardim E. A. G., Kipnis A. P. J. Association of *TLR4* polymorphisms with subclinical mastitis in Brazilian holsteins. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2012; 43 (2): 692–697. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000200034>
- Novák K., Valčíková T., Samaké K., Bjelka M. Association of variants in innate immune genes *TLR4* and *TLR5* with reproductive and milk production traits in Czech Simmental cattle. *Genes*. 2024; 15 (1):24. <https://doi.org/10.3390/genes15010024>
- Kumar S., Kumar S., Singh R. V., Chauhan A., Kumar A., Sulabh S., et al. Genetic association of polymorphisms in bovine *TLR2* and *TLR4* genes with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection in Indian cattle population. *Veterinary Research Communications*. 2019; 43 (2): 105–114. <https://doi.org/10.1007/s11259-019-09750-2>
- Jecminkova K., Müller U., Kyselova J., Sztankoova Z., Zavdilova L., Stipkova M., Majzlik I. Association of leptin, toll-like receptor 4, and chemokine receptor of interleukin 8 C-X-C motif single nucleotide polymorphisms with fertility traits in Czech Fleckvieh cattle. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2018; 31 (11): 1721–1728. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0900>
- Sharma B. S., Leyva I., Schenkel F., Karrow N. A. Association of toll-like receptor 4 polymorphisms with somatic cell score and lactation per-

15. Wang M., Song H., Zhu X., Xing S., Zhang M., Zhang H., et al. *Toll-like receptor 4* gene polymorphisms influence milk production traits in Chinese Holstein cows. *Journal of Dairy Research*. 2018; 85 (4): 407–411. <https://doi.org/10.1017/s0022029918000535>

16. Bhat R. R., Bhat N. N., Shabir A., Mir M. U. R., Ahmad S. B., Hussain I., et al. SNP analysis of *TLR4* promoter and its transcriptional factor binding profile in relevance to bovine subclinical mastitis. *Biochemical Genetics*. 2024; 62 (5): 3605–3623. <https://doi.org/10.1007/s10528-023-10578-4>

17. Peakall R., Smouse P. E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 2006; 6 (1): 288–295. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x>

18. Tang D., Chen M., Huang X., Zhang G., Zeng L., Zhang G., et al. SRplot: A free online platform for data visualization and graphing. *PLoS ONE*. 2023; 18 (11): e0294236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0294236>

19. González J. R., Armengol L., Solé X., Guinó E., Mercader J. M., Estivill X., Moreno V. SNPassoc: an R package to perform whole genome association studies. *Bioinformatics*. 2007; 23 (5): 644–645. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm025>

Поступила в редакцию / Received 23.10.2024

Поступила после рецензирования / Revised 10.12.2024

Принята к публикации / Accepted 16.01.2025

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ / INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Бытов Максим Владимирович, аспирант, младший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0002-3622-3770>, bytovmaks@mail.ru

Осипова Юлия Алексеевна, студент, лаборант отдела геномных исследований и селекции животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0009-0009-8373-6921>, osipova.j2003@gmail.com

Юсупова Чулпан Рифовна, д-р биол. наук, старший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных, ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-2970-6528>, chulpan-galina@mail.ru

Зубарева Владлена Дмитриевна, младший научный сотрудник отдела геномных исследований и селекции животных ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН, г. Екатеринбург, Россия; <https://orcid.org/0000-0003-0284-0276>, zzub97@mail.ru

Maksim V. Bytov, Postgraduate Student, Junior Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0002-3622-3770>, bytovmaks@mail.ru

Yulia A. Osipova, Student, Laboratory Assistant, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0009-0009-8373-6921>, osipova.j2003@gmail.com

Chulpan R. Yusupova, Dr. Sci. (Biology), Senior Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-2970-6528>, chulpan-galina@mail.ru

Vladlena D. Zubareva, Junior Researcher, Department of Animal Genomics and Selection, Ural Federal Agrarian Scientific Research Center, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Ekaterinburg, Russia; <https://orcid.org/0000-0003-0284-0276>, zzub97@mail.ru

Вклад авторов: Бытов М. В. – проведение ассоциативных тестов, ПЦР-исследований, работа с литературой, подготовка текста, анализ и обобщение; Осипова Ю. А. – проведение ассоциативных тестов, ПЦР-исследований; Юсупова Ч. Р. – администрирование, редактирование текста, работа с литературой; Зубарева В. Д. – проведение ПЦР-исследований, подготовка текста.

Contribution of the authors: Bytov M. V. – association tests and PCR, literature searches, text preparation, literature analysis and synthesis; Osipova Yu. A. – association tests and PCR; Yusupova Ch. R. – administration, editing, literature searches; Zubareva V. D. – PCR, text preparation.