

трехэтапном удалении глицерина. Уровень сохранности при таком режиме насыщения и удаления криопротектора превышал уровень сохранности при использовании одномоментного насыщения и удаления криопротектора на 13,8 п. п. (10 % глицерин) и на 18,0 п. п. при использовании одномоментного насыщения и трехэтапного удаления (1,4 М глицерин).

ЛИТЕРАТУРА

1. Hasler, J. F. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle / J. F. Hasler // *Reprod. Sci.* – 2003. Vol. 15. – P. 245-264.
2. Leibo, S. One-step-methods for direct non-surgical transfer of frozen-thawed bovine embryos / S. Leibo // *Theriogenology.* – 1984. – Vol. 21. – P. 767-790.
3. The genetics of chilling sensitivity of bovine oocytes cooled to non physiological temperatures / M. Martino [et. al.] // *Theriogenology.* – 1995. – Vol. 43. – P. 272-289.
4. Pollard, J. W. Comparative cryobiology of in vitro and in vivo produced bovine embryos / J. W. Pollard, S. P. Leibo // *Theriogenology.* – 1993. – Vol. 30. – P. 287-317.
5. Lipid content and apoptosis of in vitro-produced bovine embryos as determinants of susceptibility to vitrification / M. J. Sudano [et. al.] // *Theriogenology.* – 2011. – Vol. 75. – P. 1211-1220.
6. Whitingham, D. G. Survival of mouse embryo frozen to -196°C and -296°C / D. G. Whitingham, S. P. Leibo, P. Mazur // *Science.* – 1972. – Vol. 178. – P. 411-414.

УДК 636.2.034

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНА LTF В СЕЛЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

О. А. Епишко, В. В. Пешко, А. А. Ситько, Н. Н. Пешко

УО «Гродненский государственный аграрный университет»
г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,
г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: valik-11@mail.ru)

Ключевые слова: ген лактоферрина, молочная продуктивность, соматические клетки, крупный рогатый скот.

Аннотация. В популяции коров белорусской черно-пестрой породы, установлен полиморфизм гена лактоферрина (LTF). Выявлены генотипы LTF^{AA} и LTF^{AB}. Определена частота встречаемости аллелей и генотипов по гену лактоферрина. Изучена молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену лактоферрина. Установлено положительное влияние аллеля LTF^A и генотипа LTF^{AA} на показатели молочной продуктивности у коров.

USING OF LTF GENE IN CATTLE SELECTION

O. A. Epishko, V. V. Peshko, A. A. Sitsko, N. N. Peshko

EI «Grodno state agrarian university»

Grodno, Republic of Belarus (Republic of Belarus, 230008, Grodno, 28

Tereshkova st.; e-mail: valik-11@ggau.by)

Key words: lactoferrin gene, milk production, somatic cells, cattle.

Summary. In the population of cows of the Belarusian black-motley breed, the polymorphism of the lactoferrin (LTF) gene was established. The genotypes LTF^{AA} and LTF^{AB} were revealed. The frequency of occurrence of alleles and genotypes for the lactoferrin gene was determined. The milk productivity of cows with different genotypes for the lactoferrin gene was studied. The positive effect of the LTF^A allele and LTF^{AA} genotype on the indicators of milk production in cows was established.

(Поступила в редакцию 01.06.2020 г.)

Введение. Сельскохозяйственная отрасль производства является одной из приоритетных в Республике Беларусь. Позитивные тенденции развития различных отраслей сельского хозяйства в стране носят устойчивый и динамический характер. Инновационное развитие животноводства особенно перспективно, т. к. именно в этой отрасли производится более 65 % стоимости валовой продукции сельского хозяйства Республики Беларусь [1].

Проведение селекционно-племенной работы и ее эффективность в молочном скотоводстве зависит от многих факторов: технологических (условия содержания, оптимальное кормление), средовых (создание условий для проявления генотипа в фенотипе) и генетических (получение животных с высоким наследственным потенциалом). Поэтому в настоящее время племенная работа наряду с традиционными методами должна включать достижения в области генетики и биотехнологии животных [2].

С непосредственным влиянием генетических факторов сопряжен риск возникновения нарушений жизнедеятельности организма у высокопродуктивных животных. Так, у них иммунный статус организма находится в прямой зависимости от генетически обусловленной ориентации интенсивности обмена веществ на синтез и производство молочной продукции. Таким образом, у высокопродуктивного молочного скота может наблюдаться негативная корреляция между устойчивостью организма к неблагоприятным факторам внешней среды и уровнем молочной продуктивности: чем выше уровень продуктивности, тем меньше резистентность организма животного.

Одним из главных показателей, с помощью которого можно провести анализ эпизоотологической ситуации в стаде, является определе-

ние количества соматических клеток в молоке. Соматические клетки присутствуют в молочной железе и молоке и представляют собой отмершие эпителиальные клетки, белые кровяные клетки (лейкоциты) и другие клетки организма, участвующие в регуляции иммунного статуса животных. Число соматических клеток в молоке находится в прямой зависимости от возраста животных, уровня и качества кормления, физиологического состояния, однако основополагающим фактором увеличения их количества является воспаление молочной железы. Соответственно, данный показатель может использоваться в качестве диагностического инструмента, позволяющего организовывать раннюю диагностику различных форм мастита, а также проводить оценку технологической пригодности полученной продукции для изготовления молочных продуктов.

Исследования, проведенные в РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С. Н. Вышелесского», показали, что существует прямая взаимосвязь между содержанием соматических клеток в сборном молоке и процентом заболеваемости коров маститом. Так, содержание соматических клеток в сборном молоке в количестве до 500 тыс./см³ говорит о степени заболеваемости в стаде на уровне 5 %, а содержание соматических клеток на уровне 850-1000 тыс./см³ говорит о степени заболеваемости маститом на уровне 25 % и более. Потери получаемой продукции начинаются уже при наличии более 100 тыс. соматических клеток в 1 см³ молока, а при содержании 6,4 млн. соматических клеток в 1 см³ потери достигают до 1464 кг за лактацию. При этом также повышается бактериальная обсемененность молока, что приводит к значительному снижению качества получаемой продукции [3].

В странах с развитым молочным скотоводством, в т. ч. и в зависимости от количества соматических клеток в молоке, устанавливается классность полученного сырья и определяется его ценовая категория. В молоке с высоким содержанием соматических клеток содержится гораздо меньше полезных веществ (белок, сахар, жир), из такого молока получают продукты переработки молочной продукции низкого качества.

В настоящее время исследованиями зарубежных ученых выявлена возможность использования гена лактоферрина в качестве потенциального гена кандидата для проведения маркерной селекции на устойчивость к маститам крупного рогатого скота [4, 5].

Анализ литературных источников свидетельствует о том, что у ученых нет единого мнения о влиянии того или иного аллеля гена пролактина на показатели молочной продуктивности крупного рогатого

скота. Однако большинство авторов отмечают положительное влияние генотипа AA гена лактоферрина (LTF^{AA}) на содержание (более низкое) соматических клеток в молоке. Частота встречаемости аллелей LTF^A и LTF^B колеблется от низкой до высокой в зависимости от породы [6, 7, 8]. Тем важнее установить влияние гена лактоферрина на хозяйственно полезные признаки белорусской черно-пестрой породы крупного рогатого скота для совершенствования процесса селекции при работе с ним. А ген лактоферрина как ДНК-маркер содержания соматических клеток в молоке может служить дополнительным критерием при оценке и отборе животных.

Цель работы – изучить влияние гена лактоферрина на содержание соматических клеток в молоке и показатели молочной продуктивности коров белорусской черно-пестрой породы.

Материал и методика исследований. Объектом наших исследований являлся генетический материал (ушной выщип) коров белорусской черно-пестрой породы, содержащихся в СПК имени И. П. Сенько Гродненского района (n = 210).

Исследования по определению аллелей и генотипов опытных животных по гену лактоферрина проводились в отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» УО «Гродненский государственный аграрный университет».

ДНК-диагностику генотипов гена LTF проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом.

Для амплификации участка гена LTF использовали следующие праймеры:

-F 5' – GCCTCATGACAACCTCCACAC- 3';

-R: 5'- CAGGTTGACACATCGGTTGAC-3'.

ПЦР-программа включает в себя следующий режим: «горячий старт» при 94 °С в течение 5 мин, 35 циклов: денатурация при 94 °С – 45 с, отжиг праймеров при 62 °С – 45 с, синтез при температуре 72 °С 45 с; далее элонгация при 72 °С 5 мин. Реакционная смесь включает в себя 10X ПЦР буфер, MgCl₂, прямой и обратный праймер, dNTP, Taq-полимеразу, дистиллированную воду и исследуемое ДНК. Для генотипирования по локусу лактоферрина использовали эндонуклеазу EcoRI, которая имеет сайт рестрикции GAATC/C и продукт амплификации с длиной 301 п. н. Рестрикция проводится при температуре 37 °С в течение 16 ч. При расщеплении продукта амплификации ПЦР с помощью эндонуклеазы EcoRI были идентифицированы следующие генотипы: LTF^{AA} – 300 п. н., LTF^{AB} – 300, 200, 100 п. н. [9].

Частота встречаемости аллелей по гену лактоферрина рассчитана по формуле 1 по Е. К. Меркурьевой [10].

$$\begin{aligned} pA &= 2n_{AA} + n_{AB} / 2N; \\ qB &= 2n_{BB} + n_{AB} / 2N, \end{aligned} \quad (1)$$

где pA – частота аллеля А; qB – аллель В; n – количество гомозиготных или гетерозиготных особей; N – общая численность обследованных животных; $2N$ – число аллелей данного двухаллельного локуса в обследованной популяции.

Для изучения молочной продуктивности подопытные коровы белорусской черно-пестрой породы были сгруппированы в зависимости от возраста: первотелки, коровы второго и третьего отелов. Молочную продуктивность подопытных коров определяли при помощи проведения контрольных доений. В обработку включали показатели по тем животным, у которых продолжительность лактации была не меньше 240 дней, а возраст при первом отеле составлял 26-30 мес. У животных с различными генотипами по изучаемым генам учитывали удой, содержание жира и белка, выход молочного жира и белка за 305 дней лактации, содержание соматических клеток в молоке.

Селекционно-генетические параметры основных хозяйственно полезных признаков определяли методами биологической статистики в описании Н. А. Плохинского [11], используя при этом компьютерную программу Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенных исследований установлено, что соотношение частот аллеля LTF^A и LTF^B в популяции коров СПК имени И. П. Сенько (рисунок 1) находилось на уровне 0,819 и 0,181, а генотипов LTF^{AA} и LTF^{AB} (рисунок 2) – 63,8 % (134 головы) и 36,2 % (76 голов) соответственно. Животных с генотипом LTF^{BB} не выявлено.

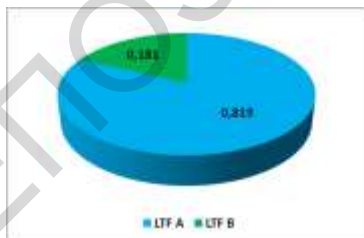


Рисунок 1 – Частота встречаемости аллелей гена лактоферрина в популяции коров белорусской черно-пестрой породы

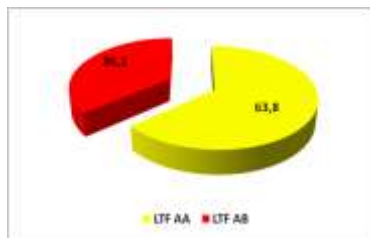


Рисунок 2 – Частота встречаемости аллелей гена лактоферрина в популяции коров белорусской черно-пестрой породы

Молочная продуктивность исследуемых животных с различными генотипами по гену лактоферрина представлена в таблицах 1-3.

Таблица 1 – Молочная продуктивность первотелок с различными генотипами по гену лактоферрина

Показатели	Генотип	
	LTF ^{AA} (n = 134)	LTF ^{AB} (n = 76)
Удой за 305 дней лактации, кг	7443,7 ± 103,58	7402,8 ± 129,50
Жирномолочность, %	3,69 ± 0,02	3,71 ± 0,03
Количество молочного жира, кг	275,0 ± 4,49	274,7 ± 5,24
Белковомолочность, %	3,26 ± 0,01	3,29 ± 0,01*
Количество молочного белка, кг	242,8 ± 3,34	243,3 ± 4,41
Количество соматических клеток, тыс./мл	172,7 ± 7,22	241,8 ± 12,81***

Примечание – * межгрупповые различия статистически достоверны при $P < 0,05$; *** межгрупповые различия статистически достоверны при $P < 0,001$

Анализ данных таблицы 1 свидетельствует о том, что первотелки с генотипом LTF^{AA} превосходили сверстниц с генотипом LTF^{AB} по удою на 40,9 кг и количеству молочного жира на 0,3 кг ($P > 0,05$), но уступали им по белковомолочности на 0,03 % ($P < 0,05$), количеству молочного белка на 0,5 кг и жирномолочности на 0,02 % ($P > 0,05$). Меньшим количеством соматических клеток в молоке характеризовались животные с генотипом LTF^{AA} (на 69,1 тыс./мл), чем особи с генотипом LTF^{AB} ($P < 0,001$).

Таблица 2 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену лактоферрина по второй лактации

Показатели	Генотип	
	LTF ^{AA} (n = 134)	LTF ^{AB} (n = 76)
Удой за 305 дней лактации, кг	8194,9 ± 114,04	8149,8 ± 142,57
Жирномолочность, %	3,69 ± 0,02	3,71 ± 0,03
Количество молочного жира, кг	303,5 ± 4,96	302,1 ± 5,77
Белковомолочность, %	3,27 ± 0,01	3,27 ± 0,01
Количество молочного белка, кг	267,8 ± 3,70	267,0 ± 4,87
Количество соматических клеток, тыс./мл	170,3 ± 7,02	246,8 ± 13,67***

Примечание – *** межгрупповые различия статистически достоверны при $P < 0,001$

Из данных таблицы 2 видно, что коровы с генотипом LTF^{AA} имели удой и количество молочного жира на 45,1 и 1,4 кг соответственно выше, а жирномолочность и количество молочного белка на 0,02 % и 0,8 кг соответственно ниже, чем животные с генотипом LTF^{AB} ($P > 0,05$). По уровню белковомолочности различий между исследуемыми группами животных не установлено. В молоке коров с генотипом LTF^{AB} содержалось на 76,5 тыс./мл соматических клеток больше, чем у сверстниц с генотипом LTF^{AA} ($P < 0,001$).

Таблица 3 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену лактоферрина по третьей лактации

Показатели	Генотип	
	LTF ^{AA} (n = 134)	LTF ^{AB} (n = 76)
Удой за 305 дней лактации, кг	8932,5 ± 124,30	8883,3 ± 155,40
Жирномолочность, %	3,71 ± 0,02	3,72 ± 0,03
Количество молочного жира, кг	331,8 ± 5,46	330,2 ± 6,36
Белковомолочность, %	3,28 ± 0,01	3,29 ± 0,01
Количество молочного белка, кг	292,6 ± 4,05	292,8 ± 5,34
Количество соматических клеток, тыс./мл	174,6 ± 6,92	241,0 ± 14,81***

*Примечание – *** межгрупповые различия статистически достоверны при $P < 0,001$*

Данные таблицы 3 показывают, что по третьей лактации коровы с генотипом LTF^{AB} имели удой на 49,2 кг, количество молочного жира на 1,6 кг ниже, а жирномолочность и белковомолочность на 0,01 % и количество молочного белка на 0,2 кг выше по сравнению с животными с генотипом LTF^{AA} ($P > 0,05$). Как и по первой и второй лактации, так и по третьей отмечено более высокое содержание соматических клеток в молоке коров с генотипом LTF^{AB} (на 66,4 тыс./мл), чем у сверстниц с генотипом LTF^{AA} ($P < 0,001$).

Заключение. Таким образом, установлено, что коровы с генотипом LTF^{AA} имели удой на 40,9-49,2 кг выше, чем гетерозиготные особи по гену лактоферрина. Выявлено положительное влияние генотипа LTF^{AA} на содержание в молоке соматических клеток. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование ДНК-диагностики по гену лактоферрина в селекции крупного рогатого скота и отбор животных-носителей желательного генотипа LTF^{AA} позволит повысить удой, а также снизить количество соматических клеток в молоке.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шейко, И. П. Перспективы научной и инновационной деятельности в животноводстве Беларуси / И. П. Шейко // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2018. – Т. 56, № 2. – С. 188-199.
2. Епишко, О. А. Использование гена гормона роста в селекции крупного рогатого скота / О. А. Епишко, Н. Н. Пешко // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр. УО «ГГАУ», Гродно, 2017. – Т. 37 (Зоотехния). – С. 60-67.
3. Контролируем мастит. Комментарии к республиканскому регламенту «Организационно-технологические требования при производстве молока на молочных комплексах промышленного типа» / А. Ю. Финюгов [и др.] // Белорусское сельское хозяйство. – 2015. – № 8. – С. 10-13.
4. Association of polymorphism within LTF gene promoter with lactoferrin concentration in milk of Holstein cows / T. Zabolewicz [et al.] // Polish Journal of Veterinary Sciences. – 2014. – № 4. – P. 633-641.
5. Sharifzadeh, A. Study of lactoferrin gene polymorphism in Iranian Holstein cattle using PCR-RFLP technique/ A. Sharifzadeh, A. Doosti // Global Veterinaria. – 2011. – № 6 (6). – P. 530-536.

6. Doust, H. Association between bovine lactoferrin gene variant and somatic cell count in milk based on EcoRI restriction site / H. Doust [et al.] // Iranian Journal of Veterinary Research. – 2013. – P. 62-65.
7. Identification of Lactoferrin gene Polymorphism and its association with Mastitis incidence / A. Chopra [et al.] // Journal of Animal Research. – 2013. – V. 3, № 1. – P. 103-108.
8. Polymorphism of Lactoferrin gene with PCR – RFLP and its association with subclinical mastitis in dairy cows / Changhong Zhao [et al.] // Modern Applied Science. – 2009. – V. 3, № 2. – P. 144-146.
9. Епишко, О. А. Разработка и адаптация методики генотипирования крупного рогатого скота по гену лактоферрина / О. А. Епишко, В. В. Пешко, А. А. Ситько // Сельское хозяйство – проблемы и перспективы: сб. науч. тр. УО «ГГАУ», Гродно, 2019. – Т. 44 (Зоотехния). – С. 167-173.
10. Меркурьева, Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – М.: Колос, 1977. – 239 с.
11. Плохинский, Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М.: АН СССР, 1969. – 360 с.

УДК 636.52/58.084.1.413:633.35

КОРМОВЫЕ БОБЫ В РАЦИОНЕ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ

Н. А. Кисла¹, А. В. Малец¹, Д. В. Шешко²

¹ – УО «Гродненский государственный аграрный университет»

г. Гродно, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 230008,

г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail: ggau@ggau.by);

² – ЧПУП «Алникорпродукт Вертелишки»

д. Вертелишки, Республика Беларусь (Республика Беларусь, 231751,

Гродненский р-н, д. Вертелишки, ул. Советская, 25)

Ключевые слова: цыплята-бройлеры, кормовые бобы, протеин, кормление птицы.

Аннотация. Установлено, что введение кормовых бобов в состав комбикормов для кормления цыплят-бройлеров в количестве 5 и 10 % положительно влияет на показатели живой массы и динамику приростов живой массы птицы. За весь период откорма среднесуточный прирост достигал достаточно высокого уровня. В группе, в которой скармливали комбикорм, содержащий кормовые бобы в количестве 5 %, он составил 62,30 г, что выше показателя контрольной группы на 0,9 %. В группе, где включенные кормовые бобы занимали 10 % от структуры комбикорма, среднесуточный прирост был 62,53 г, а это выше контроля на 1,2 %. В группе, которой скармливали комбикорм, содержащий кормовые бобы в количестве 15 %, – 61,53 г, что ниже показателей контрольной группы на 0,4 %.