

8. Peakall, R. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research / R Peakall, P. Smouse // *Molecular Ecology Notes*. – 2006. – Vol.6. – P. 288–295.

REFERENCES

1. Holovko, A. M., and V. O. Ushkalov. 2004. Esherykhiroz (kolibakterioz tvaryn) – Colibacteriosis (Animal Colibacteriosis). *Veterynarna medytsyna Ukrayiny – Veterinary Medicine of Ukraine*. 2:6–9 (in Ukrainian).

2. Titarenko, O. V. 2010. Lokalizatsiya enterobakteriy rodu Escherichia v orhanizmi svyney – Localization of enterobacteria of Escherichia genus in the pig organism. *Visnyk Poltavskoyi derzhavnoyi akademiyi – Bulletin of Poltava State Academy*. 2:111–113 (in Ukrainian).

3. Jorgensen, C. 2003. *Porcine polymorphisms and methods for detecting them*. US № 20060275763.

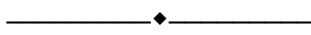
4. Loban, N., D. Kaspyrovych, and A. Chernov. 2011. Эффеkтыvност yспolzovаныа hena MUC4 v kachestve markera produktyvnykh kachestv svyney belorusskoy krupnoy beyoy porodu - Efficiency of Using gene marker MUC4 in productive qualities of Belarusian Large White pigs. *Ahrarnaya ekonomyka – Agrarian economy*. 6:57–62 (in Russian).

5. Ying, Liu, Xue Mei Yin, Ri Wei Xia, Yong Jiu Huo, Guo Qiang Zhu, Sheng Long Wu, and Wen Bin Bao. 2015. Association between the MUC4 g.243A > G polymorphism and immune and production traits in Large White pigs. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*. 39:141–146.

6. Konoval, O. M., S. O. Kostenko, V. H. Spirydonov, and S. D. Mel'nychuk. 2008. Molekulyarno-henetychnyy analiz heniv,asotsiyovanykh iz hospodars'ko korysnymy oznakamy svyni sviys'koyi (Sus Scrofa) – Molecular genetic analysis of genes associated with economically useful traits in Domestic pigs (Sus Scrofa). *Visnyk Ukrayins'koho tovarystva henetykiv i seleksioneriv – Bulletin of the Ukrainian Society of Geneticists and Breeders*. 6(2):240–243(in Ukrainian).

7. Sayenko, A. M., V. M. Balatsky, H. I. Syrovnyev, and V. T. Smetanin. 2012. Polimorfizm lokusiv FUT1 ta MUC4 u populyatsiyi svyney ukrayinskoyi myasnoyi porody selektsiyi Dnipropetrovskoho SHI – Polymorphisms in locis FUT1 and MUC4 in the population of Ukrainian Meety breed under selection of Dnipropetrovsk Agrarian Institute. *Svynarstvo – Swine breeding*. 60:76–79.

8. Peakall, R., and P. Smouse 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*. 6:288–295.



УДК 575:616.7:636.2.034

ВИЯВЛЕННЯ АЛЕЛІВ ГЕНА VOLA-DRB3.2, АСОЦІЙОВАНИХ З НЕКРОБАКТЕРІОЗОМ У КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

Т. М. СУПРОВИЧ, Т. М. КАРЧЕВСЬКА, Р. В. КОЛІНЧУК, В. П. МІЗИК

Подільський державний аграрно-технічний університет (Кам'янець-Подільський, Україна)

suprovycht@gmail.com

У статті приведено результати виявлення алелів гена VolA-DRB3.2, які мають виражений зв'язок із захворюванням корів української чорно-рябої молочної породи на некробактеріоз і можуть слугувати як ДНК-маркери даного захворювання.

Діагноз на некробактеріоз встановлювався на основі епізоотологічних, клінічних та

© Т. М. СУПРОВИЧ, Т. М. КАРЧЕВСЬКА,
Р. В. КОЛІНЧУК, В. П. МІЗИК, 2016

патологоанатомічних даних і результатів лабораторних досліджень. Зразки крові взято у 114 корів, з яких у 43 виявлено захворювання. Алельний спектр екзона 2 гена *BoLA-DRB3* вивчали за допомогою ПЛР. Всього визначалося 54 алеля. Алелі, які мають тісний зв'язок зі сприйнятливістю або стійкістю до некробактеріозу, тобто можуть використовуватися як ДНК-маркери, встановлювалися за показниками частоти виявлення і ризику захворюваності (RR) з перевіркою за критерієм Пірсона (χ^2).

Вивчення розподілу алелів екзона 2 гена *BoLA-DRB3* у корів української чорно-рябої молочної породи здорових і хворих на некробактеріоз дали змогу виявити алелі, які мають тісний зв'язок із схильністю (*16 і *23) і два алеля, які асоціюються з резистентністю (*03 і *22) до даного захворювання. Зважаючи на те, що дослідження проведено безпосередньо на ДНК крові тварин, виявлені алелі *BoLA-DRB3* доцільно використовувати як ДНК-маркери під час аналізу схильності чи резистентності корів до некробактеріозу.

Ключові слова: велика рогата худоба, некробактеріоз, головний комплекс гістосумісності, молекулярно-генетичні маркери, алелі

DETERMINATION OF ALLELES OF *BoLA-DRB3.2* GENE ASSOCIATED WITH NECROBACTERIOSIS OF THE COWS OF UKRAINIAN BLACK-AND-WHITE DAIRY CATTLE

T. Suprovich, T. Karchevska, R. Kolinchuk, V. Mizyk

State Agrarian and Engineering University in Podilya (Kamenetz-Podolsk, Ukraine)

*This article presents the results of detecting alleles of *BoLA-DRB3.2* gene, which have the expressed relationship with the disease of Ukrainian Black-and-White Dairy cows on necrobacteriosis and can be used as DNA markers of this disease.*

*Diagnosis of necrobacteriosis was set at the basis of clinical, pathological and epizootic data and laboratory results. The blood samples were taken from 114 cows, 43 of which had the disease. Spectrum of alleles of exon 2 of *BoLA-DRB3* gene was studied by PCR. Total 54 alleles were determined. Alleles, which have a close relationship with susceptibility or resistance to necrobacteriosis and can be used as DNA markers, were established on indicators of frequency and relative risk (RR) with test on Pearson criterion (χ^2).*

*The study of the distribution of alleles of exon 2 of *BoLA-DRB3* gene at the Ukrainian Black-and-White Dairy cows, which were healthy and sick by necrobacteriosis, revealed the alleles which have a close relationship with penchant (* 16 and * 23) and two alleles associated with resistance (* 03 and * 22) to the disease. Given the fact that the research were conducted directly on animal blood DNA the detected alleles *BoLA-DRB3* should be used as DNA markers in the analysis of susceptibility or resistance to necrobacteriosis cows.*

Keywords: cattle, necrobacteriosis, DNA markers, molecular genetic markers, alleles

ВЫЯВЛЕНИЕ АЛЛЕЛЕЙ ГЕНА *BoLA-DRB3.2*, АССОЦИИРОВАННЫХ С НЕКРОБАКТЕРИОЗОМ У КОРОВ УКРАИНСКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ

Т. М. Супрович, Т. М. Карчевская, Р. В. Колинчук, В. П. Мизык

Подольский государственный аграрно-технический университет (Каменец-Подольский, Украина)

*В статье приведены результаты выявления аллелей гена *BoLA-DRB3.2*, которые имеют выраженную связь с заболеванием коров украинской черно-пестрой молочной породы некробактериозом и могут служить в качестве ДНК-маркеров данного заболевания. Диагноз заболевания устанавливался на основании эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных и результатов лабораторных исследований. Образцы крови взяты у 114 коров, из которых у 43 выявлено заболевание. Алельный спектр экзона 2 гена*

BoLA-DRB3 изучали с помощью ПЦР. Всего определялись 54 аллели. Аллели, которые имеют тесную связь с восприимчивостью или устойчивостью к некробактериозу устанавливались по показателям частоты выявления и риска заболеваемости (RR) с проверкой по критерию Пирсона (χ^2).

Изучение распределения аллелей экзона 2 гена *BoLA-DRB3* у коров украинской чернопестрой молочной породы здоровых и больных некробактериозом позволили выявить аллели, которые имеют тесную связь с предрасположенностью (*16 и *23) и резистентностью (*03 и *22) к данному заболеванию. Исследование проведено непосредственно на ДНК крови животных. Поэтому обнаруженные аллели целесообразно использовать как ДНК-маркеры при анализе склонности или резистентности коров к некробактериозу.

Ключевые слова: крупный рогатый скот, некробактериоз, главный комплекс гистосовместимости, молекулярно-генетические маркеры, аллели

Вступ. Некробактеріоз великої рогатої худоби досить поширене захворювання, яке зумовлює істотні економічні збитки в молочному скотарстві. Встановлено, що в Україні поширення даного захворювання відбувається саме в великих господарствах, де утримуються високопродуктивні тварини. Причини захворювань ратиць у корів мають багатофакторний характер: порушення норм годівлі або зміна її типів, несприятливі умови утримання тварин, закупівля худоби із європейських держав з метою покращення молочних якостей корів місцевих порід. Епізоотологічний моніторинг останніх років щодо некробактеріозу великої рогатої худоби засвідчив значне його поширення на території країни саме через імпортування худоби [1, 2, 3, 6].

Лікувально-профілактичним заходам щодо некробактеріозу корів присвячено значну кількість робіт. Але поки що не отримано бажаних результатів. Останнім часом стала очевидна необхідність розробити методичні підходи і отримати достовірні критерії, що дають можливість оцінити генетичну схильність тварини до захворювання і про зміну його імунологічного стану при розвитку патологічного процесу. Гени класу II головного комплексу гістосумісності 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. Методом ПЛР-ПДРФ описано 54 алелі одного з найполіморфніших генів класу II *BoLA-DRB3.2*. Висока алельна різноманітність даного гена зумовлена необхідністю зв'язування широкого спектру чужорідних антигенів [4, 9].

Нині інтенсивно проводиться вивчення асоціацій поліморфізму гена *BoLA-DRB3* з різними захворюваннями, імунологічними ознаками, молочною продуктивністю, а також дослідження молекулярних механізмів, що зумовлюють подібні асоціації [8,10,11].

Мета роботи – виявити ДНК-маркери за геном *BoLA-DRB3.2* стійкості та сприйнятливості до некробактеріозу корів української чорно-рябої молочної породи.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проведено в племінному господарстві ТОВ «Козацька долина 2006» Дунаєвського району Хмельницької області. Діагноз на некробактеріоз встановлювався на підставі епізоотологічних, клінічних та патологоанатомічних даних і результатів лабораторних досліджень.

Алельний спектр екзона 2 гена *BoLA-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 екзона 2 гена *BoLA-DRB3* проводили в один чи два етапи (VanEijketal, 1992; Сулімова та ін., 1995) з використанням набору «GenePak TM PCR Core» (IsogeneLab.Itd., Москва). Для одноетапної ПЛР використовували праймери HLO-30 і HLO-32. Для двоетапної – для першого раунду HLO-30 і HLO-31, для другого раунду було використано праймери HLO-30 і HLO-32. Характеристика праймерів: HLO-30(5'-3': TCCTCTCTGTCAGCACATTTCC); HLO-31(5'-3': ATTCGCGCTCACCC TCGCCGCT), HLO-32 (5'-3': TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC) [5,

12].

Рестрикційний аналіз продуктів ампліфікації проводили з використанням ендонуклеаз *RsaI*, *HaeIII* і *BstYI* (*XhoII*). Продукти реакції розділяли за допомогою електрофорезу в 4% агарозному гелі (TopVision™ LE GQ agarose, Fermentas, Канада) у присутності бромистого етидію (5мМ/мл) і тестували в УФ-світлі (рис.1).

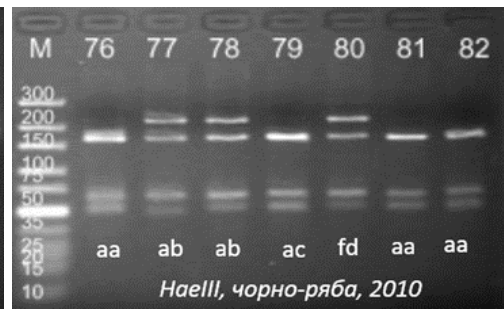
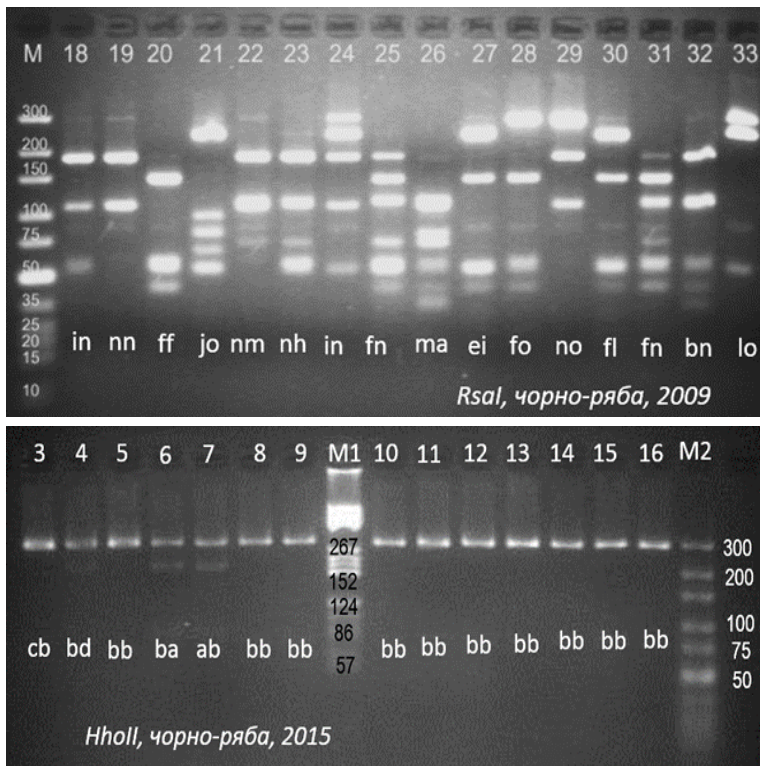


Рис.1. Електрофореграми продуктів ампліфікації ексона 2 гена *BoLA-DRB3*, отриманих на ДНК корів української чорно-рябої молочної породи при допомозі різних ендонуклеаз:

М – маркер молекулярної маси, 3,4...82 – порядковий номер досліджених тварин.

Для оцінки довжин фрагментів використано маркер молекулярних мас «GeneRuler™ UltraLowRange DNA Ladder» фірми «Fermentas», Литва. Знизу вказані варіанти ДНК-патернів

Порівняння ДНК-патернів, отриманих з використанням трьох рестрикційних ендонуклеаз *RsaI*, *HaeIII* і *BstYI*, дає змогу ідентифікувати 54 алелі гена *BoLA-DRB3*.

Підрахунок частот алелів проводився з врахуванням кількості гомозигот і гетерозигот, знайдених по відповідному алелю за формулою:

$$P(A) = \frac{2N_1 + N_2}{2n}, \quad (1)$$

де N_1 і N_2 – відповідно, число гомозигот і гетерозигот для досліджуваного алеля;
 n – об'єм вибірки.

Статистична похибка частот алелів гена визначається за формулою:

$$S_p = \sqrt{\frac{pq}{n}}, \quad (2)$$

де p – частота алеля, а $q = 1 - p$;
 n – об'єм вибірки.

Критерій відповідності (χ^2) вказує на статистично значиму різницю між частотою знаходження аналізованого *BoLA*-антигену серед хворих та здорових тварин і визначається за формулою:

$$\chi^2 = \frac{N(ad - bc)^2}{(a + b)(a + c)(b + d)(c + d)}, \quad (3)$$

де a – сприйнятливі до захворювання тварини, що мають антиген;
 b – резистентні до захворювання тварини носії антигену;
 c – сприйнятливі до захворювання тварини, в яких немає антигену;
 d – резистентні до захворювання тварини, в яких немає антигену.

За мінімальний поріг недостовірності результатів при дослідженні біологічних об'єктів

приймається $P < 0,05$. Тому значимим антигеном вважається той, критерій відповідності для якого перевищує значення 3,8.

Значення χ^2 має сенс у тому випадку, коли у вибірці нараховується не менше 20 тварин і виконуються умови:

$$\begin{aligned} (a+b)(a+c)/N > 5, (a+b)(b+d)/N > 5, \\ (c+d)(a+c)/N > 5, (c+d)(b+d)/N > 5 \end{aligned} \quad (4)$$

Наявність асоціації між захворюванням і алелем виявляли на основі порівняння частот алелів у хворих і здорових корів. Показником відмінності частот визначення алелів у групах сприйнятливих і стійких до маститів тварин служить величина відносного ризику RR, яка відображає мультиплікативність асоціації. Величина RR показує у скільки разів ризик розвитку захворювання є більшим у разі присутності в генотипі певного алеля, ніж при його відсутності. При розрахунках відносного ризику використано формулу:

$$RR = \frac{ad}{bc} \quad (5)$$

Якщо алель не визначався, тоді величина RR визначалася за формулою Haldane:

$$RR = (a+0,5)(d+0,5)/(b+0,5)(c+0,5) \quad (6)$$

Результати досліджень. Вивчення алельного різноманіття проведено на поголів'ї із 114 корів української чорно-рябої молочної породи. Сформовано групи здорових (71 корова) і хворих на некробактеріоз (43 корови) тварин. За результатами дослідження з'ясовано, що в загальній групі тварин визначається 32 алелі (середня частота 3,57%) з 54 описаних методами ПЛР-ПДРФ і алель-специфічної ПЛР для гена *BoLA-DRB3.2* (табл. 1).

1. Розподіл частот алелів *BoLA-DRB3.2* у тварин української чорно-рябої молочної породи

BoLA-DRB3.2	Частота виявлення алелів			BoLA-DRB3.2	Частота виявлення алелів		
	все стадо	здорові	хворі		все стадо	здорові	хворі
*01	0,009	0,014	0	*20	0,009	0,007	0,012
*02	0,018	0,021	0,012	*21	0,013	0,021	0
*03	0,053	0,077	0,012	*22	0,079	0,106	0,035
*04	0,018	0,021	0,012	*23	0,044	0,021	0,081
*06	0,004	0,000	0,012	*24	0,180	0,169	0,198
*07	0,044	0,042	0,047	*25	0,004	0	0,012
*08	0,061	0,063	0,058	*26	0,022	0,028	0,012
*10	0,061	0,063	0,058	*28	0,075	0,085	0,058
*11	0,009	0,014	0,000	*31	0,004	0,007	0
*12	0,026	0,035	0,012	*32	0,022	0,021	0,023
*13	0,035	0,042	0,023	*36	0,031	0,042	0,012
*14	0,009	0,000	0,023	*37	0,035	0,028	0,047
*15	0,018	0,021	0,012	*41	0,004	0,007	0
*16	0,053	0,007	0,128	*42	0,009	0,007	0,012
*18	0,018	0,007	0,035	*48	0,018	0,021	0,012
*19	0,009	0	0,023	*51	0,009	0	0,023

Достатньо широкий алельний спектр, який спостерігається у дослідженому стаді корів, ґрунтується на особливості створення вітчизняної породи. В породі присутні генотипи декількох відрідів – голландської, естонської, литовської, чорно-рябої московської та інших селекцій, а на заключному етапі формування відбулась і продовжується масштабна голштинізація худоби. Тому наявність 32 алелів гена *BoLA-DRB3*, визначена в загальній вибірці, цілком відповідає генеалогії даної породи.

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 [7].

Аналіз алельного спектру здорових і хворих на некробактеріоз корів дозволяє встановити алелі, які зустрічаються з частотою більше 5% хоча би в одній з цих груп (рис.1).

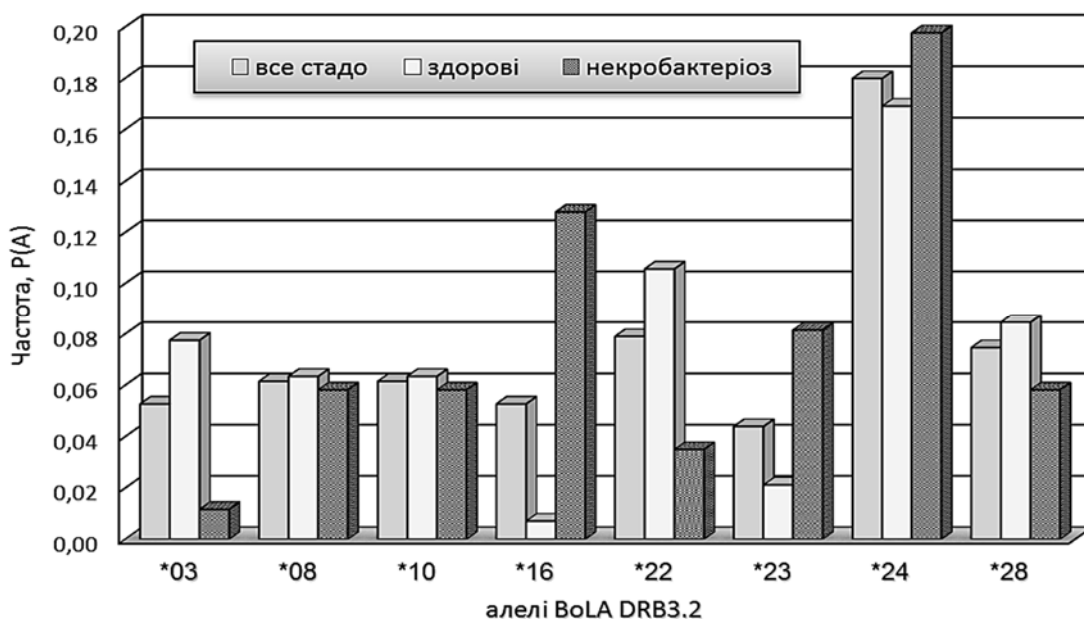


Рис.1. Розподіл «інформативних» алелів у корів української чорно-рябої молочної породи за частотою визначення (показано алелі, для яких $P(A) > 5\%$ хоча б в одній дослідній вибірці)

У нашому дослідженні з частотою понад 5% хоча б одній з дослідних вибірок (відповідно, усе стадо, здорові і хворі тварини) визначається 8 алелів *BoLA-DRB3.2*. 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.

За допомогою біометричних показників – критерію відповідності (χ^2) та відносного ризику захворюваності (RR) – виявлено алелі *BoLA-DRB3.2*, які асоціюються із резистентністю та захворюваністю дослідженого стада тварин на некробактеріоз (табл. 2).

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 χ^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 алеля мають мінімальний поріг достовірності $P = 0,95$: *03 (4,93), *23 (4,86) і *22 (4,03).

2. Біометричні показники алелів *BoLA-DRB3.2* корів української чорно-рябої молочної породи в зв'язку із захворюваністю некробактеріозом

Алелі <i>BoLA-DRB3.2</i>	Частота $P(A)$	Статистична похибка, S_p %	Критерій відповідності χ^2	Ризик захворюваності RR	Перевірка достовірності по χ^2			
					$(a+b) \cdot (a+c)/N$	$(a+b) \cdot (b+d)/N$	$(c+d) \cdot (a+c)/N$	$(c+d) \cdot (b+d)/N$
*01	0,009	0,618	1,233	-3,129	0,75	1,21	42,25	69,75
*02	0,018	0,869	0,285	0,54	1,51	2,42	41,49	68,51
03	0,053	1,479	4,93	-7,7	4,53	6,42	38,47	63,53
*04	0,018	0,869	0,285	0,54	1,51	2,42	41,49	68,51
*06	0,004	0,438	0,025	0,821	1,13	1,84	41,87	69,13
*07	0,044	1,356	0,024	1,111	3,77	6,05	39,23	64,77
*08	0,061	1,59	0,027	0,906	5,28	8,23	37,72	62,28
*10	0,061	1,59	0,027	0,906	5,28	8,23	37,72	62,28
*11	0,009	0,618	1,233	-3,129	0,75	1,21	42,25	69,75
*12	0,026	1,06	1,195	-3,182	2,26	3,53	40,74	67,26
*13	0,035	1,219	0,593	0,528	3,02	4,70	39,98	66,02
*14	0,009	0,618	0,266	1,683	1,51	2,49	41,49	68,51
*15	0,018	0,869	0,285	0,540	1,51	2,42	41,49	68,51
*16***	0,053	1,479	16,62	24,1	4,53	8,53	38,47	63,53
*18	0,018	0,869	2,453	5,25	1,51	2,56	41,49	68,51
*19	0,009	0,618	0,266	1,683	1,51	2,49	41,49	68,51
*20	0,009	0,618	0,131	1,667	0,75	1,25	42,25	69,75
*21	0,013	0,755	1,866	-4,445	1,13	1,79	41,87	69,13
22	0,079	1,786	4,033	-3,571	6,79	9,32	36,21	59,79
23	0,044	1,356	4,862	4,407	3,77	6,58	39,23	64,77
*24	0,18	2,543	0,382	1,28	15,46	23,02	27,54	45,46
*25	0,004	0,438	1,666	5,047	0,38	0,63	42,62	70,38
*26	0,022	0,97	0,699	-2,507	1,89	2,98	41,11	67,89
*28	0,075	1,74	0,587	0,647	6,41	9,54	36,59	60,41
*31	0,004	0,438	0,611	0,54	0,38	0,61	42,62	70,38
*32	0,022	0,97	0,012	1,106	1,89	3,07	41,11	67,89
*36	0,031	1,142	1,743	-3,877	2,64	4,05	40,36	66,64
*37	0,035	1,219	0,552	1,718	3,02	4,98	39,98	66,02
*41	0,004	0,438	0,611	0,54	0,38	0,61	42,62	70,38
*42	0,009	0,618	0,131	1,667	0,75	1,25	42,25	69,75
*48	0,018	0,869	0,285	0,54	1,51	2,42	41,49	68,51
*51	0,009	0,618	0,266	1,683	1,51	2,49	41,49	68,51

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 алеля: *16 ($RR = 24,1$; $\chi^2 = 16,6$), *23 ($RR = 4,41$; $\chi^2 = 4,86$). За ризиком захворюваності алелі *18 (5,25) і *25 (5,08) проявляють себе також «негативними» по відношенню до захворювання. Але у них рівень достовірності не відповідає дійсності (2,45 і 1,66 відповідно).

Асоційованим із резистентністю до захворювання вважається алель, для якого виконується умова $RR \leq -2$ і $\chi^2 > 3,8$. Таких виявлено також 2 алеля: *03 ($RR = -7,7$; $\chi^2 = 4,93$) та *22 ($RR = -3,57$; $\chi^2 = 4,03$). Алелі *01, *11, *12, *21, *26 і *36 за ризиком захворюваності також вказують на резистентність корів, але ці значення не є достовірні.

Необхідно відзначити, що алель *BoLA-DRB3.2**22, який проявив себе як «позитивний» маркер резистентності до некробактеріозу, у попередніх дослідженнях на тісний взаємозв'язок зі стійкістю до маститів як у корів української чорно-рябої ($RR = -2,52$; $\chi^2 = 5,02$), так і червоно-рябої молочних порід ($RR = -4,66$; $\chi^2 = 11,11$).

Висновки. Таким чином, вивчення розподілу алелів екзона 2 гена *BoLA-DRB3* у корів української чорно-рябої молочної породи здорових і хворих на некробактеріоз дозволили

виявити два алеля (*16і*23), які мають тісний зв'язок із схильністю і два алеля (*03 і *22), які асоціюються з резистентністю до даного захворювання. Враховуючи те, що дослідження проводились безпосередньо на ДНК крові тварин, виявлені алелі *BoLA-DRB3* доцільно використовувати як ДНК-маркери під час аналізу схильності чи стійкості корів до некробактеріозу.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Вплив генотипових і паратипових факторів на захворювання кінцівок і ратиць у корів / 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. Лопатин, С. В. Некробактериоз крупного рогатого скота / С. В. Лопатин // *Ветеринария сельскохозяйственных животных*. – № 12. – 2007. – С. 9–15.
3. Риженко, В. П. Основні причини виникнення некробактеріозу та захист від нього великої рогатої худоби в умовах сьогодення / В. П. Риженко, Г. Ф. Риженко, О. І. Горбатюк // *Ветеринарна біотехнологія*. – Вип. 14. – 2009. – С. 267–277.
4. Сулимова, Г. Е. ДНК-маркеры в изучении генофонда пород крупного рогатого скота / Г. Е. Сулимова // *Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства*. – М.: Наука, 2006. – С.138–166.
5. Сулимова, Г. Е. Анализ полиморфизма ДНК с использованием метода полимеразной цепной реакции: Методическое пособие к практикуму «ДНК-маркеры для генетической паспортизации и улучшения геномов животных хозяйственно ценных видов» / Г. Е. Сулимова, В. В. Зинченко. – М.: Из-во «Цифровичок», 2011. – 95 с.
6. Улько, Л. Г. Ефективність лікувально-профілактичних заходів за асоційованих бактеріозів кінцівок у великої рогатої худоби / Л. Г. Улько // *Ветеринарна медицина*. – 2013. – Вип. 97. – С. 257–259.
7. Mohammadi, A. Distribution of *BoLA-DRB3* Allelic Frequencies and Identification of a New Allele in the Iranian Cattle Breed Sistani (*Bos indicus*) / A. Mohammadi // *Genetika*. – 2009. – Vol. 44. – № 2. – С.198–202.
8. Rupp, R. Association of bovine leukocyte antigen (*BoLA*) *DRB3.2* with immune response, mastitis, and production and type traits in Canadian Holsteins / R. Rupp, A. Hernandez and B. A. Mallard // *J. Dairy. Sci.* – 2007. – Vol. 90. – № 2. – P. 1029–1038.
9. Traherne, J. A. Human MHC architecture and evolution: implications for disease association studies / J. A. Traherne // *Int. J. Immunogenet.* – 2008. – Vol. 35 (3). – P. 179–192.
10. Sharif, S. Association of the bovine major histocompatibility complex *DRB3* (*BoLA-DRB3*) alleles with occurrence of disease and milk somatic cells core in Canadian dairy cattle / Sharif, S. and B. A. Mallard // *Anim. Genet.* – 1998. – Vol. 29. – P. 185–193.
11. Association of *BoLA-DRB3* alleles identified by a sequence-based typing method with mastitis pathogens in Japanese Holstein cows / T. Yoshida [et al.] // *Anim. Science J.* – 2009. – Vol. 80. – № 5. – P. 498–509.
12. Vaneijk, M. J. Extensive Polymorphism of the *BoLA-DRB3* Gene Distinguished by PCR-RFLP / M. J. Vaneijk, J. A. Stewart-Haynes and J. E. Beaver // *Animal Genetics*. – 1992. – Vol. 23 (6). – P. 483–496.

REFERENCES

1. Bohdanov, H. O., M. S. Havrylenko, Yu. P. Polupan, and V. V. Shylofost. 2006. *Vplyv henotypovykh i paratypovykh faktoriv na zakhvoryuvannya kintsivok i ratyts' u koriv – The impact of genotypic and paratypovykh factors for the disease extremity and hoofs of cows* Kyiv, Naukovyy svit. 6–18 (in Ukrainian).
2. Lopatin, S. V. 2007. *Nekrobakterioz krupnogo roगतого skota – Nekrobakteryoz large horned livestock* *Veterinariya sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh – Veterinary farm animals*. 12:9–15 (in Russian).

3. Ryzhenko, V. P., H. F. Ryzhenko, and O. I. Horbatiuk. 2009. Osnovni prychny vynyknennya nekrobakteriozu ta zakhyst vid n'oho velykoyi rohatoyi khudoby v umovakh s'ohodennya – The main causes of nekrobakteriozu and protect it from cattle under present conditions . *Veterynarna biotekhnolohiya. – Veterinary biotechnology*. 14: 267–277 (in Ukrainian).
4. Sulimova, G. E. 2006. *DNK-markery v izuchenii genofonda porod krupnogo roगतого skota – DNA markers in the study of the gene pool of breeds of cattle*. Genofondy sel'skokhozyaystvennykh zhyvotnykh: geneticheskie resursy zhyvotnovodstva. M., Nauka, 138–166 (in Russian).
5. Sulimova, G. E., and V. V. Zinchenko. 2011. *Analiz polimorfizma DNK s ispol'zovaniem metoda polimeraznoy tsepnoy reaktsii – Analysis of DNA polymorphism using polymerase chain reaction* . Metodicheskoe posobie k praktikumu «DNK-markery dlya geneticheskoy pasportizatsii i uluchsheniya genomov zhyvotnykh khozyaystvenno tsennykh vidov». M., Iz-vo «Tsifrovichok»:95(in Russian).
6. Ul'ko, L. H. 2013. Efektyvnist' likuval'no-profilaktychnykh zakhodiv za asotsiyovanykh bakterioziv kintsivok u velykoyi rohatoyi khudoby – The effectiveness of preventive measures for associated bacteriosis limbs in cattle . *Veterynarna medytsyna. – Veterinary medicine*. 97:257–259 (in Ukrainian).
7. Mohammadi, A. 2009. Distribution of BoLA-DRB3 Allelic Frequencies and Identification of a New Allele in the Iranian Cattle Breed Sistani (*Bos indicus*). *Genetika*. 44(2):198–202.
8. Rupp, R., A. Hernandez, and B. A. Mallard. 2007. Association of bovine leukocyte antigen (BoLA) DRB3.2 with immune response, mastitis, and production and type traits in Canadian Holsteins. *J. Dairy. Sci.* 90(2):1029–1038.
9. Traherne, J. A. 2008. Human MHC architecture and evolution: implications for disease association studies. *Int. J. Immunogenet.* 35(3):179–192.
10. Sharif, S., and B. A. Mallard. 1998. Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with occurrence of disease and milk somatic cell score in Canadian dairy cattle. *Animal Genetics*. 29:185–193.
11. Yoshida, T., H. Mukoyama, H. Furuta, Y. Kondo, S. N. Takeshima, Y. Aida, M. Kosugiyama, and H. Tomogane. 2009. Association of BoLA-DRB3 alleles identified by a sequence-based typing method with mastitis pathogens in Japanese Holstein cows. *Animal Science. J.* 80(5):498–509.
12. Van Eijk, M. J., A. Stewart-Haynes, and J. E. Beever. 1992. Extensive Polymorphism of the BoLA-DRB3 Gene Distinguished by PCR-RFLP. *Animal Genetics*. 23(6):483–496.



УДК 636.2.05.082.4:575.1

ОЦЕНКА ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ МЕЖДУ ПОТОМКАМИ РАЗНЫХ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

В. Ф. ФОКША, А. Г. КОНСТАНДОГЛО

*Научно-практический институт биотехнологий в зоотехнии и ветеринарной медицине
(Максимовка, Республика Молдова)
aliek55@mail.ru*

В статье приведены результаты детальной генетической оценки между потомками разных быков-производителей в период с 2003 по 2013 гг. По EAB-локусу в потомстве всех быков из 25 изученных антигенов общими были только 6 – B₂, G₂, O₂, Y₂, E'₂ и Q'.

Суммарная частота встречаемости основных аллелей варьировала от 0,2250 (потомки быка Кипэруш 79) до 0,4071 (потомки быка Дикий 788). Коэффициент гомозиготности

© В. Ф. ФОКША, А. Г. КОНСТАНДОГЛО, 2016