

УДК 636.2+636.082.2

06.02.10 – Частная зоотехния, технология производства продуктов животноводства (сельскохозяйственные науки)

ВЛИЯНИЕ BOLADRB3 ГЕНОТИПА БЫКОВ – ОТЦОВ НА МАСТИТОУСТОЙЧИВОСТЬ ИХ ДОЧЕРЕЙ

Кулешова Елена Алексеевна
к.б.н., ведущий научный сотрудник лаборатории селекционного контроля качества молока
РИНЦ SPIN – код: 6112-9654
E-mail: mollab78@mail.ru
ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», 350055, г. Краснодар, п. Знаменский, ул. Первомайская 4

Ковалюк Наталья Викторовна
д.б.н., заведующая лабораторией биотехнологии,
РИНЦ SPIN – код: 8684-4923 AuthorID: 0000-0002-9890-2269
E-mail: nvk1972@yandex.ru
ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», 350055, г. Краснодар, п. Знаменский, ул. Первомайская 4

Якушева Людмила Ивановна
канд. биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории биотехнологии, ФГБНУ
РИНЦ SPIN-код :8132-7948
E-mail: lydmila.yakusheva@mail.ru
«Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», 350055, г. Краснодар, п. Знаменский, ул. Первомайская 4

Бондаренко Маргарита Викторовна
научный сотрудник лаборатории селекционного контроля качества молока,
E-mail: mollab78@mail.ru
ФГБНУ «Краснодарский научный центр по зоотехнии и ветеринарии», 350055, г. Краснодар, п. Знаменский, ул. Первомайская 4

С помощью метода ДНК – типирования животных изучен генетический полиморфизм аллелей гена BoLADRB3 и их связей с признаками молочной продуктивности, содержанием соматических клеток и устойчивостью к маститу. Установлено соответствие генотипов дочерей генотипам отцов. Генотипирование здоровых и больных животных показало равномерное распределение аллелей. В группе здоровых животных отмечено преобладание аллелей BoLADRB3 – 1; 3; 11; 20; 21; 22; 28. В группе переболевших маститом животных - преобладание аллелей BoLADRB3 – 8; 16; 24; 27. Установлены частоты встречаемости устойчивых (У), чувствительных (Ч) и нейтральных (Н) аллелей. Установлена частота встречаемости разных

UDC 636.2+636.082.2

06.02.10 - Private zootechnics, technology of production of animal products (agricultural sciences)

INFLUENCE OF BOLADRB3 GENOTYPE OF BULL-FATHERS ON THE MASTITIS STABILITY OF THEIR DAUGHTERS

Kuleshova Elena Alekseevna
Cand.Biol.Sci., leading researcher, laboratory of selection control of milk quality,
RSCI SPIN - code: 6112-9654
E-mail: mollab78@mail.ru
Krasnodar scientific center for animal science and veterinary medicine, 350055, Krasnodar, Russia

Kovalyuk Natalia Viktorovna
Dr.Sci.Biol., head of the laboratory of biotechnology
RSCI SPIN – code: 8684-4923 AuthorID: 0000-0002-9890-2269
E-mail: nvk1972@yandex.ru
Krasnodar scientific center for animal science and veterinary medicine, 350055, Krasnodar, Russia

Yakusheva Lyudmila Ivanovna
Cand.Biol.Sci., senior researcher, laboratory of biotechnology,
RSCI SPIN-code: 8132-7948
E-mail: lydmila.yakusheva@mail.ru
Krasnodar scientific center for animal science and veterinary medicine, 350055, Krasnodar, Russia

Bondarenko Margarita Viktorovna
research associate, laboratory of selection control of milk quality
E-mail: mollab78@mail.ru
Krasnodar scientific center for animal science and veterinary medicine, 350055, Krasnodar, Russia

The article studies the genetic polymorphism of alleles of the BoLADRB3 gene using the method of animal DNA typing and their associations with signs of milk productivity, somatic cell content and resistance to mastitis. The genotypes of daughters correspond to the genotypes of fathers. Genotyping of healthy and sick animals showed a uniform distribution of alleles. In the group of healthy animals, the predominance of BoLADRB3 alleles was noted – 1; 3; 11; 20; 21; 22; 28. In the group of animals with mastitis, the predominance of alleles BoLADRB3-8; 16; 24; 27. et the frequency of stable (From), sensitive (H) and neutral (N) alleles the frequency of occurrence of different genotypes in patients with mastitis and healthy - daughter cows

генотипов у больных маститом и здоровых коров - дочерей

Ключевые слова: АЙРШИРСКАЯ ПОРОДА, СЕЛЕКЦИЯ, БЫКИ - ПРОИЗВОДИТЕЛИ, ГЕНОТИПИРОВАНИЕ, МАСТИТОУСТОЙЧИВОСТЬ

Keyword: AYRSHIRE BREED, BREEDING, BULLS-PRODUCERS, GENOTYPING, MASTITIS RESISTANCE

<http://dx.doi.org/10.21515/1990-4665-163-018>

Введение

Болезни молочной железы крупного рогатого скота представляют серьезную проблему животноводства. Мастит распространен во всех странах с развитым скотоводством. В большинстве стран мира, в том числе и у нас, болезни вымени занимают второе место среди заболеваний, нанося большой экономический ущерб.

Заболевание маститом возникает в результате снижения резистентности тканей молочной железы. К предрасполагающим факторам возникновения маститов можно отнести индивидуальные, генетически обусловленные особенности организма коров и врожденные аномалии (добавочные соски, неправильная форма вымени и сосков). Существует наследственная устойчивость к маститам. Она определяется не только местной устойчивостью тканей вымени к раздражающим факторам и микробам, способным вызвать воспалительный процесс, но и другими особенностями организма коров в целом, обуславливающим высокую общую резистентность [1,2]. Существуют межпородные различия в предрасположенности к заболеванию маститом, а также различия по резистентности к отдельным возбудителям болезни. Так, по данным авторов уровень заболеваемости маститом у голштинского скота может достигать до 58-65 %, заболеваемость коров симментальской породы 25 – 28 %, бурой латвийской породы – 29%, у коров холмогорской породы – 12 – 15 %, у айрширского скота отмечена более низкая заболеваемость 4 - 6 %, в то же время коровы айрширской породы более восприимчивы к маститу, чем коровы финской породы. У буйволиц и зебу частота маститов

<http://ej.kubagro.ru/2020/09/pdf/18.pdf>

меньше, чем у коров молочных пород, у них уровень заболеваемости составляет 0,5 – 1 % особей [3].

Большое влияние на предрасположенность к заболеванию маститом оказывают отдельные производители, принадлежность к отдельным линиям и семействам. В некоторых стадах от больных маститом матерей получают в 1,5-2 раза больше больных дочерей, чем от здоровых матерей. Существуют различия по заболеваемости у дочерей разных отцов [3]. Заболеваемость дочерей от передающих устойчивость быков составляет 5 - 15 %, передающих восприимчивость 20 - 50 %. Коэффициент наследуемости устойчивости и восприимчивости коров к маститу находится в пределах 0,05 - 0,80 [4, 5].

Основная проблема в селекции крупного рогатого скота на устойчивость к маститам - длительность оценки коров, на которую может уходить несколько лет. В связи с этим актуальны поиски признаков, маркирующих устойчивость или предрасположенность коров к маститам, причем таких, которые бы при достаточной надежности позволяли резко сокращать сроки оценки.

Наиболее приемлемой характеристикой признака – устойчивость к маститам - может быть оценка по средней частоте заболеваемости семейств и потомства отдельных производителей с учетом генетических маркеров. Существуют и изучаются гены, возможно связанные с устойчивостью коров к маститам. Наиболее широко изучены гены главного комплекса гистосовместимости коров, определяющие устойчивость коров к заболеванию маститом. Генами – кандидатами на роль генов - устойчивости могут претендовать: ген главного комплекса гистосовместимости класса 2 *BoLADRB3* [7]. Антигены гистосовместимости несут генетическую информацию степени чувствительности организма к этиологическим факторам многих патологий, свойственных популяции. Обнаружение положительных

ассоциаций некоторых антигенов BoLA-системы с маститами будет способствовать занесению их в список BoLA - зависимых заболеваний [3]. Гены главного комплекса гистосовместимости коров (BoLA) являются наиболее изученными.

Первые оригинальные исследования по ДНК-полиморфизму генов BoLA главного комплекса гистосовместимости и изучению связи отдельных аллельных вариантов с восприимчивостью коров к маститу проводились в России [8,11].

Таким образом, остается актуальной проблема поиска признаков, маркирующих устойчивость или предрасположенность коров к маститам, причем таких, которые бы при достаточной надежности позволяли резко сокращать сроки оценки животных. Одним из методов раннего выявления резистентных к маститам животных является анализ полиморфизма гена BoLADRB3 у коров айрширской породы, а также выявление связи его аллелей с заболеванием маститом. Следует помнить, что связи между восприимчивостью даже к одной и той же болезни, но у разных пород животных, не носят постоянный характер, то есть не имеют одного и того же генетического маркера, что, возможно, может быть связано с отсутствием генетического сцепления при полигенном наследовании болезней. Поэтому поиск генетических маркеров больных и здоровых животных в конкретном стаде крупного рогатого скота, приобретает особое практическое значение для создания стада с устойчивыми к заболеванию вымени животными.

Материал и методы исследований

Целью исследований являлось проведение анализа полиморфизма гена BoLADRB3 у крупного рогатого скота айрширской породы, и установление возможной связи его аллелей с заболеванием коров маститом. Методом ДНК – типирования животных по аллелям BoLADRB3, изучен генетический полиморфизм аллелей гена и их связей с

признаками молочной продуктивности, содержанием соматических клеток и устойчивости к маститу. Для генотипирования по локусу BoLADRB3 были отобраны 60 коров- дочерей от 13 быков – производителей. Были сформированы две группы разновозрастных коров, по 30 голов в каждой, с учетом происхождения животных. В первую группу вошли коровы не болевшие маститом, во вторую группу у которых регистрировались случаи заболевания вымени. Материалом для исследований служила кровь коров. Генотипирование по локусу BoLADRB3 было проведено на базе лаборатории биотехнологии животных ФГБНУ КНЦЗВ, на лабораторном оборудовании, по принятым методикам. Для выделения ДНК, постановки ПЦР, ПДРФ-анализа, электрофореза применялись описанные в литературе методики [10,11]. Статистическая обработка результатов производилась по стандартным методикам с использованием программных возможностей MicrosoftExcel.

Первичную обработку данных производили в программе на основе шаблона MicrosoftExcel (BoLA– статистика), разработанной лабораторией биотехнологии ФГБНУ КНЦЗВ (Ковалюк Н.В.). Программа после внесения данных по генотипам быков и коров автоматически определяет частоты встречаемости генотипов (в абсолютных и относительных значениях), аллелей (по группам и разновидностям), позволяет сортировать животных по генотипам и определять достоверность различий с использованием критерия Стьюдента. Одновременно у отобранных коров - дочерей проводили учет молочной продуктивности, изучали качественные показатели молока с использованием автоматизированного молочного комплекса «Лактан 700», осуществляли подсчет количества соматических клеток на вискозиметрическом анализаторе молока «Соматос-М».

Результаты исследований

Животные в стаде являются потомками 30 быков – производителей

айрширской породы, принадлежащих 7 линиям. Уровень заболеваемости маститом в хозяйстве за период наблюдений находится в пределах 8 – 10 % от общего числа лактирующих животных. Потомство этих быков насчитывает порядка 566 коров разного возраста, с различным уровнем продуктивности, отличающихся между собой по заболеваемости молочной железы. В потомстве каждого быка имеются дочери, которые перенесли мастит и не однократно, а также дочери, которые не болели маститом.

Проведение генотипирования можно считать проверкой качества ведения племенного учёта. Методы ДНК-анализа используются в генетической экспертизе племенного материала [6]. Как было отмечено выше, ген *BoLADRB3* может быть представлен в популяции достаточно большим количеством аллелей. Это дает возможность использовать генотипирование по *BoLADRB3* для определения происхождения животных. Генотип быка представлен двумя аллелями этого гена. В процессе образования гамет половина спермиев становится носителем одного аллеля, а половина – другого. Каждая из дочерей должна унаследовать один из аллелей изначального генотипа родителя. В хозяйстве установлено соответствие генотипов дочерей генотипам отцов. Так как от *BoLADRB3* генотипа зависит наследственная предрасположенность к развитию ряда заболеваний, снижение генетического разнообразия по этому локусу может стать причиной ограничений иммунного ответа у отдельных животных и стад в целом, что приводит к возникновению ряда заболеваний, в том числе к маститу. Результаты генотипирования здоровых и больных животных показали равномерное распределение аллелей, что говорит о правильном подборе животных в группах. При этом в группе здоровых животных отмечено преобладание аллелей *BoLADRB3* - 1; 3; 11; 20; 21; 22; 28. В группе переболевших маститом животных отмечено преобладание аллелей *BoLADRB3* – 8; 16; 24; 27. Частота встречаемости устойчивых аллелей в

данном стаде у здоровых животных в сумме BoLADRB3 -11 и 28 аллели составила 28,33 %, у переболевших маститом - 25,0 %. При этом, уровень чувствительных аллелей был несколько ниже, и составил у здоровых животных 26,67 %, и у переболевших - 23,23 %.

По BoLADRB3 - структуре стада легко определить, с какими положительными и отрицательными явлениями можно столкнуться. В таблице приведены данные по частотам встречаемости генотипов по локусу BoLADRB3 у здоровых и больных маститом коров.

Так, наличие большого числа животных с генотипом Ч\Ч, Н\Ч – явный признак высокого генетического потенциала продуктивности и низкой резистентности животных. Преобладание в стаде Н\У генетики говорит о неплохом здоровье и о проблемах с количественными показателями продуктивности. В наших исследованиях встречаемость генотипа Н\У у здоровых животных достоверно было выше, чем у больных маститом коров и составило 36,6 %.

Таблица 1 - Результаты генотипирования больных маститом и здоровых айрширских коров

Генотип	Больные маститом (n=30)		Здоровые (n=30)	
	Количество животных	Частота встречаемости, %	Количество животных	Частота встречаемости, %
(Н\Н)	10	33,33	4	13,33
(Н\Ч)	6	20,00	8	26,67
(Ч\Ч)	1	3,33	2	6,67
(У\У)	2	6,67	1	3,33
(Н\У)	5	16,67	11	36,67
(У\Ч)	6	20,00	4	13,33
Аллель				
Н	21	51,67	23	45,00
Ч	13	23,33	14	26,67
У	13	25,00	16	28,33

Генотипирование по локусу BoLADRB3 переболевших маститом коров была установлена частота встречаемости генотипа Н\Н у 10 животных, что составило 33,33 %, генотип Н\Ч у 6 коров – 20,0 %, генотип

Ч\Ч у 1 коровы – 3,33 %, генотип У\У у 2 коров – 6,67 %, генотип Н\У у 5 коров – 16,67 %, генотип У\Ч у 6 животных – 20,0 %. Среди здоровых животных частота встречаемости Н\Н генотипа составила 13,33 %, Н\Ч – 26,67 %, генотип Ч\Ч был у 2 коров, что составило 6,67 %, генотип У\У – 3,33 %, Н\У – у 11 животных, что составило 36,67 %, генотип У\Ч у 4 животных – 13,33 %. Таким образом, частота встречаемости нейтральных (Н) аллелей у больных маститом животных составила 51,6 %, у здоровых 45,0 %, эти аллели как правило не ассоциируются ни с устойчивостью, ни с чувствительностью к заболеваниям. Чувствительные (Ч) аллели, напротив, оказались выше в выборке здоровых животных 26,6 %, против 23,3 % у больных маститом коров. Частота встречаемости устойчивых аллелей (У) у здоровых животных составила 28,3 %, у больных 25,0 %. Наличие устойчивых аллелей в генотипе коров определяет устойчивость к развитию ряда заболеваний, в том числе к маститу.

Таким образом, определена достоверная разница по частоте встречаемости генотипов Н\Н и Н\У у больных маститом и здоровых животных. У больных маститом генотип Н\Н имели 10 животных – 33,3 %, а у здоровых всего 4 коровы имели генотип Н\Н – 13,3 %. Одновременно с этим желательный генотип Н\У был всего у 5 больных коров – 16,6 %, и у 11 здоровых животных – 36,6 %.

Выводы

В результате исследований получены новые данные по генетической структуре стада айрширских коров по локусу BoLADRB3. Частота встречаемости устойчивых аллелей в данном стаде у здоровых животных составила 28,33 %, у переболевших маститом 25,0 %. При этом уровень чувствительных аллелей был несколько ниже, и составил у здоровых животных 26,67 % и у переболевших – 23,23 %. Установлено влияние BoLADRB3 генотипа животного на предрасположенность к заболеванию

вымени. Определена достоверная разница по частоте встречаемости генотипов Н\Н и Н\У у больных маститом и здоровых животных.

Таким образом, увеличение доли животных с генотипом Н/У (путем подбора быков – производителей – носителей устойчивых аллелей), по всей видимости, будет способствовать снижению заболеваемости маститом в стаде.

Библиографический список

1. Батраков, А. Комплексные мероприятия, направленные на профилактику мастита у коров / А. Батраков, А. Костяков, С. Ещенко // Ветеринария сельскохозяйственных животных. – 2010. - № 12. – С. 10 - 12.
2. Белкин, Б.Л. Мастит коров: этиология, патогенез, диагностика, лечение и профилактика / Б.Л. Белкин, Л.А. Черепяхина, В.М. Сотникова, Т.В. Попкова, Е.Н. Скребнева.// Орел: Орел ГАУ. - 2007. – С. 216.
3. Генджијева, О. Б. Полиморфизм гена BoLA-DRB3 у крупного рогатого скота монгольской, калмыцкой и якутской пород /, О. Б. Генджијева, Г. Е. Сулимова// Генетика. - 2010. - Том 46 - №4. –С. 517 - 525.
4. Меркурьева, Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве /Е.К. Меркурьева.// - М.: Колос. - 1977. - С. 133 - 161.
5. Муравья, Л.Н. Влияние генотипа родителей на заболеваемость айрширских коров маститом / Л.Н. Муравья // Актуальные проблемы биологии и рациональное природо использование.- Тезисы докладов. – Петрозаводск. - 1990. – С. 74 – 76.
6. Новиков, А.А. Генетическая экспертиза племенного материала / А.А. Новиков, Н.Н. Романенко // Зоотехния. 2001.-№7. - С. 14-17.
7. Сацук, В.Ф. Способ повышения гетерогенности по локусу BoLADRB3 в стадах крупного рогатого скота /В.Ф. Сацук, Н.В. Ковалюк, А.Е. Волченко// Проблемы биологии продуктивных животных.- 2011. - №4. - С. 126 - 129.
8. Сулимова, Г.Е. ДНК-полиморфизм гена BoLA-DRB 3 у крупного рогатого скота в связи с устойчивостью и восприимчивостью к лейкозу / Г.Е. Сулимова, И.Г. Удина, Г.О. Шайхаев, И.А. Захаров // Генетика. 1995. -№. 9.-С. 1294-1299
9. Херингтон, С. Молекулярная клиническая диагностика / С. Херингтон, Дж. Макги // Методы. С. Херингтон и др.: М.: Мир - 1999. С- 558.
10. Van Eijk, M.J.T. Extensive polymorphism of the BoLA DRB 3 gene distinguished PCR-RFLP / M.J.T. Van Eijk, J.A. Stewart-Haynes, H.A. Lewin // Anim. Genet. 1992. V.-23. - P.483 – 496
11. Zanotti, M. Association of BoLA class II haplotypes with subclinical progression of bovine leukaemia virus infection in Holstein Friesian cattle / M. Zanotti et al. // Anim. Genet. -1996. - 27. - P.337 - 341

References

1. Batrakov, A. Kompleksnyye meroprijatija, napravlennyye na profilaktiku mastita u korov / A. Batrakov, A. Kostjakov, S. Eshhenko // Veterinarija sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh. – 2010. - № 12. – S. 10 - 12.

2. Belkin, B.L. Mastit korov: jetiologija, patogenez, diagnostika, lechenie i profilaktika / B.L. Belkin, L.A. Cherepahina, V.M. Sotnikova, T.V. Popkova, E.N. Skrebneva.// Orel: Orel GAU. - 2007. – S. 216.
3. Gendzhieva, O. B. Polimorfizm gena BoLA-DRB3 u krupnogo rogatogo skota mongol'skoj, kalmyckoj i jakutskoj porod /, O. B. Gendzhieva, G. E. Sulimova// Genetika. - 2010. - Tom 46 - №4. –S. 517 - 525.
4. Merkur'eva, E.K. Geneticheskie osnovy selekcii v skotovodstve /E.K. Merkur'eva.// - M.: Kolos. - 1977. - S. 133 - 161.
5. Murav'ja, L.N. Vlijanie genotipa roditelej na zaboлеваemost' ajrshirskih korov mastitom / L.N. Murav'ja // Aktual'nye problemy biologii i racional'noe prirodno ispol'zovanie.- Tezisy dokladov. – Petrozavodsk. - 1990. – S. 74 – 76.
6. Novikov, A.A. Geneticheskaja jekspertiza plemennogo materiala / A.A. Novikov, H.H. Romanenko // Zootehnija. 2001.-№7. - S. 14-17.
- 7 Sacuk, V.F. Sposob povyshenija geterogenosti po lokusu BoLADRB3 v stadah krupnogo rogatogo skota /V.F. Sacuk, N.V. Kovaljuk, A.E. Volchenko// Problemy biologii produktivnyh zhivotnyh.- 2011. - №4. - S. 126 - 129.
8. Sulimova, G.E. DNK-polimorfizm gena BoLA-DRB 3 u krupnogo rogatogo skota v svjazi s ustojchivost'ju i vospriimchivost'ju k lejkozu / G.E. Sulimova, I.G. Udina, G.O. Shajhaev, I.A. Zaharov // Genetika. 1995. -№. 9.-S. 1294-1299
9. Herington, S. Molekuljarnaja klinicheskaja diagnostika / S. Herington, Dzh. Makgi // Metody. S. Herington i dr.: M.: Mir - 1999. S- 558.
10. Van Eijk, M.J.T. Extensive polymorphism of the BoLA DRB 3 gene distinguished PCR-RFLP / M.J.T. Van Eijk, J.A. Stewart-Haynes, H.A. Lewin // Anim. Genet. 1992. V.-23. - P.483 – 496
11. Zanotti, M. Association of BoLA class II haplotypes with subclinical progression of bovine leukaemia virus infection in Holstein Friesian cattle / M. Zanotti et al. // Anim. Genet. -1996. - 27. - P.337 - 341