УДК 575:618.19-002:636.2.034

ВИЗНАЧЕННЯ ДНК-МАРКЕРІВ У СХИЛЬНИХ ТА РЕЗИСТЕНТНИХ ДО МАСТИТІВ КОРІВ УКРАЇНСЬКОЇ ЧОРНО-РЯБОЇ МОЛОЧНОЇ ПОРОДИ

Т. М. СУПРОВИЧ[1], К. В. КОПИЛОВ[2]

[1]Подільський державний аграрно-технічний університет (Україна, м. Кам'янець-Подільский)

[2]Інститут розведення і генетики тварин НААН (Чубинське, Україна)

kokas2008@ukr.net

Наведено результати вивчення поліморфізму алелів BoLA-DRB3.2 в української чорно-рябої молочної породи та виявлення ДНК-маркерів, зв'язаних із стійкістю або схильністю до маститів у корів. Проблема традиційної селекції ВРХ полягає у тривалості термінів оцінки корів. З появою молекулярно-генетичних маркерів з'явилася можливість прискорити темпи селекції. Відомо, що сприйнятливість корів до маститів – генетично обумовлена ознака. Це спрямовує зусилля дослідників на пошуки генетичних маркерів асоційованих зі стійкістю або схильністю корів до маститів.

*У роботі використано зразки крові від 649 голів корів української чорно-рябої молочної породи. Спектр алелів гена BoLA-DRB3.2 вивчали за допомогою ПЛР-ПДРФ і алельспецифічної ПЛР. Встановлено, що у корів української чорно-рябої молочної породи визначається 28 алелів з 54 описаних методами ПЛР-ПДРФ і алель-специфічної ПЛР для гена BoLA-DRB3.2. З частотою більшою ніж у 5 % виявлялися 9 алелів BoLA-DRB3.2: *03, *08, *10, *13, *22, *24, *26, *28, *36. Найменше визначалися алелі *16, *25, *31, *41 і *42. У корів української чорно-рябої молочної породи виявлено 72 генотипи. Розподіл генотипів має рівномірний характер. Встановлено, що у корів дослідженої породи тісний зв'язок із сприйнятливістю корів до маститів мають два алеля: *24 і *26. Алелі BoLA-DRB3.2*13 та *22 зумовлюють стійкість корів даної популяції до маститів.*

Ключові слова: **корови, мастит, молекулярно-генетичні маркери, алелі, BoLA-DRB3, ПЛР-ПДРФ**

DETERMINATION OF DNA-MARKERS FOR RECEPTIVE AND RESISTANCE TO MASTITIS COWS OF UKRAINIAN BLACK-PIED DAIRY BREED

T. Suprovich[1], K. Kopylov[2]

[1]Podolsky State Agrarian Technical University (Kamenetz-Podolsk, Ukraine)

[2]Institute of animals breeding and genetics of the UAAS (Chubynske, Ukraine)

In the article results of the study of polymorphism alleles BoLA-DRB3.2 in Ukrainian black-pied dairy cattle and DNA markers identification associated with resistance or susceptibility to mastitis in cows. The problem of cows in traditional selection consists in duration of time of estimation of cows. With appearance of molecular-genetic markers there was possibility to accelerate the rates of selection. It is known that receptivity of cows to mastitis is the genetically conditioned sign. It directs effort researchers on the searches of genetic markers of the cows associated with resistance or by receptive to mastitis.

We used blood samples from 649 cows Ukrainian Black-pied dairy breed. Spectrum of alleles of gene of BoLA-DRB3.2 studied by means of PCR-RFLP and AS-PCR. It is set that for the cows of the Ukrainian black-pied breed 28 alleles is determined from by 54 described methods of PCR-RFLP and AS-PCR for the gene of BoLA-DRB3.2. With frequency more than 5 % found out 9 алелів

© Т. М. Супрович, К. В. Копилов, 2014

*BoLA-DRB3.2: *03, *08, *10, *13, *22, *24, *26, *28, *36. Alleles was least determined *16, *25, *31, *41 and *42. For the cows of the Ukrainian blackly-pied DAIRY breed 72 genotypes are educed. Distribution of genotypes has even character. It is set that for the cows of investigational breed close connection with receptivity to mastitis have two alleles: *24 and *26. Alleles of BoLA-DRB3.2*13 and *22 predetermine firmness of cows of this population to mastitis.*

Keywords: **cows, mastitis, molecular-genetic markers, alleles, bola-drb3, pcr-rflp**

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ У ВОСПРИИМЧИВЫХ И РЕЗИСТЕНТНЫХ К МАСТИТАМ КОРОВ УКРАИНСКОЙ ЧОРНО-ПЕСТРОЙ МОЛОЧНОЙ ПОРОДЫ

Т. М. Супрович[1], К. В. Копылов[2]

[1]*Подольский государственный аграрно-технический университет (Каменец-Подольский, Украина)*

[2]*Институт разведения и генетики животных НААН (Чубинское, Украина)*

В статье приведены результаты изучения полиморфизма аллелей BoLA-DRB3.2 у украинской черно-пестрой молочной породы и выявления маркеров ДНК, связанных с устойчивостью или склонностью к маститам у коров. Проблема традиционной селекции КРС заключается в длительности сроков оценки коров. С появлением молекулярно-генетических маркеров возникла возможность ускорить темпы селекции. Известно, что восприимчивость коров к маститам – генетически обусловленный признак. Это направляет усилие исследователей на поиски генетических маркеров ассоциируемых с устойчивостью или склонностью коров к маститам.

*В работе использованы образцы крови от 649 голов коров украинской черно-пестрой молочной породы. Спектр аллелей гена BoLA-DRB3.2 изучали с помощью ПЦР-ПДРФ и аллельспецифической ПЦР. Установлено, что у коров украинской черно-пестрой молочной породы определяется 28 аллелей из 54 описанных методами ПЦР-ПДРФ и аллельспецифической ПЦР для гена BoLA-DRB3.2. С частотой более 5 % обнаруживали 9 аллелей BoLA-DRB3.2: *03, *08, *10, *13, *22, *24, *26, *28, *36. Менее всего определялись аллели *16, *25, *31, *41 и *42. У коров украинской черно-пестрой молочной породы выявлены 72 генотипа. Распределение генотипов имеет равномерный характер. Установлено, что у коров исследованной породы тесную связь с восприимчивостью к маститам имеют два аллеля: *24 и *26. Аллели BoLA-DRB3.2*13 и *22 предопределяют устойчивость коров данной породы к маститам.*

Ключевые слова: **коровы, мастит, молекулярно-генетические маркеры, аллели, BoLA-DRB3, ПЦР-ПДРФ**

Вступ. Мастити корів нині залишаються одним з найбільш розповсюджених захворювань у господарствах України та за кордоном [1, 2]. Вони не тільки впливають на здоров'я тварин і якість молока, а й призводять до значних фінансових збитків. Світова молочна промисловість втрачає через наявність маститів щорічно до 35 млрд доларів. За даними вітчизняних авторів захворюваність корів на мастит надто висока – 28,31 %, причому клінічна форма перебігу становить 13,16 %, а субклінічна – 86,84 %, що в 6,6 разів більше. Сьогодні розроблені і впроваджуються у виробництво методи ранньої діагностики, профілактики і лікування цього захворювання шляхом застосування різних антимікробних препаратів і фізіотерапевтичних засобів, проте їх ефективність і наслідки не завжди задовільні [3].

Дослідження, які проводяться в багатьох країнах світу, свідчать, що найбільш вагомою причиною інтрамамарної інфекції корів та основним чинником стійкості серед безлічі інших, є генетична детермінованість цієї ознаки, а ступінь маститорезистентності певним чином залежить від спадкових властивостей батьків [4, 5].

Цим обумовлений інтерес до генетичних маркерів, застосування яких дає змогу здійснювати маркер-асоційовану селекцію і прогнозувати здоров'я тварин та їх господарські корисні якості [6].

Вивчення нуклеотидних послідовностей генів класу II BoLA-системи у великої рогатої худоби дало можливість описати алелі гена DRB3 і виявити алелі, відповідальні за стійкість і сприйнятливість до маститу [7, 8].

Зв'язки між сприйнятливістю навіть до однієї і тієї самої хвороби, не носять постійного характеру, тобто не мають того самого генетичного маркера, що може бути пов'язаний з відсутністю генетичного зчеплення за полігенному успадкуванні хвороб, тому пошук генетичних маркерів хворих і здорових тварин набуває особливого практичного значення для створення стад, стійких до хвороб вимені [9, 10, 11].

Мета роботи полягала у вивченні поліморфізму алелів BoLA-DRB3.2 в української чорно-рябої молочної породи та виявленні ДНК-маркерів, зв'язаних із стійкістю або схильністю до маститів у корів.

Матеріали та методи досліджень. Виробничі дослідження проведено в племінних і товарних господарствах Хмельницької області. Клінічні мастити виявлялися щоденним оглядом корів під час кожного доїння спеціалістами господарства. Субклінічні мастити визначалися за допомогою реакції секрету з кожної долі на молочно-контрольній пластинці з 5 % мастидином. У роботі використано зразки крові від 649 голів корів української чорно-рябої молочної породи.

Виділення ДНК проводили з використанням наборів «DIAtomTMNAPRep 200» фірми ТОВ «Лабораторія Ізоген» згідно з вимогами виробника. Для визначення алелів гена BoLA-DRB3 було використано рестрикційний аналіз продуктів ампліфікації (ПЛР-ПДРФ), алельспецифічна ПЛР з праймерами ER-17 (5'-3': GACCTCCTCTCCGCCCG) і VD-19 (5'-3': CACCTGTGCATGACGTCTG) (Xu et al., 1993) та алельспецифічна ПЛР з праймерами HLO-30d (5'-3': CTCTGCAGCACATTTCC), HLO-07d (5'-3': CTCCAGGATCTCCTG) і HLO-24d (5'-3': CTCCAGGAAGTCCT) (Сулімова Г.Є., Клімов Е.А., 2002, 2010).

Ампліфікацію фрагмента екзона 2 гена BoLA-DRB3 проводили в один чи два етапи (Van Eijk et al., 1992; Сулімова та ін., 1995) з використанням набору «GenePakTM PCR Core» (Isogene Lab. 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': TCCTCTCTCTGCAGCACATTTCC); HLO-31 (5'-3': ATTCGCGCTCACC TCGCCGCT), HLO-32 (5'-3': TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC).

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 (5 мМ/мл) і тестували в УФ-світлі.

Аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних біометричних показників. Розрахунки проведено в стандартному пакеті «Microsoft Office Excel 2003» та за допомогою окремих програм пакету «Statistica 6» для Windows.

Результати досліджень. У даному дослідженні для ампліфікації екзона 2 гена BoLA-DRB3 використовували метод як двоетапної ПЛР з використанням праймерів HLO-30, HLO-31 и HLO-32; так і одноетапної – з праймерами HLO-30 и HLO-32 (Van Eijk et al., 1992). У результаті двоетапної і одноетапної ПЛР продукти реакції були представлені одним фрагментом розміром 284 п.н. Використання одноетапної ПЛР дало змогу спростити метод, скоротити час аналізу, зменшити небезпеку забруднення, а також знизити вартість самого експерименту. Розподіл сайтів рестрикції ендонуклеаз RsaI, HaeIII і BstYI в екзоні 2 гена BoLA-DRB3 у різних алельних варіантів гена BoLA-DRB3 різноманітний, що зумовлює

утворення після опрацювання продуктів ампліфікації гена ендонуклеазами специфічного спектру фрагментів ДНК, які різняться за кількістю і довжиною (ДНК-патерни). Порівняння ДНК-патернів, отриманих з використанням трьох рестрикційних ендонуклеаз RsaI, BstYI, дає змогу ідентифікувати 54 алелі гена BoLA-DRB3. Найбільш інформативна ендонуклеаза RsaI, для якої описано 19 типів ДНК-патернів. Для рестриктаз HaeIII і BstYI (XhoII) виявлено, відповідно, 6 і 5 ДНК-патернів. Як приклад, на рис.1 представлено електрофореграми продуктів рестрикції, отримані в результаті аналізу з ендонуклеазами RsaI, HaeIII і BstYI продуктів ампліфікації ДНК корів української чорно-рябої молочної породи.

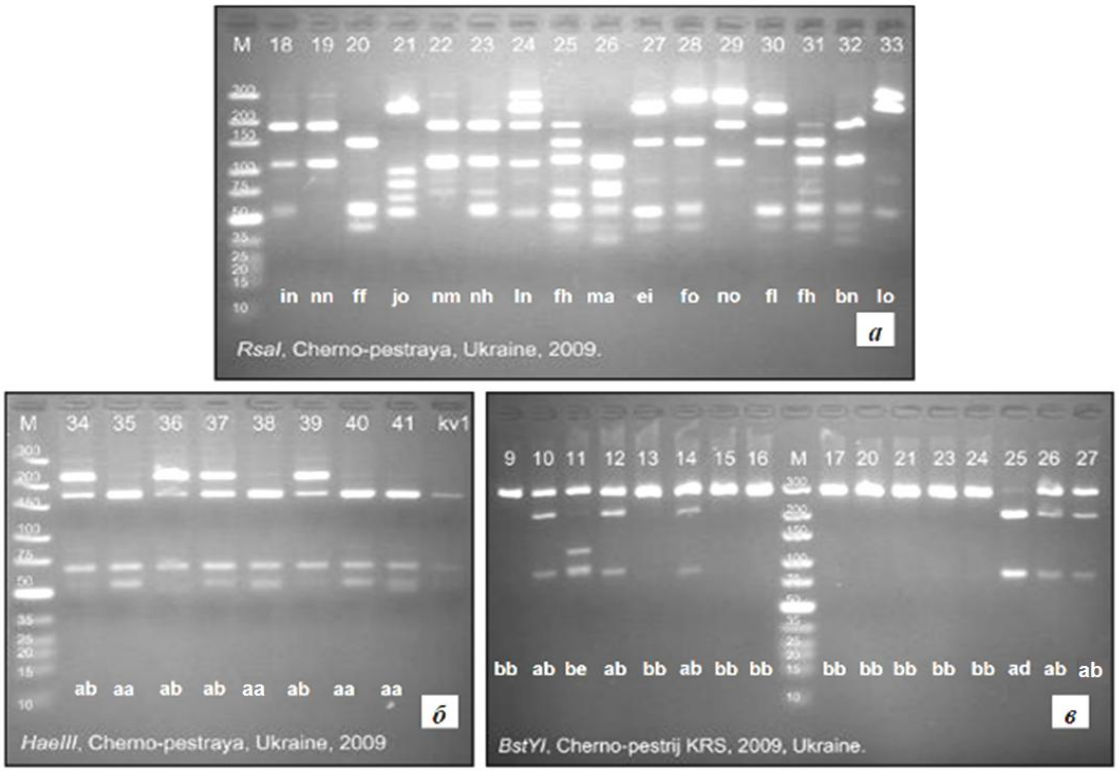

Рис. 1. ***Електрофореграма продуктів ампліфікації гена BoLA-DRB3.2, отриманих на ДНК корів української чорно-рябої молочної породи:*** *ендонуклеази:* ***а*** *– RsaI;* ***б*** *– HaeIII;* ***в*** *– BstYI. Для оцінки довжин фрагментів використано маркер молекулярних мас «GeneRuler™ Ultra Low Range DNA Ladder» фірми «Fermentas», Литва. Знизу вказані варіанти ДНК-патернів.*

Дані дослідження для загальної вибірки представлено в табл.1. Встановлено, що у корів української чорно-рябої молочної породи визначається 28 алелів (середня частота 3,57 %) з 54 описаних методами ПЛР-ПДРФ для гена BoLA-DRB3.2.

З частотою, більшою ніж у 5 %, в загальній групі виявлялися 7 алелів: *10; *13; *03; *08; *28; *24 і *22. Найчастіше виявлявся алель BoLA-DRB3.2*22, який визначено у 19,1 % тварин. Більш висока частота зафіксована тільки для алеля *24, який виявлено у 21 % протестованих тварин. Межу у P(A) ≥ 5 % перевищили, також, алелі BoLA-DRB3.2: *28 (7,7 %), *08 (7,4 %), *03 (5,9 %), *10 і *13 (5,3 %). Загальна частота знаходження 7 найбільш поширених алелів склала 59,6 %. Найменше виявлялися алелі *16, *25, *31, *41 і *42. Сумарна частота алелів, що рідко виявляються (P(A) < 5 %) становила 40,4.

Широкий алельний спектр характерний для порід, в яких спостерігається стабільний приплив нового генетичного матеріалу. Цей висновок можна поширити на українську чорно-рябу молочну породу. В породі присутні генотипи декількох відрідь – голландської, естонської, литовської, чорно-рябої московської та інших селекцій, а на заключному етапі

1. Розподіл частот алелів BoLA-DRB 3.2 у загальній групі корів української чорно-рябої молочної породи

Алелі BoLA-DRB 3.2	Кількість алелів	Частота, *P(A)*	Статистична похибка, S_p (%)	Алелі BoLA-DRB 3.2	Кількість алелів	Частота, *P(A)*	Статистична похибка, S_p (%)
***01**	5	0,015	0,685	***21**	6	0,019	0,749
***02**	8	0,025	0,862	***22**	39	0,12	1,808
***03**	19	0,059	1,305	***23**	6	0,019	0,749
***04**	7	0,022	0,808	***24**	38	0,117	1,788
***07**	16	0,049	1,204	***25**	2	0,006	0,435
***08**	24	0,074	1,455	***26**	14	0,043	1,13
***10**	17	0,053	1,239	***28**	25	0,077	1,482
***11**	5	0,015	0,685	***31**	2	0,006	0,435
***12**	12	0,037	1,049	***32**	10	0,031	0,961
***13**	17	0,053	1,239	***36**	10	0,031	0,961
***15**	6	0,019	0,749	***37**	11	0,034	1,006
***16**	2	0,006	0,435	***41**	2	0,006	0,435
***18**	8	0,025	0,862	***42**	2	0,006	0,435
***20**	3	0,009	0,532	***48**	8	0,024	0,862

формування відбулась і продовжується масштабна голштинізація худоби. Сучасне стадо української чорно-рябої молочної худоби в господарствах України досить різноманітне за своєю генеалогічною структурою, тому наявність 28 алелів гена BoLA-DRB3, які ми визначили, в популяції корів даної породи цілком відповідає її генеалогії.

У схильних до маститів корів виявлено 24 алелі (середня частота 4,17 %). Алелі *16, *25, *31 і *36 у даній групі корів не виявлялися взагалі. З частотою понад 5 % визначалися 5 алелів. Найчастіше у сприйнятливих до маститів тварин детектувався алель BoLA-DRB3.2*24 (16,1 %). Також часто виявлялися алелі *28 (9,7 %), *26 (8,1 %), *22 (7,3 %) і *03 (6,5 %). Рідко виявлялися алелі *01, *20 та *42 (0,8 %).

Серед корів стійких до маститів виявлено 27 алелів. З частотою понад 5 % визначалися 8 алелів:*03, *08, *10, *13,*21, *22, *24, *28. Найбільш часто серед ідентифікованих алелів виявлявся алель BoLA-DRB3.2*22 (15 %). Жодного разу не виявлявся алель *41.

У більшості досліджень автори вважають, що «інформативними» є алелі, які зустрічаються у популяціях не менш як у 5 % від всіх виявлених алелів [7]. Узагальнені дані визначення алелів, які у корів української чорно-рябої молочної породи виявляються з частотою понад 5 %, приведено на рис.2. Встановлено, що у представленій породи тварин з частотою понад 5 % хоча б одній з дослідних вибірок визначається 9 алелів BoLA-DRB3.2.

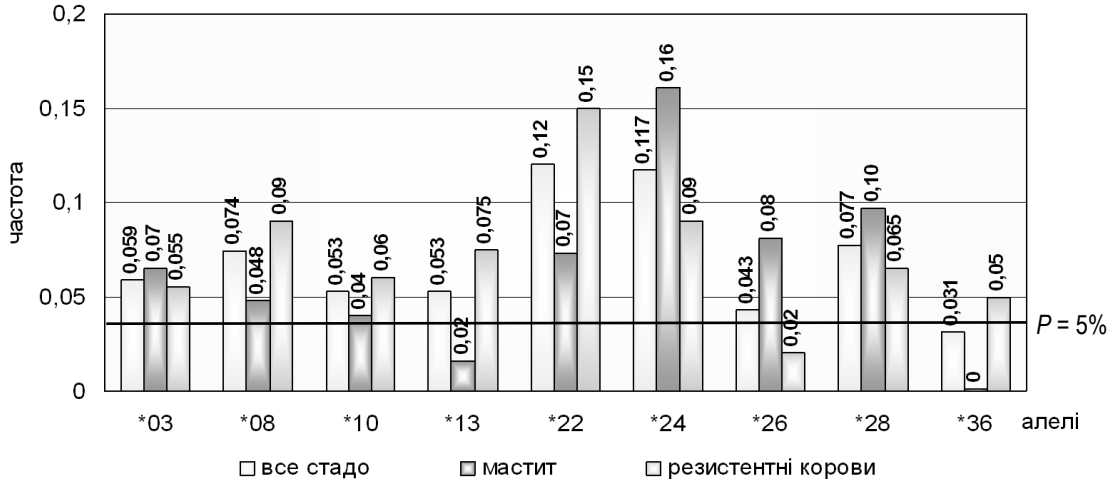

Рис.2. **Розподіл «інформативних» алелів у корів української чорно-рябої молочної породи за частотою визначення**
(показано алелі, для яких P(A) > 5% хоча б в одній дослідній вибірці)

Серед них виділяються 4 алеля, присутні у всіх трьох вибірках (сприйнятливі до маститів, резистентні тварини і загальна група корів): *03, *22, *24 і *28. Ще три «інформативних» алеля визначаються більш ніж у кожної 20-ї корови одночасно у стійких до маститів корів і в загальній вибірці: 08, *10 і *13.

Виявлення достовірних зв'язків між алелями та схильністю або стійкістю корів до маститів визначали за допомогою біометричних показників: критерію відповідності (χ^2), та відносного ризику захворюваності (RR) – табл. 2.

2. Розподіл частот алелів BoLA-DRB3.2 корів української чорно-рябої молочної породи та його зв'язок із захворюваністю на мастит

Алелі BoLA-DRB 3.2	Частота *P(A)*	Критерій відповідності χ^2	Ризик захворюваності *RR*	Алелі BoLA-DRB 3.2	Частота *P(A)*	Критерій відповідності χ^2	Ризик захворюваності *RR*
***01**	0,0154	0,729	-2,54	***21**	0,0185	2,13	3,38
***02**	0,0247	0,627	0,522	***22***	0,1204	5,02	-2,52
***03**	0,0586	0,134	1,2	***23**	0,0185	0,064	0,8
***04**	0,0216	0,291	0,633	***24***	0,1173	4,33	2,17
***07**	0,0494	0,004	0,964	***25**	0,0062	1,26	-3,17
***08**	0,0741	2,1	-2,05	***26****	0,0432	7,13	4,62
***10**	0,0525	0,631	0,643	***28**	0,0772	1,18	1,61
11	0,0154	3,8	6,83	***31**	0,0062	1,26	-3,17
***12**	0,037	0,755	1,68	***32**	0,0309	1,51	-2,61
13	0,0525	5,65	-5,29	***36**	0,0309	6,61	-14,5
***15**	0,0185	2,13	3,38	***37****	0,034	0,604	0,585
***16**	0,0062	1,26	-3,17	***41**	0,0062	3,27	8,31
18	0,0247	4,81	5,25	***42**	0,0062	0,118	1,62
***20**	0,0093	0,032	0,803	***48***	0,0247	4,81	5,25

Значимими за критерієм χ^2 є вісім алелів BoLA-DRB3.2, які мають достатній рівень достовірності для досліджених біологічних об'єктів. Рівень довірчої ймовірності дослідження P = 0,99 проявляють алелі *26 (χ^2 = 7,13) і *36 (χ^2 = 6,61). Шість алелів мають мінімальний поріг достовірності P = 0,95: *13 (χ^2 = 5,65), *22 (χ^2 = 5,02), *18 і *48 (χ^2 = 4,82), *24 (χ^2 = 4,33) і *11 (χ^2 = 3,8). За критерієм відносного ризику значимі асоціації зі схильністю чи стійкістю до маститів мають 17 алелів. На зв'язок із захворюваністю (RR ≥ 2) вказують 8 алелів, а саме: *41 (RR = 8,31), *11 (RR = 6,83), *18 і *48 (RR = 5,25), *26 (RR = 4,62), *15 і *21 (RR = 3,38) та *24 (RR = 2,17); на зв'язок зі стійкістю до маститів (RR ≤ -2) вказують наступні 9 алелів: *36 (RR = -14,5), *13 (RR = -5,29), *16 і *25 та *31 (RR = -3,17), *32 (RR =- 2,61),*01 і *22 (RR = -2,52) та *08 (RR = -2,05). Асоційованим із захворюванням вважається алель, для якого виконується умова RR ≥ 2 і χ^2 > 3,8. Всього нараховується 5 таких алелів: *11 (RR = 6,83; χ^2 = 3,8), *18 (RR = 5,25; χ^2 = 4,82), *24 (RR = 2,17; χ^2 = 4,33), *26 (RR = 4,62; χ^2 = 7,13) і *48 (RR = 5,25; χ^2 = 4,8). Але для трьох із них не виконується перевірка по обмеженню використання критерію відповідності при мінімальних частотах знаходження ознаки. Тому, не можна вважати асоційованими із сприйнятливістю до маститів наступні алелі: *11 (P(A) = 0,0154),*18 і *48 (P(A) = 0,0247).

Асоційованим із стійкістю до захворювання вважається алель, для якого виконується умова RR ≤ -2 і χ^2 > 3,8. Всього налічується 3 таких алеля: *13 (RR = -5,29; χ^2 = 5,65), *22 (RR = -2,52; χ^2 = 5,02) і *36 (RR = -14,5; χ^2 = 6,61). Для алеля *36 (P(A) = 0,031) не виконується перевірка по обмеженню використання критерію відповідності при мінімальних частотах знаходження ознаки, що не дозволяє вважати значимим його зв'язок зі стійкістю корів до маститів. Таким чином, вивчення поліморфізму екзона 2 гена BoLA-DRB3 у корів української чорно-рябої молочної породи показує, що у даної популяції виявляється два

алеля, які мають тісний зв'язок із сприйнятливістю корів до маститів. Це алелі BoLA-DRB3.2: *24 (RR = 2,17; P(A) = 0,117; χ^2 = 4,33) та *26 (RR = 4,62; P(A) = 0,043; χ^2 = 7,13). У зв'язку з тим, що дослідження проводились безпосередньо на ДНК крові тварин, виявлені алелі BoLA-DRB3 доцільно використовувати як ДНК-маркери під час аналізу схильності і резистентності корів до маститів.

Для визначення алельного різноманіття породи розраховано індекс Шенона-Вінера (H`). Величина H` лежить в межах від 1,5 до 3,5 рідко перевищуючи 4,5. Чим вище значення індексу, тим більш складно організована досліджувана система. Для української чорно-рябої молочної породи розрахункове значення індексу Шенона- Вінера складає 3,02.

Важливим показником для оцінки інформативності алелів локусу 2 гена BoLA-DRB3 є рівень їх поліморфізму. Для встановлення рівня поліморфізму алелів BoLA-DRB3.2 використовують наступні показники: середня очікувана гетерозиготність і коефіцієнт Селендера. Кількість гомозигот і гетерозигот в української чорно-рябої молочної породи за нашими дослідженнями, відповідно, складає N_1 = 22 і N_2 = 140. Тоді спостережувана гетерозиготність H_o = 0,864, а очікувана гетерозиготність для даної породи складає H_e = 0,939. Оцінка надлишку гетерозигот в дослідній вибірці корів за показником Селендера D = -0,079.

У представленій групі тварин виявлено 72 генотипи, у схильних до маститів корів ідентифіковано 37, а у стійких – 51 генотип. Розподіл генотипів має рівномірний характер. Відсутні генотипи, які б різко виділялися серед інших за частотою виявлення. В загальній групі досліджених корів відсутні генотипи, які мають частоту P(G) ≥ 5 %. Найчастіше визначали генотип BoLA-DRB3 *22/*22 – 4,94.

Серед схильних до маститів тварин визначали генотипи BoLA-DRB3 *03/*11, *03/*48, *12/*28, *15/*24 і *24/*24 (4,84 %). Інші варіанти виявляли по 1-2 рази, або не виявляли зовсім. У стійких до маститів корів генотипи BoLA-DRB3 *22/*22 і *22/*28 визначали з частотою 6,0 % і 03/*32* – 5,0 %. Таким чином, у корів української чорно-рябої молочної породи зафіксовано значну різноманітність генотипів, що не дає змоги виділити один або декілька з них, які можна було б пов'язати із захворюваністю чи стійкістю до маститів.

Наявність високого рівня поліморфізму і генетичного різноманіття популяцій за розподілом частот алелів та інших показників генетичної мінливості дає можливість вважати досліджений DRB3.2 локус інформативним молекулярно-генетичними маркером. Отримані результати добре узгоджуються з гіпотезою підтримки поліморфізму антигенів головного комплексу гістосумісності за допомогою відбору наддомінування (переваги гетерозигот), обумовленого здатністю зв'язувати сторонні антигени і, таким чином, забезпечуючи стійкість до захворювань [13]. Досліджена нами вітчизняна порода має високий рівень поліморфізму алелів BoLA-системи, що забезпечують високий рівень надлишку гетерозигот. В популяції, схильній до дії численних патогенів, гетерозиготні індивідууми матимуть перевагу, оскільки зможуть зв'язувати велику кількість сторонніх антигенів.

В зв'язку з цим, є необхідність подальшого вивчення характеру розподілу поліморфних алелів і генотипів DRB3.2 локусу з метою їх використання для створення імуногенетичних моделей, направлених на вирішення широкого спектра селекційних завдань, в тому числі для знаходження асоціативних взаємозв'язків у парах «алель – захворювання» та «генотип – захворювання».

Висновки. Встановлено, що у корів української чорно-рябої молочної породи визначається 28 алелів з 54 описаних методами ПЛР-ПДРФ і алель-специфічної ПЛР для гена BoLA-DRB3.2. З частотою більшою, ніж у 5 % виявлялися 9 алелів BoLA-DRB3.2: *03, *08, *10, *13, *22, *24, *26, *28, *36. Найменше визначалися алелі *****16, *25, *31, *41 і *42.

У корів української чорно-рябої молочної породи виявлено 72 генотипи Розподіл генотипів має рівномірний характер.

Встановлено, що у корів української чорно-рябої молочної породи тісний зв'язок із

сприйнятливістю корів до маститів мають два алеля BoLA-DRB3.2: *24 і *26. Алелі BoLA-DRB3.2*13 та *22 впливають на стійкість корів даної популяції до маститів.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Любецький В. Й. Розповсюдження маститу серед високопродуктивних корів / В. Й. Любецький, О.А. Вальчук // Науковий вісник НАУ. – К., 2005. – № 89. – С.294–297.

2. Харенко М.І. Особливості перебігу клінічного маститу в корів різних порід в умовах господарств Сумської області: зб. наук. праць / М.І. Харенко, О.М. Байдевлятова //– Біла Церква. – № 62. – 2009. – С.7–11.

3. Балым Ю.П. О маститах, являющихся составным элементом некоторых заболеваний крупного рогатого скота / Ю.П. Балым // Проблемы сельскохозяйственного производства на современном этапе и пути их решения: материалы межд. науч.-произв. конф., посвящ. 25-летию образования Белгородской с-х. академии, 27–31 окт. 2003. – Белгород, 2003. – С.97–98.

4. Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в изучении генофонда пород крупного рогатого скота / Галина Сулимова // Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства. – М.: Наука, 2006. – С.138–166.

5. 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.

6. Особенности распространения антигенов BoLA-A и аллелей гена BoLA-DRB3 у черно-пестрого скота в связи с ассоциацией с лейкозом / Л.К. Эрнст, Г.И. Сулимова, А.Р. Орлова [и др.] // Генетика. – 1997. – Т.33. – С.87–95.

7. Distribution of BoLA-DRB3 Allelic Frequencies and Identification of a New Allele in the Iranian Cattle Breed Sistani (Bos indicus) / A. Mohammadi, M.R. Nassiry, J. Mosafer [et al.] // Genetika. – 2009. – T.44. – № 2. – C.198–202.

8. Полиморфизм генов иммунного ответа как фактор предрасположенности к развитию болезней / Коненков В.И., Прокофьев В.Ф., Шевченко А.В. [и др.] // Russian J. Immunol. – 2001. – V.6. – № 2. – P.123–132.

9. Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения / Галина Сулимова // Успехи соврем. биологии. – 2004. – Т.124. – № 3. – С.260–271.

10. Zambrano J. Alleles of the BoLA DRB3.2 gene are associated with mastitis in dairy cows / Juan C. Zambrano, Julián Echeverri, Albeiro López-Herrera // Rev Colom. Cienc. Pecua. – 2011. – V.24. – № 2. – P.145–156.

11. Major histocompatibility complex polymorphism and mastitis resistance – a review / Karima Galal, Abdel Hameed, Grażyna Sender, Michael Mayntz // Animal Sci. Papers and Reports. – 2006. – V.24. – № 1. – P.11–25.

12. Analysis of relationship between bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles, somatic cell count and milk traits in Iranian holstein / M. Pashmi, S. Qanbari, S.A. Ghorashi [et al.] // J. of Anim. Br. and Genet. – 2009. – V.126. – № 4. – P.296–303.

REFERENCES

1. Lyubets'kyy, V. Y. and O. A. Val'chuk. 2005. Rozpovsyudzhennya mastytu sered vysokoproduktyvnykh koriv – Distribution of mastitis in high-yielding cows. *Naukovyy visnyk NAU*. 89:294–297 (in Ukrainian).

2. Kharenko, M.I. and O.M. Baydevlyatova. 2009. Osoblyvosti perebihu klinichnoho mastytu v koriv riznykh porid v umovakh hospodarstv Sums'koyi oblasti – Peculiarities of clinical mastitis in cows of different breeds in the conditions of farms of Sumy region. *Zb. nauk. prats'. Bila Tserkva.* – *Scientific Papers. Bila Tserkva.* 62:7–11 (in Ukrainian).

3. Balym, Ju. P. 2003. O mastitah, javljajushhihsja sostavnym jelementom nekotoryh zabolevanij

krupnogo rogatogo skota – About mastitis, is a component of certain diseases in cattle. *Problemy sel'skohozjajstvennogo proizvodstva na sovremennom jetape i puti ih reshenija: materialy mezhd. nauch.-proizv. konf., posvjashh. 25-letiju obrazovanija Belgorodskoj s-h. akademii, 27–31 okt. 2003. – Belgorod. – Proceedings of the International scientific-production conference.* 97–98 (in Russian).

4. Sulimova, G.E. 2006. DNK-markery v izuchenii genofonda porod krupnogo rogatogo skota – DNA markers in the study of the gene pool of breeds of cattle. *Genofondy sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh: geneticheskie resursy zhivotnovodstva* – Gene pools of farm animals: genetic resources of livestock. *Nauka – Science*. 138–166 (in Russian).

5. Yoshida T., H. Mukoyama, H. Furuta, Y. Kondo, S.N. Takeshima, Y. Aida., M. Kosugiyama, H. Tomogane. 2009. Association of BoLA-DRB3 alleles identified by a sequence-based typing method with mastitis pathogens in Japanese Holstein cows. *Anim. Sci. J.* 80:498–509.

6. Jernst, L.K., G.E. Sulimova, A.R. Orlova. S.P. Pavlenko. 1997. Osobennosti rasprostranenija antigenov BoLA-A i allelej gena BoLA-DRB3 u cherno-pestrogo skota v svjazi s associaciej s lejkozom – Features of distribution of BoLA-A antigens and alleles of BoLA-DRB3 in black-peed cattle in connection with the association with leukemia. *Genetika – Genetics*. 33:87–95 (in Russian).

7. Mohammadi A., M.R. Nassiry, J. Mosafer, M.R. Mohammadabadi, G.E. Sulimova. 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. Konenkov, V.I., V.F. Prokof'ev, A.V. Shevchenko O.V. Golovanova, M.V. Smol'nykova. 2001. Polimorfizm genov immunnogo otveta kak faktor pred raspolozhennosti k razvitiju boleznej – Polymorphisms in genes of the immune response as a factor predisposing to the development of diseases. *Russian J. Immunol.* 6(2):123–132 (in Russian).

9. Sulimova, G.E. 2004. DNK-markery v geneticheskih issledovanijah: tipy markerov, ih svojstva i oblasti primenenija – DNA markers in genetic studies: marker types, their properties and uses. *Uspehi sovrem. Biologii – Successes Modern Biology*. 124(3):260–271 (in Russian).

10. Zambrano J., J. Echeverri, A. López-Herrera. 2011. Alleles of the BoLA DRB3.2 gene are associated with mastitis in dairy cows. *Rev Colom. Cienc. Pecua*. 24(2):145–156.

11. Galal K., A. Hameed, G. Sender, M. Mayntz. 2006. Major histocompatibility complex polymorphism and mastitis resistance – a review. *Animal Sci. Papers and Reports*. 24(1):11–25.

12. Pashmi M., S. Qanbari, S.A. Ghorashi, A.R. Sharifi, H.Simianer .2009. Analysis of relationship between bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles, somatic cell count and milk traits in Iranian holstein. *J. of Anim. Br. and Genet*. 126(4):296–303.