

ния в год по отношению к начальному уровню продуктивности стада выше на 9,9-19,2 руб., чем при использовании показателя PCOC. Кроме того, более эффективным является вариант отбора 30% маток с лучшими показателями PCOCm. Он позволяет получить дополнительный доход на 1 свиноматку в год выше на 34,7 руб., или на 13,4 у.е., чем ведение отбора с учетом среднего по стаду значения данного показателя.

- при осуществлении селекции на многоплодие установлена эффективность использования, на фоне предварительно проведенного отбора по характеру полиморфизма комплекса ДНК-маркеров MUC4 (in 7) и EPOR, дополнительной оценки свиноматок по значениям показателя PCOCm. В результате в следующем поколении не только повышается уровень репродуктивных качеств маток стада, но и происходит очистка стада от негативных аллелей. При этом установлено, что использование во всех изученных вариантах отбора показателя PCOCm позволяет получить больший дополнительный доход на 1 свиноматку следующего поколения в год по отношению к начальному уровню продуктивности стада, чем показателя PCOC на 9,9-25,0 руб., или на 3,8-9,6 у.е., по отношению к начальному уровню продуктивности стада. Наибольший экономический эффект, составивший 104,2 руб., или 40,1 у.е., на 1 свиноматку следующего поколения в год, установлен при использовании предварительного отбора носителей в генотипе 50% и более аллелей MUC4 (in 7)^C и EPOR^T с дополнительным отбором 30% лучших свиноматок по значению показателя PCOCm.

Литература. 1. Дойлидов, В. А. Способ отбора свиноматок основного стада в селекционную группу : пат ВУ 21614 С1 / В. А. Дойлидов, Ю. И. Герман, Е. Н. Ляхова. – Оpubл. 02.28.2018. 2. Достижения и перспективы использования ДНК-технологий в свиноводстве: монография / Т. И. Епишко [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2012. – 256 с. 3. Епишко, О. А. Влияние комплексных генотипов генов ESR, PRLR, FSHβ и RYR1 на продуктивность свиноматок и хряков-производителей пород белорусская мясная и дюрок / О. А. Епишко // Проблемы интенсификации производства продуктов животноводства : тезисы Международной научно-практической конференции. – Жодино, 2008. – С. 49–51. 4. Лобан, Н. А. Влияние скрещивания и гибридизации на откормочную и мясную продуктивность свиней / Н. А. Лобан, В. А. Дойлидов // Свиноводство. – 2001. – № 3. – С. 5–6. 5. Молекулярная генная диагностика в свиноводстве Беларуси / Н. А. Лобан [и др.]. – Дубровицы : ВИЖ, 2005. – С. 42. 6. Основы этологии животных : учебное пособие для студентов ВУЗов по специальности «Зоотехния» / В. А. Дойлидов [и др.]. – Минск : Экоперспектива, 2008. – 164 с. 7. Шейко, И. П. Свиноводство : учебник / И. П. Шейко, В. С. Смирнов, Р. И. Шейко. – Минск : ИВЦ Минфина, 2013. – 376 с. 8. Шейко, И. П. Способ прогнозирования эффекта гетерозиса в свиноводстве : пат. RU 2340179 / И. П. Шейко, Н. А. Лобан, О. Я. Васильюк. – Оpubл. 10.12.2008. 9. Шейко, Р. И. Приемы и методы селекции свиней, обеспечивающие высокий эффект гетерозиса в системах тибридизации : монография / Р. И. Шейко. – Жодино : Научно-практический центр НАНБ по животноводству, 2012. – 263 с.

Поступила в редакцию 04.02.2021.

DOI 10.52368/2078-0109-2021-57-2-102-106

УДК 636.2.082.22:636.2.034 (476)

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ГЕНА МАННОЗА-СВЯЗЫВАЮЩЕГО ЛЕКТИНА (MBL1) В СЕЛЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА

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

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

В популяции коров белорусской черно-пестрой породы установлен полиморфизм гена манноза-связывающего лектина (MBL1). Выявлены генотипы MBL1^{TT}, MBL1^{TC} и MBL1^{CC}. Определена частота встречаемости аллелей и генотипов по гену манноза-связывающего лектина. Изучена молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену манноза-связывающего лектина. Установлено положительное влияние аллеля MBL1^C и генотипа MBL1^{CC} на показатели молочной продуктивности у коров. **Ключевые слова:** ген манноза-связывающего лектина, крупный рогатый скот, молочная продуктивность.

USING OF THE MANNANOSE-BINDING LECTIN (MBL1) GENE IN SELECTION OF CATTLE

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

Grodno State Agrarian University, Grodno, Republic of Belarus

In the population of cows of the Belarusian Black-and-white breed polymorphism of the mannose-binding lectin (MBL1) gene was found. The genotypes MBL1^{TT}, MBL1^{TC} and MBL1^{CC} were detected. The frequency of occurrence of alleles and genotypes for the mannose-binding lectins gene was determined. The milk productivity of cows with different genotypes for the mannose-binding lectins gene was studied. The positive effect of the MBL1^C allele and MBL1^{CC} genotype on the indicators of dairy performance in cows was defined. **Keywords:** mannose-binding lectin gene, cattle, milk productivity.

Введение. Сельскохозяйственная отрасль производства является одной из приоритетных в Республике Беларусь. Инновационное развитие животноводства особенно перспективно, так как именно в этой отрасли производится более 65% стоимости валовой продукции сельского хозяйства Республики Беларусь [3].

Разработка, внедрение и развитие новых методов биотехнологии позволяет максимально полно реализовывать генетический потенциал животных и увеличивать их долголетие и продуктивность.

Селекционно-племенная работа 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). Следовательно, в настоящее время племенная работа, наряду с традиционными методами, должна включать достижения в области генетики и биотехнологии животных [2].

Высокопродуктивные животные являются наиболее уязвимой технологической группой в связи с непосредственным влиянием на организм генетических и паратипических факторов. У данных животных усиленный обмен веществ направлен на максимальное производство молока, тем самым приводя к высокой чувствительности организма животных к дисбалансу и дефициту питательных веществ, витаминов и минеральных элементов в кормах. Неблагоприятные изменения внешних факторов могут приводить к серьезным обменным нарушениям.

У крупного рогатого скота с высокой молочной продуктивностью может наблюдаться негативная корреляция между устойчивостью организма к неблагоприятным факторам внешней среды и уровнем молочной продуктивности. Тем самым, чем выше уровень молочной продуктивности, тем меньше резистентность организма животного к воздействию неблагоприятных факторов внешней среды. Таким образом, возрастает риск возникновения заболеваний различной этиологии, в том числе и воспаления молочной железы.

Определение количества соматических клеток в молоке является одним из методов проведения анализа эпизоотологической ситуации в стаде. 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.

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. Количество соматических клеток в молоке находится в прямой зависимости от возраста и физиологического состояния животных, уровня и качества кормления, содержания и эксплуатации. Однако именно воспаление молочной железы является основной причиной увеличения количества соматических клеток в молоке [2].

По мнению Karthikeyan A. и других, потери производства при наличии мастита в стаде включают в себя: уменьшение молочной продуктивности (до 70%), отделение молока и его выбраковка после лечения (до 9%), затраты на ветеринарное обслуживание (до 7%), преждевременная выбраковка (до 14%) [6].

Научные исследования, направленные на изучение генетических факторов устойчивости к заболеваниям крупного рогатого скота, выявили возможность использования гена манноза-связывающего лектина в качестве потенциального гена кандидата для проведения маркерной селекции на устойчивость к маститам крупного рогатого скота [4, 5].

У большинства млекопитающих имеется 2 гена манноза-связывающего лектина MBL1 и MBL2, которые кодируют белки MBL-A и MBL-C. Манноза-связывающий лектин (MBL) представляет собой кальций-зависимый коллагеновый белок, принимающий активное участие в иммунном ответе организма животного. Одной из главных функций лектина является активизация системы комплемента при воздействии патогенных факторов. Выработка MBL происходит как ответная реакция на инфекционный агент, тем самым при попадании в кровь он становится частью механизма антиген-специфического иммунитета. Ген MBL1 крупного рогатого скота локализован на 26 хромосоме *Bostaurus* и состоит из 3 интронов и 4 экзонов и кодирует 249 аминокислот [1].

Исследования ряда авторов показали взаимосвязь между полиморфными вариантами гена MBL1 с устойчивостью к возбудителям различных инфекций, в том числе и маститу крупного рогатого скота.

Материалы и методы 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 MBL1 проводились в отраслевой научно-исследовательской лаборатории «ДНК-технологий» УО «Гродненский государственный аграрный университет».

ДНК-диагностику генотипов гена MBL1 проводили с использованием метода полимеразной цеп-

ной реакции (ПЦР) и полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Ядерную ДНК выделяли перхлоратным методом. Для амплификации участка гена MBL1 использовали следующие праймеры:

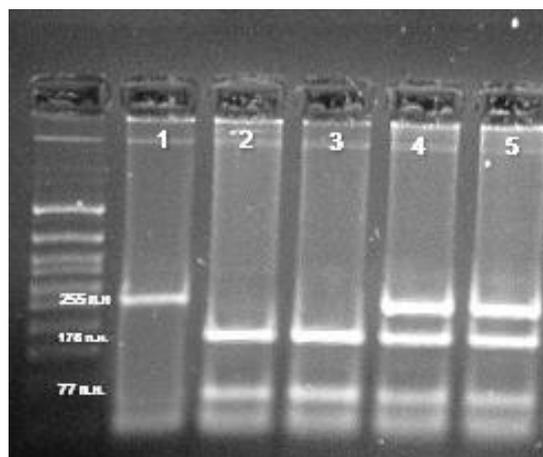
MBL1f: 5/-GTGGTGGCAAATGTTGGCTAAAC-3/ (23 н.)

MBL1r: 5/-TGGCTCTCCSTTTTCTCCSTT-3/ (21 н.)

ПЦР-программа включала в себя следующий режим: «горячий старт» при 94 °С в течение 5 минут, 35 циклов: денатурация при 94 °С – 30 сек., отжиг праймеров при 62 °С – 45 сек., синтез при температуре 72 °С - 45 сек; далее элонгация при 72°С в течение 5 минут.

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 манноза-связывающего лектина использовали эндонуклеазу HaeIII, которая имеет сайт рестрикции GG↑CC, CC↓GG, и продукт амплификации с длиной 255 п.н. Рестрикция проводится при температуре 37°С в течение 16 часов. При расщеплении продукта амплификации ПЦР с помощью эндонуклеазы HaeIII были идентифицированы следующие генотипы: MBL1^{TT} – 255 п.н., MBL1^{CC} – 178/77 п.н. и MBL1^{TC} – 255/178/77 п.н. (рисунок 1).



Обозначение: 1 – генотип ТТ (255 п.н.); 2,3 - генотип СС (178/77 п.н.); 4,5 – генотип ТС (255/178/77 п.н.)

Рисунок 1 – Результат ПЦР-ПДРФ анализа гена манноза-связывающего лектина (MBL1) крупного рогатого скота с эндонуклеазным расщеплением ферментом HaeIII

Частота встречаемости аллелей по гену манноза-связывающего лектина рассчитана по формуле 1 по Е.К. Меркурьевой [7].

$$pA = 2n AA + n AB / 2N$$

$$qB = 2n BB + n AB / 2N, \quad (1)$$

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 животные 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 менее 240 дней, а возраст при первом отеле составлял 26-30 месяцев. У животных с различными генотипами по изучаемому гену 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 [8], используя при этом компьютерную программу Microsoft Excel.

Результаты исследований. В результате проведенных исследований установлено, что соотношение частот аллеля MBL1^T и MBL1^C в популяции коров СПК имени И.П. Сенько (рисунок 2) находилось на уровне 0,464 и 0,536. Генотип MBL1^{TT} выявлен у 10,5% животных (22 головы), MBL1^{TC} – у 86,2% (181 голова) и MBL1^{CC} – у 3,3% (7 голов) (рисунок 3).

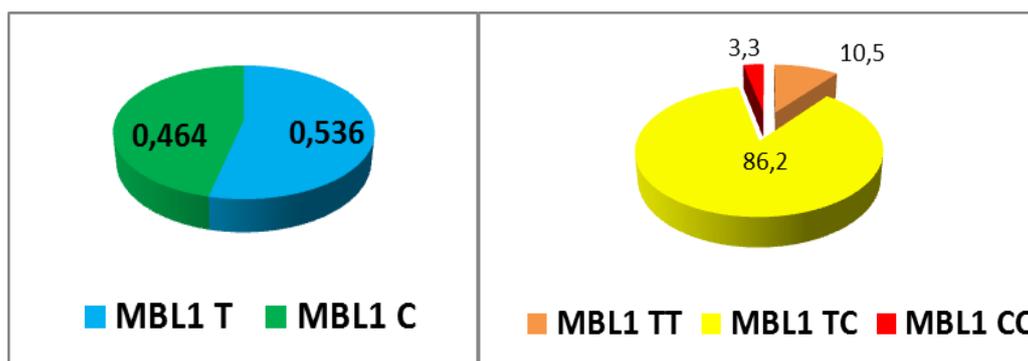


Рисунок 2 – Частота встречаемости аллелей гена манноза-связывающего лектина в популяции коров белорусской черно-пестрой породы

Рисунок 3 – Частота встречаемости генотипов гена манноза-связывающего лектина в популяции коров белорусской черно-пестрой породы

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

Таблица 1 – Молочная продуктивность первотелок с различными генотипами по гену манноза-связывающего лектина

Показатели	Генотип		
	MBL1 ^{TT} (n=22)	MBL1 ^{TC} (n=181)	MBL1 ^{CC} (n=7)
Удой за 305 дней лактации, кг	7132,4±172,57	7463,0±89,14	7478,7±536,98
Жирномолочность, %	3,62±0,03	3,71±0,02*	3,67±0,09
Количество молочного жира, кг	258,3±6,55	276,9±3,79*	275,6±22,35
Белковомолочность, %	3,23±0,02	3,28±0,01*	3,25±0,04
Количество молочного белка, кг	230,3±5,41	244,5±2,92*	244,0±18,78
Количество соматических клеток, тыс/мл	203,4±22,73	197,3±7,54	190,6±8,85

Примечание. * – межгрупповые различия между животными с генотипами MBL1^{TT} и MBL1^{TC} статистически достоверны при $P < 0,05$.

Анализ данных таблицы 1 показывает, что первотелки с генотипом MBL1^{CC} превосходили сверстниц с генотипами MBL1^{TC} и MBL1^{TT} по удою на 15,7 кг и 346,3 кг соответственно ($P > 0,05$). В молоке животных с генотипом MBL1^{CC} отмечено несколько меньшее (на 6,7-12,8 тыс/мл) содержание соматических клеток по сравнению с особями других генотипов ($P > 0,05$). Необходимо отметить, что первотелки с генотипом MBL1^{TC} достоверно превосходили сверстниц с генотипом MBL1^{TT} по жирномолочности на 0,09 п.п., количеству молочного жира – на 18,6 кг, белковомолочности – на 0,05 п.п. и количеству молочного белка – на 14,2 кг ($P < 0,05$).

Таблица 2 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену манноза-связывающего лектина по второй лактации

Показатели	Генотип		
	MBL1 ^{TT} (n=22)	MBL1 ^{TC} (n=181)	MBL1 ^{CC} (n=7)
Удой за 305 дней лактации, кг	7852,2±189,99	8216,2±98,13	8233,4±591,17
Жирномолочность, %	3,63±0,03	3,71±0,02*	3,67±0,08
Количество молочного жира, кг	285,0±7,20	305,2±4,19*	303,2±0,03
Белковомолочность, %	3,23±0,02	3,28±0,01*	3,24±0,03
Количество молочного белка, кг	253,4±5,99	269,2±3,23*	267,8±20,60
Количество соматических клеток, тыс/мл	200,6±20,55	197,8±7,88	194,3±14,33

Примечание. * – межгрупповые различия между животными с генотипами MBL1^{TT} и MBL1^{TC} статистически достоверны при $P < 0,05$.

Из данных таблицы 2 следует, что по второй лактации коровы с генотипом MBL1^{CC} характеризовались более высоким уровнем удоя (на 17,2-381,2 кг) и более низким количеством соматических клеток в молоке (на 3,5-6,3 тыс/мл), в отличие от особей других исследуемых групп ($P>0,05$). Животные с генотипом MBL1^{TC} по жирномолочности, количеству молочного жира, белковомолочности и количеству молочного белка превосходили коров с генотипом MBL1^{TT} на 0,08 п.п., 20,2 кг, 0,05 п.п. и 15,8 кг ($P<0,05$), а особей с генотипом MBL1^{CC} – на 0,04 п.п., 2,0 кг, 0,04 п.п. и 1,4 кг ($P>0,05$) соответственно.

Таблица 3 – Молочная продуктивность коров с различными генотипами по гену манноза-связывающего лектина по третьей лактации

Показатели	Генотип		
	MBL1 ^{TT} (n=22)	MBL1 ^{TC} (n=181)	MBL1 ^{CC} (n=7)
Удой за 305 дней лактации, кг	8558,9±207,08	8955,6±106,97	8974,4±644,37
Жирномолочность, %	3,63±0,03	3,72±0,02*	3,68±0,09
Количество молочного жира, кг	310,6±8,02	333,7±0,01*	331,9±27,47
Белковомолочность, %	3,24±0,02	3,29±0,01*	3,26±0,05
Количество молочного белка, кг	277,1±6,50	294,5±3,53*	293,5±23,14
Количество соматических клеток, тыс/мл	203,2±20,16	198,1±8,06	197,6±17,28

Примечание. * – межгрупповые различия между животными с генотипами MBL1^{TT} и MBL1^{TC} статистически достоверны при $P<0,05$.

Аналогичная тенденция отмечена и по третьей лактации (таблица 3). Так, животные с генотипом MBL1^{CC} имели удой на 18,8-415,5 кг выше, а количество соматических клеток на 0,5-5,6 тыс/мл ниже, по сравнению со сверстницами с генотипами MBL1^{TT} и MBL1^{TC}. Однако как по первой и второй лактациям, так и по третьей установлено превосходство коров с генотипом MBL1^{TC} по жирномолочности на 0,04-0,09 п.п., количеству молочного жира – на 1,8-23,1 кг, белковомолочности – на 0,03-0,05 п.п. и количеству молочного белка – на 1,0-17,4 кг, в отличие от особей с генотипом MBL1^{TT} ($P<0,05$) и MBL1^{CC} ($P>0,05$).

Заключение. Таким образом, установлено положительное влияние генотипа MBL1^{CC} на показатели удоя и количество соматических клеток в молоке. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование ДНК-диагностики по гену манноза-связывающего лектина в селекционном процессе и отбор животных-носителей желательного аллеля MBL1^C позволит повысить удой и качественные показатели молока.

Литература: 1. Абдуллина, Л. В. Ген манноза-связывающего лектина (MBL), и влияние его полиморфизма на устойчивость коров к маститу / Л. В. Абдуллина, Г. Р. Юсупова // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана. – Казань, 2019. – Т. 238 (II). – С. 4–9. 2. Контролируем мастит : комментарии к Республиканскому регламенту «Организационно-технологические требования при производстве молока на молочных комплексах промышленного типа» / А. Ю. Финогенов [и др.] // Белорусское сельское хозяйство. – 2015. – № 8. – С.10–13. 3. Шейко, И. П. Перспективы научной и инновационной деятельности в животноводстве Беларуси / И. П. Шейко // Вес. Нац. акад. Навук Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2018. – Т. 56, № 2. – С. 188–199. 4. Association study of genetic variants at single nucleotide polymorphism rs109231409 of mannose-binding lectins 1 gene with mastitis susceptibility in Vrindavani crossbred cattle / V. N. MuhasinAsaf [et al.] // Veterinary World, EISSN: 2231-0916. 5. Characterization and validation of point mutation in mbl1 gene and its relationship with mastitis in murrh buffalo (bubalus bubalis) / Kamaldeep Dhundwal [et al.] // Buffalo Bulletin. – 2019. – Vol. 38, № 3. – P. 451–457. 6. Genetic basis of mastitis resistance in cattle / A. Karthikeyan [et al.] // Environment and Technology. – 2016. – Vol. 5, № 4. – P. 2192–2199. 7. Меркурьева, Е. К. Генетические основы селекции в скотоводстве / Е. К. Меркурьева. – М. : Колос, 1977. – 239 с. 8. Плохинский, Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. – М. : АН СССР, 1969. – 360 с.

Поступила в редакцию 17.02.2021.