

УДК 636.2.082

## МОНИТОРИНГ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ ЧЕРНО-ПЕСТРЫХ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ И ЗАПАДНОЕВРОПЕЙСКОЙ СЕЛЕКЦИИ К СИНДРОМУ ИММУНОДЕФИЦИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА (BLAD-СИНДРОМУ)

**Р.В. Трахимчик**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 27.05.2010 г.)

**Аннотация.** В соответствии с Республиканской комплексной программой по племенному делу в животноводстве на период 2005-2010 гг. повышение генетического потенциала молочного скота должно осуществляться на основе принципов и методов чистопородного разведения с использованием генотипов ценных родственных пород мирового генофонда. Для улучшения разводимого в республике скота используются породы западноевропейской селекции. Голштинская порода крупного рогатого скота – одна из лучших специализированных молочных пород мира. Однако интенсивный, из поколения в поколение отбор животных по молочности и максимальное использование небольшого количества производителей-улучшителей без учета инбридинга привел к ряду нежелательных последствий. В результате в наследственности голштинов постепенно накопились нежелательные рецессивные мутации, одной из которых является синдром иммунодефицита (BLAD), имеющий наиболее серьезные экономические последствия.

**Summary.** According to the republican complex program on breeding business in animal industries for 2005-2010, rising of genetic potential of milk cattle it should be carried out on the basis of principles and methods of thoroughbred delution with use of genotypes of valuable related breeds of a world gene pool. For improvement of cattle planted in republic breeds of the West European selection are used. Golshtinsky breed of a horned cattle – one of the best specialised milk breeds of the world. However intensive, from generation to generation, selection of animals on молочности and the maximum use of a small amount of manufacturers-uluchshatelej without an inbreeding has led to series of undesirable consequences. In result, in a heredity Holstein the undesirable recessive mutations one of which is the immunodeficiency syndrome (BLAD), having the most serious economic consequences have gradually collected.

**Введение.** В настоящее время в нашей стране животноводство является ведущей отраслью сельскохозяйственного производства, поставщиком ценных продуктов питания для человека и сырья для промышленности. Следовательно, встает вопрос о повышении количества получаемой продукции и улучшения ее качества. Для этого в республике разработана и принята к реализации Республиканская комплексная программа по племенному делу в животноводстве на период 2005-2010 гг. [10]. В соответствии с ней повышение генетического потен-

циала молочного скота должно осуществляться на основе принципов и методов чистопородного разведения с использованием генотипов ценных родственных пород мирового генофонда. Для улучшения разводимого в республике скота используются породы западноевропейской селекции. Голштинская порода крупного рогатого скота — одна из лучших специализированных молочных пород мира. Однако интенсивный, из поколения в поколение отбор животных по молочности и максимальное использование небольшого количества производителей-улучшателей без учета инбридинга привел к ряду нежелательных последствий. В результате в наследственности голштинов постепенно накопились нежелательные рецессивные мутации, одной из которых является синдром иммунодефицита (BLAD), имеющий наиболее серьезные экономические последствия. Ежегодный экономический ущерб от этого заболевания в США определяют в пределах 5 млн. долларов [5, 8].

BLAD — это аутосомное рецессивное непатогенное заболевание, приводящее к нарушению иммунного ответа организма на инфекционные агенты. Клинические симптомы проявления мутации в гомозиготном состоянии разнообразны, однако доминируют нарушения респираторной функции и функции желудочно-кишечного тракта. Организм животных, несущих в своем генотипе мутантный аллель в гетерозиготном состоянии ( $CD18^{P/BL}$ ), не способен противостоять вирусным и бактериальным инфекциям, что приводит к снижению иммунитета животных, соответственно нарушает их развитие и в дальнейшем ведет к снижению продуктивности. Гомозиготные носители мутантного гена ( $CD18^{P/PL}$ ) фенотипических отклонений не имеют. Животные с генотипом  $CD18^{BL/BL}$  погибают в первые месяцы постнатального развития.

Мутация приводит к множественным дефектам функции лейкоцитов. Миграция лейкоцитов к месту проникновения патогенов оказывается заблокированной, что исключает эти клетки из процесса уничтожения инфекции и вызывает усиление восприимчивости к инфекции. Мутация в гене CD18 нарушает нормальную функцию нейтрофилов, которые теряют способность мигрировать через эпителий капилляров и субэпителиальные мембраны. Наблюдаются характерные изменения в сывороточных белках (гипоальбуминемия и гиперглобулинемия) и острая нейтрофилия. Картина крови у больных животных по лейкоцитарному составу напоминает лейкоз [2, 3, 7, 9]. Родоначальником мутации является бык шведской селекции Осборндайл Айвенго 1189870 (1952 г. рожд.), считавшийся выдающимся производителем. Спустя 40 лет, когда стало известно, что он является носителем BLAD-синдрома,

его наследственный материал оказался широко распространенным среди черно-пестрых и красно-пестрых пород крупного рогатого скота. Впоследствии потомки Осборндайл Айвенго попали в Западную Европу и страны СНГ [6].

Для оценки взаимосвязи между носительством мутации и воспроизводительными качествами быков-производителей проводят сравнение воспроизводительных качеств и качества спермопродукции животных различных генотипов по гену CD18 на линейном уровне. Рассматривают показатели быков-производителей, принадлежащих к различным линиям, имеющим носителей мутации. Установлено, что в среднем по линиям, значения таких показателей, как количество эякулятов, получено спермы (мл), объем эякулята (мл), концентрация спермы (млр/мл), активность спермиев (%), осемено маток (гол.), процент оплодотворения (%), отелилось маток (гол.) находились примерно на одном уровне и существенных различий в зависимости от наличия у животных мутантного аллеля CD18<sup>BL</sup> не имели. Но все же у животных генотипа CD18<sup>TL/BL</sup> выявлен более низкий процент оплодотворения по сравнению с животными генотипа CD18<sup>TL/TL</sup> [1]. Полученные данные не могут не вызывать озабоченности, прежде всего, за качество используемых в нашей стране быков-производителей. По нашему мнению, при завозе скота необходимо производить тестирование с целью выявления аллелей, отрицательно влияющих на устойчивость к заболеваниям. В связи с этим необходим строгий генетический контроль генетического материала и изучение возможных механизмов их распространения.

Анализ данных показывает, что если на первом этапе поток мутантных генов в стадо шел, в основном, через быков-производителей, замороженное семя и трансплантацию эмбрионов, то дальнейшее его распространение связано с использованием гетерозиготных быкопроизводящих коров.

Высокая скорость распространения неблагоприятных мутаций определяется рецессивным характером их наследования. Продукты таких генов, как правило, участвуют в регуляции тканеспецифичных функций и неблагоприятные эффекты мутантного аллельного варианта компенсируются в гетерозиготе нормальной функцией аллеля дикого типа. Селекция на уровне фенотипа является неэффективной в связи с низкой частотой гетерозигот по отношению к гомозиготам [7].

Своевременное выявление носителей данной мутации позволит избежать скрещивания двух гетерозиготных особей или, наоборот, использовать при разведении под контролем в случае их высокой препопентности. Чтобы не допустить дальнейшего бесконтрольного распро-

странения мутации, необходимо, наряду с тестированием быков-производителей, проводить тестирование популяций быкопроизводящих коров и ремонтного молодняка. Выявление в популяциях скрытых генетических дефектов (мутаций), снижающих племенные качества животных, позволит решить проблему повышения резистентности племенного поголовья и сохранения молодняка. Поэтому актуальным является выявление и исключения животных-носителей генетически обусловленного BLAD-синдрома и оздоровления селекционно-племенного поголовья республики [4, 11].

**Цель работы:** исследование генетических ресурсов быков-производителей РУСП «Гродненское племпредприятие» по гену CD 18 и их наследственной устойчивости к BLAD-синдрому крупного рогатого скота.

**Материал и методика исследований.** Исследования проводились на кафедре генетики и разведения сельскохозяйственных животных УО «Гродненский государственный аграрный университет», в лаборатории промышленной биотехнологии УО «Полесский государственный университет» и в лаборатории ДНК-технологий РУП «Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси по животноводству». Объектом исследований являлся генетический материал (семя) быков-производителей черно-пестрой породы отечественной и западноевропейской селекции с различной кровностью по голштинской породе, содержащихся на Щучинском филиале РУСП «Гродненское племпредприятие». Было отобрано 75 спермодоз от быков-производителей различных линий голштинского (линии Рефлекшн Соверинг 198998, Монтвик Чифтейн 95679, Осборндейл Иванхое 1189870, Пакломар Астронавт 1458744, Вис Айдиал 933122, Тэд Бек Элевейшн 149007, Пабст Говернера 882933, Силинг Трайджун Рокит 252803, Пони Фарм Арлинда Чиф 1427381) и голландского (линии Аннес Адема 30587, Хильтьес Адема 37910, Нико 31652, Колдхостера Янке Катса 2233, Рутьес Эдуарда 31646) корня. Исходным материалом служили образцы ДНК, выделенные из замороженных образцов семени животных. ДНК-диагностику генотипов по гену CD18 (BLAD) проводили с использованием метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Ядерную ДНК выделяли из разбавленной спермы перхлоратным методом с собственными модификациями. Основные растворы для выделения ДНК, амплификации и рестрикции готовили по Маниатису Т., Фрич Э., Сэмбруку Дж. [7].

Реакция ПЦР проводилась в оптимизированном составе реакционной смеси с использованием праймеров BLAD1 и BLAD2:

BLAD1: 5' -TGA GAC CAG GTC AGG CAT TGC GTT CA- 3'  
 BLAD2: 5'- CCC CCA GCT TCT TGA CGT TGA CGA GGT C -3'.

Для проведения рестрикции применялась эндонуклеаза TaqI.

Результаты расщепления продуктов ПЦР оценивались электрофоретическим методом в агарозном геле, окрашенном бромистым этидием с помощью трансиллюминатора в ультрафиолетовом свете. Для анализа распределения рестрикционных фрагментов ДНК использовали компьютерную видеосистему и программу VITran [12].

Селекционно-генетические параметры основных хозяйственно-полезных признаков определяли методами биологической статистики в описании П.Ф. Рокицкого и Н.А. Плохинского, используя при этом компьютерные программы (Microsoft Excel, Minitab 14 Demo и SPSS).

**Результаты исследований и их обсуждение.** Распространение у крупного рогатого скота наследственного заболевания - синдрома врожденного иммунодефицита (BLAD-синдрома) – связывают с широким использованием быков-производителей голштинской породы – носителей этой мутации. В большинстве развитых стран Европы и Америки проводится ДНК-диагностика носительства BLAD-синдрома у племенных животных, по результатам которой быки-производители, являющиеся носителями мутации гена CD18, не допускаются для племенного использования.

Нами было протестировано 75 быков-производителей, содержащихся в РУСП «Гродненское племпредприятие» на наличие BLAD - синдрома. Данные о частоте встречаемости генотипов аллелей гена CD18 в разрезе линий представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Частота встречаемости генотипов и аллелей гена CD18

Линия	n	Частота встречаемости аллелей		Частота встречаемости генотипов, %	
		TL	BL	TL/TL	TL/BL
1	2	3	4	5	6
<b>Голштинский корень</b>					
Монтвик Чифтейн 95679	8	0,94	0,06	87,5	12,5
Рефлекшн Соверинг 198998	11	1,00	-	100	-
Осборндейл Иванхое 1189870	2	1,00	-	100	-
Пакламар Астронавт 1458744	2	1,00	-	100	-
Вис Айдиал 933122	16	0,97	0,03	93,75	6,25
Тед Бек Элевейшн 149007	2	1,00	-	100	-
Пабст Говернор 882933	4	1,00	-	100	-
Силинг Трейджун Рокит 252803	5	1,00	-	100	-

Пони Фарм Арлинда Чиф 1427381	8	0,94	0,06	87,5	12,5
<b>В среднем</b>	<b>58</b>	<b>0,98</b>	<b>0,02</b>	<b>96,53</b>	<b>3,74</b>

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6
<b>Голландский корень</b>					
Аннас Адема 30587	4	1,00	-	100	-
Хильтес Адема 37910	7	1,00	-	100	-
Никко 31652	3	1,00	-	100	-
Колдохстера Янке Катса 2233	1	1,00	-	100	-
Рутьес Эдуарда 31646	2	1,00	-	100	-
<b>В среднем</b>	<b>17</b>	<b>1,00</b>	<b>-</b>	<b>100</b>	<b>-</b>

Из данных таблицы 1 видно, что генотип CD18<sup>TL/BL</sup> был идентифицирован только у трех производителей голштинского корня линий Монтвик Чифтейн 95679, Вис Айдиал 933122, Пони Фарм Арлинда Чиф 1427381. Частота встречаемости генотипа CD18<sup>TL/TL</sup> в популяциях быков данных линий составила 87,5%, 93,75%, 87,5%, а генотипа CD18<sup>TL/BL</sup> – 12,5%, 6,25% и 12,5% соответственно. В популяции быков-производителей голландского корня животных с генотипом CD18<sup>TL/BL</sup> не выявлено.

Результаты исследования по определению генетической структуры быков-производителей различного происхождения по локусу гена CD18 представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Генетическая структура быков-производителей различного происхождения по локусу гена CD18

Линии	n	Количество быков с генотипом гена CD18			
		TL/TL		TL/BL	
		гол.	%	гол.	%
Голштинского корня	58	55	94,8	3	5,2
Голландского корня	17	17	100	-	-

Данные, представленные в таблице 2, свидетельствуют о том, что у отобранных быков чаще встречается генотип CD18<sup>TL/TL</sup>, чем генотип CD18<sup>TL/BL</sup>. Так, у быков линий голштинского корня он обнаружен у 58 животных (94,8%), а у быков линий голландского – у 17 (100%). Среди популяций быков-производителей голштинского и голландского корня генотип CD18<sup>BL/BL</sup> не выявлен.

**Заключение.** В соответствии с Республиканской комплексной программой по племенному делу в животноводстве на период 2005-2010

гг. повышение генетического потенциала молочного скота должно осуществляться на основе принципов и методов чистопородного разведения с использованием генотипов ценных родственных пород мирового генофонда. Для улучшения разводимого в республике скота используются породы западноевропейской селекции. Однако интенсивный, из поколения в поколение отбор животных по молочности и максимальное использование небольшого количества производителей-улучшателей без учета инбридинга привел к ряду нежелательных последствий. В результате в наследственности голштинов постепенно накопились нежелательные рецессивные мутации, одной из которых является синдром иммунодефицита (BLAD), имеющий наиболее серьезные экономические последствия.

Клинические симптомы проявления данной мутации в гомозиготном состоянии разнообразны, однако доминируют нарушения респираторной функции и функции желудочно-кишечного тракта. Мутация в гене CD18 нарушает нормальную функцию нейтрофилов, которые теряют способность мигрировать через эпителий капилляров и субэпителиальные мембраны. Наблюдаются характерные изменения в сывороточных белках (гипоальбуминемия и гиперглобулинемия) и острая нейтрофилия. Нами было протестировано 75 быков-производителей в РУСП «Гродненское племпредприятие» по гену CD18. Установлено, что генотип CD18<sup>TL/BL</sup> был идентифицирован только у трех производителей голштинского корня линий Монтвик Чифтейн 95679, Вис Айдиал 933122, Пони Фарм Арлинда Чиф 1427381. Частота встречаемости генотипа CD18<sup>TL/TL</sup> в популяциях быков линий голштинского корня составила 87,5%, 93,75%, 87,5%, а генотипа CD18<sup>TL/BL</sup> - 12,5%, 6,25% и 12,5% соответственно. В популяции быков-производителей голландского корня животных с генотипом CD18<sup>TL/BL</sup> не выявлено.

Результаты исследования по определению генетической структуры быков-производителей различного происхождения по локусу гена CD18 свидетельствуют о том, что у отобранных быков чаще встречается генотип CD18<sup>TL/TL</sup>, чем генотип CD18<sup>TL/BL</sup>. Так, у быков линий голштинского корня он обнаружен у 58 животных (94,8%), а у быков линий голландского корня – у 17 (100%). Среди популяций быков-производителей голштинского и голландского корня генотип CD18<sup>BL/BL</sup> не выявлен.

Таким образом, использование результатов проведенного ДНК - тестирования быков-производителей Щучинского филиала РУСП «Гродненское племпредприятие» позволит внедрять генетический маркер гена CD18 в селекционный процесс крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы, что обеспечит решение важной

народно-хозяйственной проблемы проведения в нашей республике маркер-направленной селекции с целью формирования стад животных, способных противостоять вирусным и бактериальным инфекциям с высоким иммунитетом и повышения молочной продуктивности коров с более высоким качеством.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Брэм, Г. Воспроизводительные качества быков-производителей в зависимости от гена CD18 / Г. Брэм, Б. Бренинг // Генетика. - 1993.-Т.29.-№ 6.- С. 18-21.
2. Винничук, Д.Т. Ген «VLAD» в наследственности голштинского скота / Д.Т. Винничук, А.А. Созинов // Вісн. аграр. науки, 1994- № 6- С.44-46.
3. Глазко, В.И. Введение в ДНК – технологию / В.И. Глазко, И.М. Дуниц, Г.В. Глазко // - М., ФГНУ «Росинформагротех», 2001.- С. 434.
4. Епишко, Т.И. Зоотехническая наука Беларуси / Т.И. Епишко, О.П. Курак // Сб. науч. тр. Т. 42 / Науч. – практический центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству, - Жодино, 2008. – С. 66.
5. ДНК-технологии оценки сельскохозяйственных животных / Л.А. Калашникова [и др.] // – Лесные Поляны, 1999. – С. 147.
6. Зоотехническая наука Беларуси / И.Н. Коронец [и др.] Науч. –практический центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству, - Жодино, 2008. сб. науч. тр. Т. 43, Ч. 1 – С.57
7. Маниатис, Т. Молекулярное клонирование / Э. Фрич, Дж. Сэмбрук // - М., “Мир”, - 1984.- С.480.
8. Скрининг гена VLAD-синдрома у животных черно-пестрого корня / Н.С. Марзанов [и др.] // Ветеринарная медицина, - 2000.- № 3.-С.59-61.
9. Меркурьева, Е.К. Генетика с основами биометрии / Е.К. Меркурьева, Г.Н. Шангин // М.: Колос, 1983. – С.357.
10. Республиканская комплексная программа по племенному делу в животноводстве. Основные зоотехнические документы по селекционно-племенной работе в животноводстве: сборник технологической документации / Науч.-практический центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству; рук. разработ. Н.А. Попков [и др.]. – Жодино: Науч.-практический центр НАН Беларуси по животноводству, 2008. – С.475.
11. Шейко, И.П. Зоотехническая наука Беларуси / И.П. Шейко [и др.] // Сб. науч. тр. Т. 41, ч. 2: науч. – практический центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству – Жодино, 2008. – С. 109.
12. Шейко, И.П. Методические рекомендации по применению ДНК – тестирования в животноводстве Беларуси / И.П. Шейко [и др.] // Науч. – практический центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству – Жодино, 2006. – С.12.

УДК 636.52/.58:636.87.8

## **ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОБИОТИКОВ В КОРМЛЕНИИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ**

**О.А.Чергейко**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»,  
г. Гродно, Республика Беларусь

*(Поступила в редакцию 04.06.2010 г.)*