

народженні. Тези допов. наукової конференції Полтавської обласної сільськогосподарської дослідної станції. 1967. С. 96-97.



Мохначова Наталія
молодший науковий співробітник
Науковий керівник: д.с.-г.н., професор Супрович Т. М.
ІРТГ ім. М.В.Зубця НААН
Чубинське, Київська обл., Україна

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА *BoLA-DRB3.2* У ВІТЧИЗНЯНИХ ПОПУЛЯЦІЯХ СІРОЇ УКРАЇНСЬКОЇ ПОРОДИ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Розведення великої рогатої худоби – це галузь тваринництва, яка виробляє широкий спектр продукції і володіє величезними генетичними ресурсами. У світі налічується близько тисячі порід великої рогатої худоби, але найбільшого поширення набули 250. В Україні ж розводять 11 порід молочного напрямку продуктивності, 7 комбінованого і 13 м'ясного, що обумовлено також різноманітністю природно-кліматичних зон нашої держави [1, 2]. На жаль, за останні десятиліття багато порід ВРХ знаходяться на межі зникнення.

Тривалість існування породи залежить від інтенсивності її використання. Одні породи використовуються сотні років, у результаті селекційно-племінної роботи їхня продуктивність зростає й розширюються зони їх розведення. Інші втрачають своє значення і поступово зникають. Але частина їх продовжує використовуватися як генофонд для виведення нових порід. До таких зникаючих (аборигенних) відноситься сіра українська порода, яка у ХІХ ст. вважалася найбільш поширеною в Україні. На її основі створено: червону степову, лебединську, буру карпатську, вона також була використана для виведення української м'ясної породи [3, 4, 5]. Незначна кількість чистопородного поголів'я сірої української породи збережена в племінних господарствах «Поливанівка» Дніпропетровської області та «Асканія-Нова» Херсонської області.

На сьогоднішній день проблема збереження генофонду сільськогосподарських тварин є дуже актуальною. Необхідно зберігати та підтримувати в нормальному стані всі наявні в Україні породи великої рогатої худоби, але особливу увагу слід звертати на аборигенні породи. Місцеві (локальні, аборигенні) породи володіють унікальними біологічними якостями і здатні виробляти різні види продукції в певних природно-кліматичних умовах, через закріплення в спадковості адаптації до цих умов. Аборигенні породи часто є носіями рідкісних і зникаючих генів, які відсутні у заводських порід. Особливо цікавими є гени, які беруть участь у формуванні резистентності тварин до постійно еволюціонуючих збудників захворювань.

Метою досліджень був аналіз поліморфізму гену *BoLA-DRB3* у популяціях сірої української породи великої рогатої худоби. Ген *BoLA-DRB3* кодує антигени класу II

головного комплексу гістосумісності ВРХ. Молекули класу II розташовуються на поверхні В-клітин, які після внутрішньоклітинного процесингу представляють чужорідні антигени Т-клітинам для забезпечення імунної відповіді гуморального типу. На сьогодні методом ПЛР-ПДРФ описано 54 алелі даного гена, методом секвенування - понад сто. Висока алельна різноманітність даного гена обумовлена необхідністю зв'язування широкого спектра чужорідних антигенів. Встановлено асоціації деяких алельних варіантів даного гена з резистентністю до таких захворювань, як лейкоз, мастит, цистит, дерматофілоз, тейлеріоз, шкірному захворюванню, що викликається іксодовими кліщами *Boophilus microplus* [6,7,8].

Лабораторні роботи виконувались на базі лабораторії генетики Інституту розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН. Об'єктом для дослідження були корови сірої української породи, які розводяться в дослідних господарствах господарств ДП ДГ «Маркеєво» ІТСР ім. М.Ф. Іванова НААН Асканія-Нова» - ННСГЦВ (133 гол.) Херсонська обл., Чаплинський р-н та ДП «ДГ «Поливанівка» ДУ ІЗК НААН (40 гол.) Дніпропетровської обл. Магдалинівський р-н. Біологічним матеріалом для дослідження була кров. Відбір крові здійснювався з яремної або хвостової вени в стерильні пробірки з розчином цитрату натрію. Виділення ДНК із цільної крові проводили з використанням стандартного комерційного набору «ДНК-сорб-В» (виробництво АмпліСенс, ЦНП епідеміології МЗ РФ, Росія).

Ампліфікацію фрагменту екзона 2 гену BoLA-DRB3 проводили в два етапи з використанням праймерів:

HLO-30(5'-3':TCCTCTCTCTGCAGCACATTTCC);

HLO-31(5'-3':ATTTCGCGCTCACCTCGCCGCT);

HLO-32(5'-3':TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC);

Для рестрикційного аналізу продуктів ампліфікації використовували ендонуклеази RsaI, HaeIII і BstYI (XhoII) при оптимальних для кожного ферменту умовах. Електрофорез проводили в 6%-ому або 9%-омуполіакриламідному гелі в трисборатному буфері. Візуалізацію виконували на транслюмінаторі в УФ світлі при довжині хвилі 380 нм після забарвлення гелю етидієм бромідом. Розміри отриманих в ПЛР, або в результаті рестрикції продуктів виявляли за допомогою маркеру молекулярних мас O'RangeRuler 10 bp DNA Ladder, ready-to-use, «Fermentas». Детекцію рестрикційних фрагментів проводили фотографуванням гелів цифровою камерою.

Результати отримані в експериментальних дослідженнях опрацьовували методом популяційно-генетичного і біометричного аналізу з використанням «GENAlex 6», «Statistica» [9].

Ген BoLA-DRB3 є високо поліморфним, що дозволяє використовувати його як маркер генетичного різноманіття порід великої рогатої худоби. У нашій роботі алельний поліморфізм гену BoLA-DRB3, який в основному визначається варіабельністю екзону 2, ми використовували для аналізу генетичного різноманіття сірої української породи великої рогатої худоби.

Досліджені популяції різнилися як за спектром алелей гену BoLA-DRB3, так і за розподілом їх частот. Найбільш високу різноманітність спектру алелей гену BoLA-DRB3 (26 алелів) було виявлено в ДП ДГ «Маркеєво» ІТСР ім. М.Ф. Іванова НААН Асканія-Нова» - ННСГЦВ Чаплинський р-н, Херсонська обл. У сірої худоби ДП «ДГ «Поливанівка» ДУ ІЗК НААН Дніпропетровської обл. Магдалинівський р-н виявлено

12 алелів.

Для сірої української породи притаманний неоднорідний профіль частот алелів: на долю п'яти (DRB3.2 *15, *16, *24, *14 та *jba) із 26 виявлених алелів припадає 66 % у ДП ДГ «Маркеєво». Це свідчить про низьку генетичну різноманітність у породі. Розподіл алелів гену BoLA-DRB3 у ДП ДГ «Поливанівка» схожий з ДП ДГ «Маркеєво», тут на долю трьох алелів припадає 83,8% від усього різноманіття (BoLA-DRB3 *16, *12 та *06) (Рис.1). Найбільш широко представлений алель DRB3.2 *16 (41% і 43,8% відповідно).

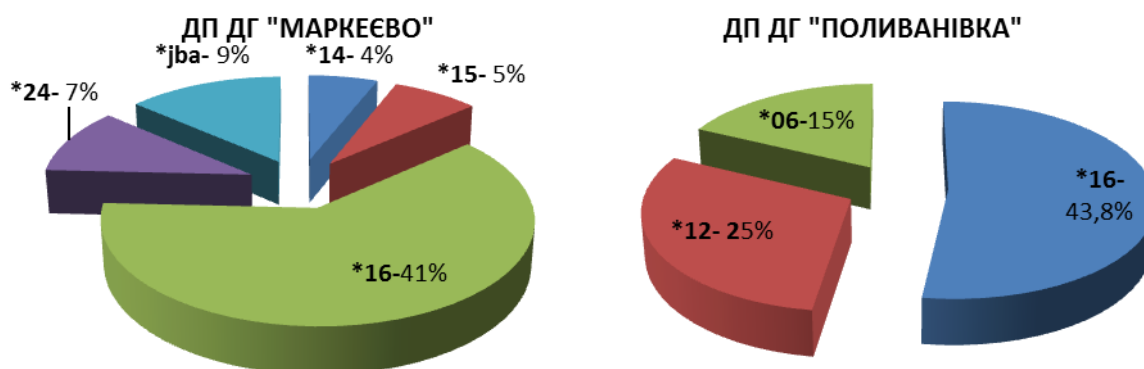


Рис. 1. Алельний спектр гену BoLA-DRB3.2 у популяціях сірої української породи

На сьогодні за допомогою полімеразної ланцюгової реакції виявлено 54 алеля на основі яких визначають генотипи тварин. За звичай, високий рівень алельної різноманітності гена BoLA-DRB3 зумовлює широкий діапазон можливих генотипів. У вивчених популяцій сірої худоби виявлений невисокий рівень різноманітності BoLA-DRB3 генотипів: у тварин ДП ДГ «Маркеєво» визначено 28 генотипів, а у корів ДП ДГ «Поливанівка» - 16 генотипів. При цьому в обох популяціях з високою частотою представлений генотип *16/*16 (18% та 20% відповідно) (табл. 1).

Таблиця 1

Частота переважаючих BoLA-DRB3-генотипів у сірої української породи

Порода	Число генотипів	Число генотипів >5%	Переважаючі генотипи	Число генотипів <5%	Загальна частота генотипів с<5%
ДП ДГ «МАРКЕЄВО»					
Сіра українська порода	28	4	*16/*16 - 18% *16/*24 - 10% *jba /*16 - 6% *15/*16 – 6%	24	60%
ДП ДГ «ПОЛИВАНІВКА»					
Сіра українська порода	16	4	*12/*16 – 25% *16/*16 - 20% *06/*16 - 12% *06/*12 – 7,5%	12	35,5%

Результати досліджень свідчать, що частота виявлення гену *BoLA-DRB3* в популяціях сірої української породи ВРХ: 1. У тварин ДП ДГ «Маркеєво» виявлено 26 алелів, а у корів ДП ДГ «Поливанівка» - 12 алелів. 2. В результаті досліджень у худоби ДП ДГ «Маркеєво» визначено 28 *BoLA-DRB3*-генотипів, а в ДП ДГ «Поливанівка» - 16 *BoLA-DRB3*-генотипів. 3. В обох популяціях з високою частотою представлений генотип *16/*16 (18% та 20% відповідно). 4. Неоднорідний профіль частот алелів свідчить про низьку генетичну різноманітність у породі.

Список використаних джерел

1. Карасюк І. М., Єщенко В. О., Господаренко Г. М. та ін. Технологія виробництва продукції сільського господарства. Київ : Вища школа, 1993. 207 с.
2. Ярош Ю. М., Трусів Б. А. Технологія виробництва сільськогосподарської продукції. Київ : Український Центр духовної культури, 2005. 524 с.
3. Козирь В.С. Сіра українська худоба: минуле, сучасне, майбутнє. Дніпропетровськ. 2008. С.5.
4. Зубець М. В., Буркат В. П., Мельничук Д. О., Костенко О. І., Мельник Ю. Ф. та ін. Доповідь про стан генетичних ресурсів тваринництва України. К., 2003. 72 с.
5. Зорін І. Г. Сіра українська порода. К. : Держсільгоспвидав, 1953. 129 с.
6. *BoLA-DRB* genotypes associated with resistance and susceptibility to persistent lymphocytosis (PL) in a herd of bovine leukemia virus-infected Holstein cows. M.J. Van Eijk, A. Xu, H.A. Lewin, N.E. Muggli-Cocket. *FASEB J.* 1991. V.5. №5:A984.
7. Association of *BoLA-DRB3* alleles identified by a sequence-based typing method with mastitis pathogens in Japanese Holstein cows. T. Yoshida, H. Mukoyama, H. Furuta [et al.]. *Anim. Sci. J.* 2009. V.80. №5. P.498-509.
8. Супрович Т.М. Поліморфізм алелів гена *BoLA-DRB3* на прикладі українських чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід. *Наук. вісн. НУБіП.* 2013. Вип. 188. Ч. 4. С. 144-152.
9. Gilliespie B. E., Jayarao B. M., Dowlen H. H., Oliver S. P. Analysis and frequency of bovine lymphocyte antigen *DRB3.2* alleles in Jersey cows. *J. Dairy Sci.* 1999. 82. Pp. 2049-2053.

