

**Key words:** polycystic liver, glomerulus, kidney, nefrotsity, degeneration.

Дата надходження в редакцію: 23.03.2013 р.

Рецензент: к.вет.н., професор Г.А. Зон

УДК 575:618.19-002:636.2.034

## ВИКОРИСТАННЯ ЛІМФОЦИТАРНИХ І ДНК-МАРКЕРІВ МНС-СИСТЕМИ ДЛЯ ВИЯВЛЕННЯ КОРІВ РЕЗИСТЕНТНИХ АБО ЧУТЛИВИХ ДО МАСТИТІВ

**Т. М. Супрович**, к.б.н., доцент, Подільський державний аграрно-технічний університет

*У популяції корів української чорно-рябої молочної породи виявлені антигени 1 класу BoLA-A і алелі гена BoLA-DRB3 асоційовані із стійкістю і сприйнятливістю до маститів. Отримана статистична модель імуногенетичного статусу для визначення індивідуальної інтегральної оцінки корів в зв'язку з маститами.*

**Ключові слова:** велика рогата худоба, мастит, українська чорно-ряба молочна порода, головний комплекс гістосумісності, алелі, статусметрія.

**Постановка проблеми у загальному вигляді.** Після вступу до СОТ в Україні впроваджуються нові європейські стандарти до виробництва продуктів харчування, що вимагає підвищення вимог до якості сирого молока та молочної продукції [3, 5]. Саме тому виробництво максимальної кількості високоякісного молока є важливим завданням тваринницької галузі.

Серед безлічі чинників, що впливають на показники продуктивності і якості молока, стан здоров'я молочної залози є визначальним. Серед хвороб в молочному скотарстві, які завдають найбільших збитків виробництву молока, як у кількісному вираженні, так і по якості молока перше місце утримують захворювання вимені, серед яких головним являється мастит [1, 6].

**Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання даної проблеми.** За даними вітчизняних авторів, захворювання корів на мастит в Україні охоплює від 10 до 70% стада, а 8 - 16% корів хворіють 2 рази і більше упродовж лактації [5]. Кількість корів, хворих на субклінічний мастит, в 3 - 5 разів перевищує кількість тварин з клінічними формами маститу [7].

Вітчизняною наукою і практикою досягнуті значні успіхи у вирішенні проблеми маститу у тварин. 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. Тривале і повсюдне, а іноді несистемне застосування хіміотерапевтичних засобів, привело до зниження ефективності лікування цього захворювання із-за утворення лікарсько-стійких штамів мікроорганізмів, що викликають розвиток запального процесу [7, 13].

Дослідження проведені в багатьох країнах світу свідчать, що серед великої кількості причин, які сприяють виникненню інтрамамарної інфекції корів, найбільш вагомою є генетична схильність

тварин до захворювання, а міра маститорезистентності певним чином залежить від спадкових якостей батьків [9, 11, 12].

Цим обумовлений інтерес до генетичних маркерів, застосування яких дозволяє здійснювати маркер-асоційовану селекцію і прогнозувати здоров'я тварин та їх господарсько-корисні якості. Важливим аспектом досліджень у цій галузі є потенційна можливість використання свійських тварин в якості моделей захворювань людини [7].

У широкому розумінні терміну генетичними маркерами можна вважати будь-які спадкові ознаки, за якими розрізняють стан окремих особин або сукупності тварин: як фенотипові (особливості морфологічної будови, стійкість до певних захворювань тощо), так і молекулярно-генетичні.

Основна проблема в селекції великої рогатої худоби на стійкість до маститів – це тривалість при оцінці корів, на яку може витратитися декілька років. Одним із методів раннього виявлення резистентних до маститів тварин є вивчення асоціативних зв'язків антигенів головного комплексу гістосумісності зі сприйнятливістю і стійкістю до даного захворювання. Головний комплекс гістосумісності (МНС) виконує цілий ряд функцій, із яких основними є: стимуляція утворення антитіл, реакція "трансплантат проти хазяїна", гени імунної відповіді, рестрикція імунної відповіді. Антигени МНС виконують роль поверхневих клітинних маркерів, які розпізнаються цитотоксичними Т-кілерами і Т-хелперами в комплексі антигенів. Продукти генів МНС класу I являють собою трансплантаційні антигени, розташовані на поверхні всіх соматичних клітин, за винятком клітин міокарда і деяких типів клітин слинних залоз. Особлива роль приділяється пошуку генів усередині МНС, що впливають на імунітет і резистентність до хвороб [14].

Антигени гістосумісності несуть генетичну інформацію про ступінь чутливості організму до етіологічних факторів багатьох патологій, властивих популяції. Виявлення позитивних асоціацій

деяких антигенів BoLA-системи з маститами, сприяло занесенню їх у список BoLA-залежних захворювань [10, 15].

За останнє десятиліття значно зріс інтерес дослідників до вивчення можливого зв'язку між алелями екзона 2 гена BoLA-DRB3 та стійкістю (сприйнятливістю) корів різних порід до маститів. Накопичено значний об'єм даних про наявність і характер розподілу алелів даного гена для різних популяцій, що дає змогу проводити аналіз стосовно можливого їх використання у якості генетичних ДНК-маркерів до різних захворювань [9, 11, 13].

**Мета роботи:** вивчення ролі і результативності використання молекулярно-генетичних методів з використанням головного комплексу гістосумісності в діагностиці маститів корів і в селекційно-племінній роботі для підвищення резистентності ВРХ.

**Матеріали та методи досліджень.** Виробничі дослідження проведено в племінних і товарних господарствах Хмельницької області.

За результатами багаторічного дослідження популяції корів української чорно-рябої молочної породи і постійного уточнення діагнозу сформована база з 649 корів, на основі якої проведено визначення "інформативних" антигенів I класу BoLA-A системи і досліджений поліморфізм алелів гена BoLA-DRB3 у зв'язку з резистентністю і сприйнятливістю до маститів.

Ідентифікація антигенів I класу BoLA-A системи проводилася стандартним двоступінчатим мікроцитотоксичним тестом за Kissmeyer-Nielsen в модифікації для великої рогатої худоби [2].

Спектр алелів гена BoLA-DRB3 вивчали за допомогою ПЛР, яку проводили із застосуванням готових наборів "GenPakR PCR Core", ТОВ "Лабораторія Ізоген". Для рестрикційного аналізу фрагмента екзона 2 гена BoLA-DRB3 використовували ендонуклеази рестрикції RsaI, HaeIII, BstYI (XhoI) фірм "Promega", "New England BioLabs" і HBO "СібЕнзим". Рестрикційні фрагменти розділяли за допомогою електрофорезу в 4% агарозному гелі [9].

Аналіз отриманих результатів здійснювали за допомогою стандартних біометричних показників [2]. Індивідуальна оцінка схильності до захворювання проводилася методом статусметрії [8].

**Результати роботи та їх обговорення** Вивчення спектру експресії антигенів в групах сприйнятливих і стійких до маститів корів, дозволяє виділити ряд "вагомих" по частоті виявлення антигенів. У наших дослідженнях у здорових тварин найчастіше виявлялися антигени MSU A19 (0,551), A17 (0,536), A21 (0,429) і A14 (0,406). Антигени W2 (0,046), W20 (0,084) і W14 (0,130) визначалися найменш рідко. У хворих маститами

корів найчастіше виявляються антигени MSU A19 (0,533), A24 (0,424) і A14 (0,424), найменш рідко - W10 (0,132) і W20 (0,151).

Частотний аналіз і порівняння між собою усього спектру антигенів гістосумісності за біометричними показниками, дозволили виявити асоціативний зв'язок із захворюваністю маститом для наступних 6 антигенів класу 1 BoLA-A системи: W2, W6, W31, W19, W15 і A13. Сприятливими відносно резистентності до маститів корів за результатами дослідження являються антигени BoLA A17 і A6 (табл. 1).

Методи популяційної генетики, які використовувалися для визначення "інформативних" антигенів, мають принциповий недолік. Знаходиться однозначна або одноваріантна модель, в якій необхідно знайти "головний" антиген серед десятків інших і зв'язати його з ознакою захворюваності. Але схильність до захворювання може розглядатися, як популяційна ознака тільки для певної групи тварин, об'єднаних на основі такої якості.

Важливішим, при практичному підході, є необхідність дати чітку індивідуальну характеристику кожної тварини в стаді, враховуючи можливу резистентність або сприйнятливість до захворювання. Така оцінка визначається персональним набором антигенів кожної тварини. Перехід від популяційного аналізу до визначення індивідуальної резистентності проводиться на основі статусметрії [8]. В результаті статусметричного обробітку даних отримано набір з 17 інформативних антигенів і лінійна модель, що дозволяє визначити імунний статус корови (Z), яка має наступний вигляд:

$$Z = 0,599 - 1,556W2 - 1,133W6 + 0,747W10 - 0,563W31 - 0,33W14 - 0,657W19 - 0,695W15 + 0,231A1 + 0,387A3 + 0,799A6 - 0,685A9 - 0,285A12 - 0,619A13 + 0,332A16 + 1,121A17 + 0,447A22 - 0,244A24$$

Для двох альтернативних станів "хворі - здорові" визначені умовні одиниці стану об'єкту  $\alpha_1 = -0,075$  і  $\alpha_2 = 0,188$ . При  $Z < -0,075$  - тварина сприйнятлива до маститів, а при  $Z > 0,188$  - резистентна. Якщо  $-0,075 \leq Z \leq 0,188$  - рішення невизначене.

Відповідно до величини індексів біля антигенів у лінійній моделі антигени W2, W6, W15, W19, A3 і W31 є несприятливими, тобто їх присутність у фенотипі тварини вказує на її схильність до маститів, а антигени A6 і A17 - сприятливими, тобто їх наявність впливає на резистентність корів до захворювання. Антигени ранжовано стосовно впливу на резистентність до маститу за коефіцієнтом  $B_i$  (табл.2). Антиген W2 є найбільш несприятливим, а A17 сприятливим відносно стійкості до маститів.

**Біометричні показники антигенного спектру корів  
української чорно-рябї молочної породи і їх зв'язок з маститами**

Антигени W(A)	Частота антигену <i>f</i>		Критерій відповідності $\chi^2$	Ступінь ризику <i>RR</i>	Атрибутивний ризик <i>AR</i>	Етіологічна фракція <i>EF</i>
	здорові	хворі				
W2***	0,046	0,237	50,02	6,381	0,2	0,117
W6***	0,171	0,431	52,7	3,671	0,314	0,195
W8	0,267	0,280	0,136	1,067	0,018	0,009
W21	0,226	0,247	0,381	1,121	0,027	0,014
W10	0,151	0,132	0,487	0,854	-0,023	-0,012
W20**	0,084	0,151	7,152	1,943	0,073	0,040
W31***	0,209	0,378	22,66	2,307	0,214	0,127
W44	0,183	0,184	0,003	1,011	0,002	0,001
W14	0,130	0,178	2,785	1,440	0,054	0,03
W19***	0,270	0,444	21,59	2,165	0,239	0,143
W15***	0,246	0,401	17,86	2,05	0,206	0,121
A1	0,287	0,247	1,334	0,814	-0,056	-0,029
A2	0,391	0,362	0,597	0,882	-0,048	-0,025
A3	0,307	0,270	1,105	0,833	-0,054	-0,028
A6***	0,333	0,178	20,34	-2,315	-0,234	-0,112
A7	0,168	0,188	0,416	1,142	0,023	0,013
A8	0,209	0,247	1,333	1,242	0,048	0,026
A9*	0,148	0,217	5,249	1,599	0,081	0,045
A10	0,212	0,217	0,029	1,033	0,007	0,004
A11	0,403	0,388	0,147	0,94	-0,025	-0,013
A12	0,252	0,299	1,806	1,267	0,063	0,035
A13***	0,304	0,503	26,71	2,316	0,286	0,176
A14	0,406	0,424	0,229	1,079	0,031	0,017
A15*	0,275	0,352	4,425	1,429	0,106	0,059
A16	0,365	0,313	2,000	0,79	-0,083	-0,042
A17***	0,536	0,286	41,5	-2,884	-0,539	-0,229
A18	0,359	0,411	1,831	1,245	0,081	0,045
A19	0,551	0,533	0,207	0,931	-0,04	-0,021
A21	0,429	0,395	0,782	0,868	-0,06	-0,031
A22	0,313	0,293	0,314	0,908	-0,03	-0,015
A23	0,374	0,393	0,242	1,083	0,03	0,016
A24	0,394	0,424	0,608	1,133	0,05	0,027

\*  $P \geq 0,95$ ; \*\*  $P \geq 0,99$ ; \*\*\*  $P \geq 0,999$ ; (по критерію відповідності)

Таблиця 2

**Характер розподілу "інформативних" BoLA - антигенів  
у корів української чорно-рябї породи (N = 649)**

BoLA антигени W (MSUA)	<i>f</i>	$B_i$	$\chi^2$	<i>RR</i>	<i>AR</i>	<i>EF</i>	
«несприятливі»	W2	0,136	-1,556	50,0	6,381	0,2	0,117
	W6	0,293	-1,133	52,7	3,671	0,314	0,195
	W15	0,319	-0,695	17,9	2,05	0,206	0,121
	W19	0,351	-0,657	21,6	2,165	0,239	0,143
	A13	0,398	-0,619	26,7	2,316	0,286	0,176
	W31	0,288	-0,563	22,7	2,307	0,214	0,127
«сприятливі»	A6	0,26	0,799	20,3	-2,315	-0,234	-0,112
	A17	0,419	1,121	41,5	-2,884	-0,539	-0,229

Характер розподілу алелів гена BoLA-DRB3 і його генотипів вивчали за допомогою ПЛР. У цьому дослідженні для ампліфікації ексона 2 гени BoLA-DRB3 використовували двохетапний метод проведення ПЛР із застосуванням праймерів HLO-30, HLO-31 і HLO-32. Порівняння ДНК-патернів, отриманих з використанням трьох рестрикційних ендонуклеаз RsaI, HaeIII і BstYI, дозволяє іденти-

фікувати 54 алелі гена BoLA-DRB3 (рис. 1).

В результаті дослідження методами ПЛР-ПДРФ і аель-специфічної ПЛР встановлено, що в чорно-рябїї популяції визначається 28 алелів з 54 відомих для гена BoLA-DRB3.2, який кодує антигени II класу ГКГ великої рогатої худоби. Аналіз відповідних алелів за біометричними показниками показаний в табл. 3.

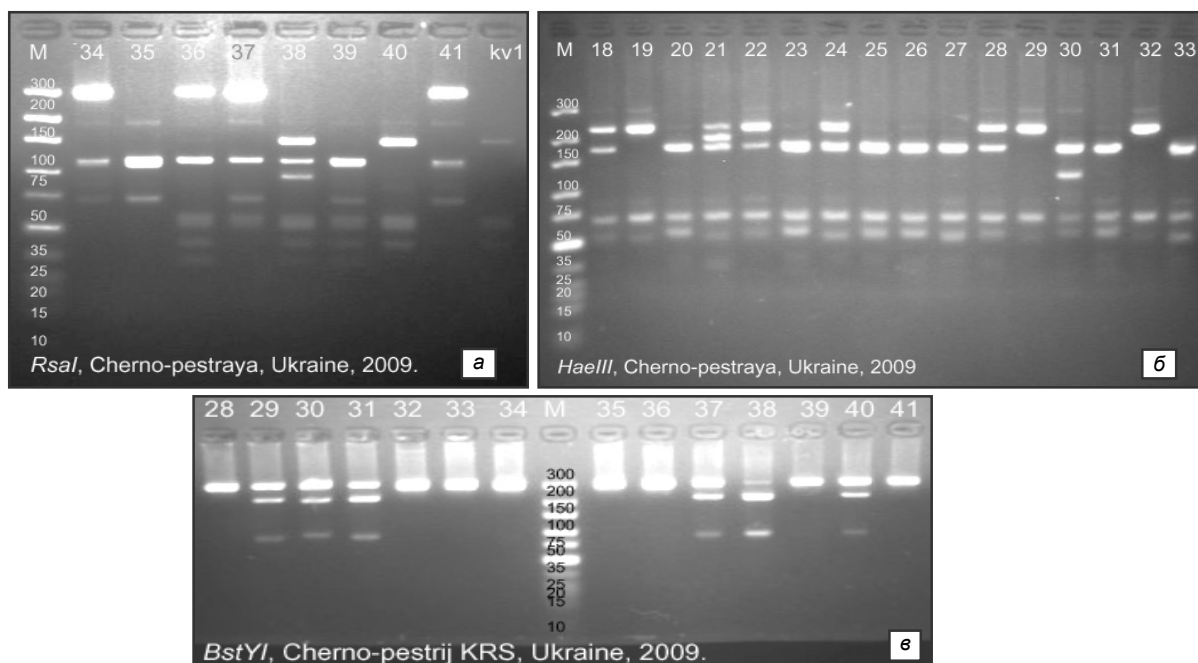


Рис.1. Рестрикційний аналіз продуктів ампліфікації екзона 2 гена BoLA-DRB3, отриманих на ДНК корів чорно-рябої породи з використанням різних ендонуклеаз:  
*а – RsaI; б – HaeIII; в - BstYI*

Таблиця 3

**Биометричні показники аельного спектру корів української чорно-рябої породи та їх зв'язок із захворюваністю маститами**

Алелі BoLA-DRB 3.2	Алелі		$\chi^2$	RR	Перевірка достовірності по $\chi^2$			
	кількість <i>n</i>	частота <i>P(A)</i>			(a+b)* (a+c)/N	(a+b)* (b+d)/N	(c+d)* (a+c)/N	(c+d)* (b+d)/N
<b>*01</b>	5	0,0154	0,729	-2,54	1,91	2,99	<b>60,1</b>	<b>96,9</b>
<b>*02</b>	8	0,0247	0,627	0,522	3,06	4,74	<b>58,9</b>	<b>95,1</b>
<b>*03</b>	19	0,0586	0,134	1,2	<b>7,27</b>	<b>11,4</b>	<b>54,7</b>	<b>88,3</b>
<b>*04</b>	7	0,0216	0,291	0,633	2,68	4,19	<b>59,3</b>	<b>95,7</b>
<b>*07</b>	16	0,0494	0,004	0,964	<b>6,12</b>	<b>9,48</b>	<b>55,9</b>	<b>90,1</b>
<b>*08</b>	24	0,0741	2,1	-2,05	<b>9,19</b>	<b>13,0</b>	<b>52,8</b>	<b>85,2</b>
<b>*10</b>	17	0,0525	0,631	0,643	<b>6,51</b>	<b>9,76</b>	<b>55,5</b>	<b>89,5</b>
<b>*11*</b>	5	0,0154	3,8	6,83	1,91	3,18	<b>60,1</b>	<b>96,9</b>
<b>*12</b>	12	0,037	0,755	1,68	4,59	<b>7,41</b>	<b>57,4</b>	<b>92,6</b>
<b>*13*</b>	17	0,0525	5,65	-5,29	<b>6,51</b>	<b>9,13</b>	<b>55,5</b>	<b>89,5</b>
<b>*15</b>	6	0,0185	2,13	3,38	2,30	3,78	<b>59,7</b>	<b>96,3</b>
<b>*16</b>	2	0,0062	1,26	-3,17	0,77	1,21	<b>61,2</b>	<b>98,8</b>
<b>*18</b>	8	0,0247	4,81	5,25	3,06	<b>5,14</b>	<b>58,9</b>	<b>95,1</b>
<b>*20</b>	3	0,0093	0,032	0,803	1,15	1,83	<b>60,9</b>	<b>98,2</b>
<b>*21</b>	6	0,0185	2,13	3,38	2,30	3,78	<b>59,7</b>	<b>96,3</b>
<b>*22*</b>	39	0,1204	5,02	-2,52	<b>14,9</b>	<b>19,0</b>	<b>47,1</b>	<b>75,9</b>
<b>*23</b>	6	0,0185	0,064	0,8	2,3	3,63	<b>59,7</b>	<b>96,3</b>
<b>*24*</b>	38	0,1173	4,33	2,17	<b>14,5</b>	<b>23,9</b>	<b>47,5</b>	<b>76,5</b>
<b>*25</b>	2	0,0062	1,26	-3,17	0,77	1,21	<b>61,2</b>	<b>98,3</b>
<b>*26**</b>	14	0,0432	7,13	4,62	<b>5,36</b>	<b>9,16</b>	<b>56,6</b>	<b>91,4</b>
<b>*28</b>	25	0,0772	1,18	1,61	<b>9,57</b>	<b>15,3</b>	<b>52,4</b>	<b>84,6</b>
<b>*31</b>	2	0,0062	1,26	-3,17	0,77	1,21	<b>61,2</b>	<b>98,8</b>
<b>*32</b>	10	0,0309	1,51	-2,61	3,83	<b>5,80</b>	<b>58,2</b>	<b>93,8</b>
<b>*36</b>	10	0,0309	6,61	-14,5	3,83	<b>5,56</b>	<b>58,2</b>	<b>93,8</b>
<b>*37**</b>	11	0,034	0,604	0,585	4,21	<b>6,45</b>	<b>57,8</b>	<b>93,2</b>
<b>*41</b>	2	0,0062	3,27	8,31	0,77	1,26	<b>61,2</b>	<b>98,8</b>
<b>*42</b>	2	0,0062	0,118	1,62	0,77	1,23	<b>61,2</b>	<b>98,8</b>
<b>*48*</b>	8	0,0247	4,81	5,25	3,06	<b>5,14</b>	<b>58,9</b>	<b>95,1</b>

*P* ≥ 0,95; \* *P* ≥ 0,99; (за критерієм відповідності)

Значимими за критерієм  $\chi^2$  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 ( $\chi^2 = 7,13$ ) і \*36 ( $\chi^2 = 6,61$ ). Шість алелів мають мінімальний поріг достовірності  $P = 0,95$ : \*13 ( $\chi^2 = 5,65$ ), \*22 ( $\chi^2 = 5,02$ ), \*18 і \*48 ( $\chi^2 = 4,82$ ), \*24 ( $\chi^2 = 4,33$ ) і \*11 ( $\chi^2 = 3,8$ ).

За критерієм відносного ризику на значимі асоціації зі сприйнятливостю чи стійкістю до маститів мають 17 алелів. На зв'язок із захворюваністю ( $RR \geq 2$ ) 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 ( $RR \leq -2$ ) 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  $RR \geq 2$  і  $\chi^2 > 3,8$ .

Всього нараховується 5 таких алелів: \*11 ( $RR = 6,83$ ;  $\chi^2 = 3,8$ ), \*18 ( $RR = 5,25$ ;  $\chi^2 = 4,82$ ), \*24 ( $RR = 2,17$ ;  $\chi^2 = 4,33$ ), \*26 ( $RR = 4,62$ ;  $\chi^2 = 7,13$ ) і \*48 ( $RR = 5,25$ ;  $\chi^2 = 4,8$ ). Але для трьох із них не виконується перевірка достовірності по критерію відповідності для малих вибірок. Тому не можна вважати асоційованими із сприйнятливостю до маститів наступні алелі: \*11, \*18 і \*48.

Асоційованим із стійкістю до захворювання вважається алель, для якого виконується умова  $RR \leq -2$  і  $\chi^2 > 3,8$ . Всього налічується 3 таких алелі: \*13 ( $RR = -5,29$ ;  $\chi^2 = 5,65$ ), \*22 ( $RR = -2,52$ ;  $\chi^2 = 5,02$ ) і \*36 ( $RR = -14,5$ ;  $\chi^2 = 6,61$ ). Для алеля \*36 ( $P(A) = 0,031$ ) не виконується перевірка по  $\chi^2$ , що не дозволяє вважати значимим його зв'язок зі стійкістю корів до маститів.

Вивчення експресії екзона 2 гена BoLA-DRB3 у корів чорно-рябої молочної української породи показує, що у даної популяції виявляється два алелі, які мають тісний зв'язок із сприйнятливостю корів до маститів. Це алелі BoLA-DRB3.2:

\*24 ( $RR = 2,17$ ;  $P(A) = 0,117$ ;  $\chi^2 = 4,33$ );

\*26 ( $RR = 4,62$ ;  $P(A) = 0,043$ ;  $\chi^2 = 7,13$ ).

Також встановлено наявність двох алелів, які вказують на асоціацію зі стійкістю корів до маститів. Це алелі BoLA-DRB3.2:

\*13 ( $RR = -5,29$ ;  $P(A) = 0,053$ ;  $\chi^2 = 5,65$ );

\*22 ( $RR = -2,52$ ;  $P(A) = 0,12$ ;  $\chi^2 = 5,02$ ).

Подальший аналіз сприйнятливості до маститів вимагає звернути увагу на алелі \*18 і \*48,

які мають високі показники відносного ризику, достатню достовірність по  $\chi^2$ , але не витримують перевірку по критерію відповідності із-за низької загальної частоти в популяції і мінімального виявлення у здорових тварин. Таке обмеження, як правило, витримує перевірку для малих вибірок за критерієм Фішера, при незначному зниженні загальної достовірності дослідження.

**Висновки.** Таким чином, в даній роботі вперше отримані наступні результати:

– вивчено спектр антигенів BoLA-A, що дозволило виявити антигени W2, W6, W31, W19, W15, MSU A13 ( $P \geq 0,999$ ), які достовірно частіше зустрічаються в групах хворих тварин в порівнянні із здоровими;

– отримана лінійна статистична модель імуногенетичного статусу популяції, на основі якої визначається індивідуальна інтегральна оцінка Z для кожної тварини: при значенні  $Z > 0,188$  тварина резистентна, а при  $Z < -0,075$  – сприйнятлива до захворювання. У рамках цієї моделі виявили найбільш "сприятливі" (A6 і A17) антигени BoLA-A, присутність яких у фенотипі тварини, підвищує стійкість до захворювання, і "несприятливі" (W2, W6, W15, W19, A3 і W31), вплив яких визначає чутливість корови до маститів, що дає можливість використовувати їх у якості лімфоцитарних маркерів у зв'язку із захворюваннями молочної залози;

– встановлено, що у корів української чорно-рябої молочної породи визначається 28 алелів з 54 можливих, які типуються методами ПЛР-ПДРФ і АС-ПЛР;

– аналіз частот алелів гена BoLA-DRB3 показує, що зі стійкістю до маститів асоціюють алелі \*13 і \*22, а тісний зв'язок із сприйнятливостю корів до запалення вимені проявляють алелі BoLA-DRB3.2 \*24 і \*26.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані дані про антигени класу I BoLA-системи та алелі BoLA-DRB3.2, достовірно зв'язані з захворюванням молочної залози у корів української чорно-рябої молочної породи, можуть слугувати імуногенетичними маркерами в подальших дослідженнях даної популяції ВРХ в зв'язку із маститами для створення молочного стада стійкого до захворювання вимені, а також використовуватись для встановлення генетично схильних до захворювання вимені тварин в період раннього постнатального онтогенезу з можливістю подальшого вибракування їх з молочного стада.

### Список використаної літератури:

1. Вальчук О.А. Моніторинг розповсюдження маститу серед високопродуктивних корів / О.А. Вальчук, С.С. Деркач // Тези доп. наук. конф. проф.-викл. складу, наук. співр. та аспір. фак-ту вет. мед. – К.: НАУ. – 2006. – С.22.
2. Молекулярно-генетические и статистические методы изучения Главного комплекса гистосовместимости крупного рогатого скота в связи с устойчивостью и восприимчивостью к лейкозам : метод. рекомендации / Л.К. Эрнст, В.П. Шишков, А.Р. Орлова [и др.]. – М., 1998. – 29 с.
3. Мікрофлора молока від хворих на субклінічні мастити корів / А.М. Головка, С.О. Гужвинська,

- В.Я. Вечтомов, В.А. [та ін.] // Ветеринарна медицина: міжвід. темат. наук. зб. – Х., 2000. – Вип.77. – С.84–88.
4. Главный комплекс гистосовместимости крупного рогатого скота / под ред. Э.К. Бороздина. – Лесные поляны: ВНИИплем. – 1993. – 120 с.
  5. Кухтин М.Д. Концепція розробки та застосування нормативів для виробництва сирого молока гатунку «Екстра» за вмістом мікроорганізмів / М.Д. Кухтин // Ветеринарна медицина України. – 2010. – №10. – С.42–43.
  6. Любецкий В.И. Розповсюдження маститу серед високопродуктивних корів / В.И. Любецкий, О.А. Вальчук // Науковий вісник НАУ. – К., 2005. – № 89. – С.294–297.
  7. Пешук Л. В. Проблема маститу в стадах великої рогатої худоби молочного напрямку / В. Л. Пешук // Вісник аграрної науки. – 2001. – № 9. – С.32–35.
  8. Разоренова Т.С. Статусметрия как инструмент построения функциональных моделей классификации и анализа состояний сложных объектов [Текст] / Т.С. Разоренова // Научно-технические ведомости СПбГТУ. – 1998. – № 2-3. – С.132–137.
  9. 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.: Цифровичок, 2011. – 94 с. – ISBN: 5915870414.
  10. A study on association between mastitis and serologically defined class I bovine lymphocyte antigens (BoLA-A) in Norwegian cows / D.I. Våge, F. Lingaas, R.L. Spooner [et al.] // Anim. Genet. – 1992. – V.23. – №6. – P.533–536.
  11. 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.
  12. Evidence for cattle major histocompatibility complex (BoLA) class II DQA1 gene heterozygote advantage against clinical mastitis caused by Streptococci and Escherichia species / S. Takeshima, Y. Matsumoto, Y. Chen [et al.] // Tissue Antigens. – 2008. – V.72. – №6. – P.525–531.
  13. 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, B.A. Mallard // J. Dairy Sci. – 2007. – V.90(2). – P.1029–1038.
  14. Lewin H.A. Genetic organization, polymorphism, and function of the bovine major histocompatibility complex / H.A. Lewin // In The major histocompatibility complex region of domestic animal species (L.B. Schook & S.J. Lamont, eds). CRC Series in Comp. Imm. CRC Press, Boca Raton, Florida. – 1996, Ch.4. – P.65–98.
  15. 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.

**Супрович Т. М. Использование лимфоцитарных и ДНК-маркеров МНС-системы для выявления коров резистентных или чувствительных к маститам**

*В популяции коров украинской черно-пестрой молочной породы выявлены антигены 1 класса BoLA-A и аллели гена BoLA-DRB3 ассоциирующие со стойкостью и восприимчивостью к маститам. Получена статусметрическая модель иммуногенетического статуса для определения индивидуальной интегральной оценки коров в связи с маститами.*

**Ключевые слова:** крупный рогатый скот, мастит, украинская черно-пестрая молочная порода, главный комплекс гистосовместимости, аллели, статусметрия.

**Suprovich T.M. Using lymphocyte and DNA MHC system for the detection of cows resistant to mastitis**

*In a population of cows Ukrainian of black-pied dairy breed identified class 1 antigens BoLA-A and allele BoLA-DRB3 gene is associated with resistance and susceptibility to mastitis. Obtained statusmetricheskaya model immunogenetic status to determine the individual integrated assessment of cows to mastitis.*

**Keywords:** cattle, mastitis, Ukrainian black-pied dairy breed, major histocompatibility complex, alleles, statusmetriya.

Дата надходження в редакцію: 23.08.2013 р.

Рецензент: к.вет.н., доцент О.М.Чекан