

О. В. Данчук, Т. І. Приступа та інші / під ред. В. В. Данчука. – Кам'янець-Подільський, 2015. – 39 с.



**Колінчук Руслан**

аспірант

*Науковий керівник: д.с-г. н., професор Супрович Т. М.*

Подільський державний аграрно-технічний університет

м. Кам'янець-Подільський

### **РОЗПОДІЛ АЛЕЛІВ ГЕНА *VoLA-DRB3.2* У КОРІВ У ЗВ'ЯЗКУ ІЗ ЗАХВОРЮВАННЯМ НА НЕКРОБАКТЕРІОЗ**

Некробактеріоз великої рогатої худоби є поширеним захворюванням у світі, яке спричиняє суттєві економічні збитки в молочному скотарстві. В Україні за останні роки кількість господарств залучених у епізоотичний ланцюг збільшується. Причини фузобактеріозу у тварин мають багатофакторний характер: порушення норм годівлі або зміна її типів, несприятливі умови утримання корів, імпортування худоби і проведення інтенсивної голштинізації українських порід з метою покращення надоїв [1; 2].

Доведено, що генетичний вплив на прояв факторних інфекцій може бути у межах до 15-20%. Тому, поряд із лікувально-профілактичними заходами ведуться наполегливі пошуки маркерів, що ґрунтуються на генетичній стійкості тварин до захворювань. До таких маркерів належать гени головного комплексу гістосумісності – генетичної системи, що обумовлює імунореактивність організму в цілому. Гени класу II ГКГ, найбільше залучені у асоціації до захворювань. Функції антигенів класу II полягають в тому, щоб представити чужорідні білки (після внутрішньоклітинного процесінгу) Т-клітинам, які стимулюють відповідну імунну відповідь гуморального типу. На сьогодні методом ПЛР-ПДРФ описано 54 алеля *VoLA-DRB3.2*. Висока алельна різноманітність даного гена обумовлена необхідністю зв'язування широкого спектру чужорідних антигенів [3].

Метою досліджень було: вивчити поліморфізм алелів гена *VoLA-DRB3.2* у здорових і хворих некробактеріозом корів української чорно-рябої молочної породи та виявити алелі *DRB3.2* асоційовані із захворюванням.

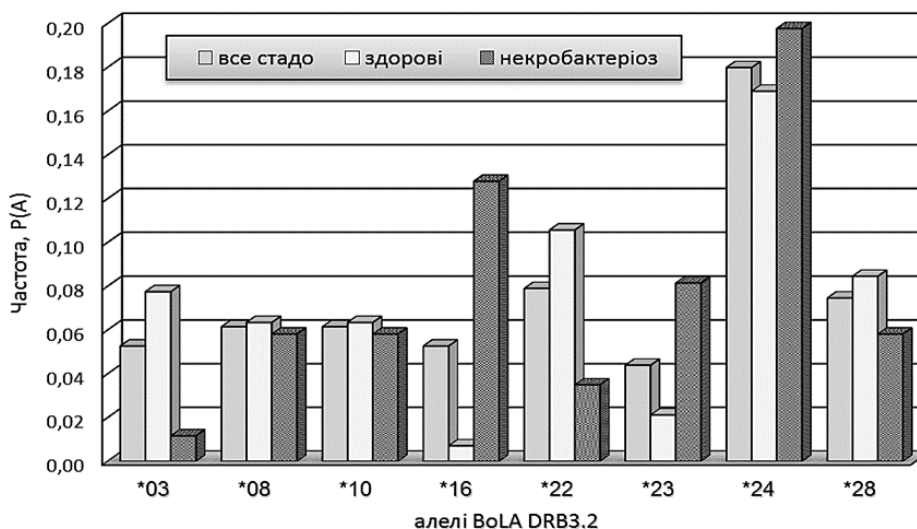
Дослідження проведено в племінному господарстві ТОВ «Козацька долина 2006» Дунаєвецького району Хмельницької області. Діагноз на некробактеріоз встановлювався на підставі епізоотологічних, клінічних та патологоанатомічних даних і результатів лабораторних досліджень. Для вивчення алельного різноманіття було відібрано проби крові від 114 корів (71 проба від здорових тварин і 43 – від хворих). Алельний спектр ексона 2 гена *VoLA-DRB3* вивчали за допомогою ПЛР. Виділення ДНК проводили з використанням наборів «DIAtom TMN APRep 200» фірми ТОВ «Лабораторія Ізоген» згідно з вимогами виробника. Ампліфікацію фрагмента ексона 2 гена *VoLA-DRB3* проводили з використанням набору «GenePak TM PCR Core» (IsogeneLab.ltd.). Використовували праймери – для першого раунду HLO-30 і HLO-31, для другого раунду HLO-30 і HLO-32. Характеристика праймерів: HLO-

30 (5'-3': TCCTCTCTCTGCAGCACATTTCC); HLO-31(5'-3': ATTCGCGCTCACCTCGCCGCT), HLO-32 (5'-3': TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC). Порівняння ДНК-патернів, отриманих з використанням трьох рестрикційних ендонуклеаз RsaI, HaeIII і BstYI, дає змогу ідентифікувати 54 алелі гена *BoLA-DRB3* [4].

За результатами дослідження встановлено, що у в загальній групі тварин визначається 32 алелі гена *BoLA-DRB3.2* з середньою частотою 3,57%. З частотою більшою ніж у 5% в загальній популяції виявлялися 7 алелів. Найбільш поширеним виявився алель *BoLA-DRB3.2\*24*, носіями якого є 18% тварин. Також, часто визначалися алелі \*22 (7,9%) та \*28 (7,5%). Поріг у 5% перевищили алелі *BoLA-DRB3.2*: \*08 і \*09 (по 6,1%), \*03 і \*16 (по 5,3%). Найменше з частотою 0,4% виявлялись алелі: \*06, \*25, \*31 та \*41.

У групі здорових корів найчастіше визначалися алелі екзона 2 *BoLA-DRB3\*24* (16,9%), \*22 (10,6%), \*28 (8,5%), \*03 (7,7%), \*08 та \*10 (6,3%). Зовсім в цій вибірці не виявлено наступні алелі: \*06, \*14, \*19, \*25 та \*51. У хворих на некробактеріоз тварин найбільш поширеними виявилися алелі: \*24 (19,8%), \*16 (12,8%), \*23 (8,1%), \*8, \*10 та \*28 (по 5,8%). Зовсім не зустрічалися алелі: \*1, \*11, \*21, \*31 та \*41.

У більшості досліджень автори вважають, що «інформативними» є алелі, які зустрічаються не менш як у 5% від усіх досліджених тварин [5]. У нашому дослідженні з частотою понад 5% хоча б в одній з дослідних вибірок визначається 8 алелів *BoLA-DRB3.2* (рис.1). Серед них виділяються 4 алеля, присутні у всіх трьох вибірках: \*08, \*10, \*24 і \*28. Ще два «інформативних» алеля визначаються більш ніж у кожній 20-ї тварини одночасно у здорових корів і в загальній вибірці: \*03 та \*22. Також два «інформативних» алеля виявлялися одночасно у хворих корів і в загальній вибірці: \*16 та \*23.



**Рис. 1. Алельний поліморфізм гена *BoLA* у здорових та хворих на некробактеріоз тварин**

За критерієм відносного ризику значимі асоціації зі схильністю чи стійкістю до некробактеріозу мають 11 алелів. На зв'язок із захворюваністю ( $RR \geq 2$ ) вказують 4 алеля, а саме: \*16 (24,1), \*18 (5,25), \*25 (5,04) і \*23 (4,41). Значимими за критерієм  $\chi^2$  є чотири алеля *BoLA-DRB3.2*, які мають достатній рівень достовірності для

досліджених біологічних об'єктів. Рівень довірчої ймовірності дослідження  $P = 0,999$  проявляє алель \*16 (16,6). Три алелі мають мінімальний поріг достовірності  $P = 0,95$ : \*03 (4,93), \*23 (4,86) і \*22 (4,03). На резистентність до некробактеріозу ( $RR \leq -2$ ) вказують 8 алелів: \*3 (- 7,7), \*21 (- 4,44), \*36 (- 3,87), \*22 (- 3,57), \*12 (- 3,18), \*1 та \*11 (- 3,13) і \*26 (- 2,51). Асоційованим із захворюванням вважається алель, для якого виконується умова  $RR \geq 2$  і  $\chi^2 > 3,8$ . Всього нараховується 2 таких алелі: \*16 ( $RR = 24,1$ ;  $\chi^2 = 16,6$ ), \*23 ( $RR = 4,41$ ;  $\chi^2 = 4,86$ ).

Асоційованим із резистентністю до захворювання вважається алель, для якого виконується умова  $RR \leq -2$  і  $\chi^2 > 3,8$ . Таких виявлено також 2 алелі: \*03 ( $RR = -7,7$ ;  $\chi^2 = 4,93$ ) та \*22 ( $RR = -3,57$ ;  $\chi^2 = 4,03$ ).

Таким чином, вивчення розподілу алелівекзона 2 гена BoLA-DRB3 у корів української чорно-рябої молочної породи здорових і хворих на некробактеріоз дозволили виявити два алелі (\*16 і \*23), які мають тісний зв'язок із схильністю і два алелі (\*03 і \*22), які асоціюються з резистентністю до даного захворювання.

#### Список використаних джерел

1. Вплив генотипових і паратипових факторів на захворювання кінцівок і ратиць у корів [Текст] / Г. О. Богданов, М. С. Гавриленко, Ю. П. Полупан, В. В. Шилофост; наук. ред. М. С. Гавриленка. – К.: Наук. світ, 2006. – С. 6-18.
2. Риженко, В. П. Основні причини виникнення некробактеріозу та захист від нього великої рогатої худоби в умовах сьогодення [Текст] / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк // Ветеринарна біотехнологія. – Вип. 14. – 2009. – С. 267-277.
3. Сулимова, Г. Е. ДНК-маркери в изучении генофонда пород крупного рогатого скота [Текст] / Г. Е. Сулимова // Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства. – М.: Наука, 2006. – С.138-166.
4. Сулимова, Г. Е. Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции [Текст]: Методическое пособие к практикуму «ДНК-маркеры для генетической паспортизации и улучшения геномов животных хозяйственноценных видов» / Г. Е. Сулимова, В. В. Зинченко. – М.: Из-во «Цифровичок», 2011. – 95 с.
5. Vaneijk, M. J. Extensive Polymorphism of the BoLA-DRB3 Gene Distinguished by PCR-RFLP [Text] / M. J. Vaneijk, J. A. Stewart-Haynes and J. E. Beever // Animal Genetics. – 1992. – Vol. 23 (6). – P. 483-496.



**Кузняк Галина**

к.с.-г.н., доцент

**Савчук Любов**

к.с.-г.н., доцент, в.о. завідувача кафедри

Подільський державний аграрно-технічний університет

м. Кам'янець-Подільський

## ПРОТЕЇНОВЕ ЖИВЛЕННЯ ПТИЦІ ТА ЙОГО ЗАЛЕЖНІСТЬ ВІД ВІКУ

Птахівництво – це галузь, яка дозволить швидко і з відносно незначними витратами кормів забезпечити необхідні об'єми виробництва. В основі цього лежать біологічні особливості птиці: швидкий темп росту, велика плодючість, інтенсивний обмін речовин, розвиток ембріонів поза організмом матері тощо.