

Розділ 5. Імунологія

УДК 636.52/58:619:616-006.446

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ КУР РАЗЛИЧНОЙ ГЕНЕАЛОГИИ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ИХ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К БОЛЕЗНИ МАРЕКА

*Белецкая А.В., Подстрешный А.П., Грибкова Н.П., Ракова А.А., Подстрешная И.А.
Институт птицеводства НААН Украины*

В последние годы в стратегии борьбы с болезнью Марека (БМ) значительное внимание уделяется созданию генетически устойчивых линий кур [1, 2, 3]. Это обусловлено прежде всего тем, что разработка эффективных специфических средств профилактики не успевает за быстрой эволюцией полевых вирусов, которые усиливают свои патогенные свойства [4, 5]. Высказывается обеспокоенность, что в будущем традиционных способов борьбы с заболеванием может быть недостаточно [4, 6].

Предполагают, что к проявлению генетической резистентности при БМ имеют отношение разные локусы: одни из них связаны с главным комплексом гистосовместимости (ГКГ) [7], другие – не имеют отношения к ГКГ, а отвечают за повышение резистентности лимфоидных клеток к вирусной инфекции и трансформации и контролируются аллелями Т-1, НО1, у-4 [3]. Резистентность или чувствительность, связанная с ГКГ, ассоциируется с аллелями В1, В6, В7, В19, В21 групп крови. В последние годы значительное внимание уделяется локусам, ассоциированным с локусами количественных признаков [2, 8, 9]. Публикации последних лет свидетельствуют о том, что современные методы генетического картирования позволяют выделить определенные области в геноме птиц, которые имеют отношение к врожденному иммунитету [10, 11]. Представляет огромный научный и практический интерес определить эти последовательности.

В Институте птицеводства Национальной академии аграрных наук Украины в 70-80 гг. проводились исследования по выведению генетически устойчивых линий кур к вирусам лейкозо-саркомной группы. В результате была создана линия полтавских глинистых кур с повышенной устойчивостью к неопластическим заболеваниям. В связи с возросшим интересом к проблемам генетической резистентности возникла необходимость протестировать группы кур различной генеалогии на чувствительность к БМ и проанализировать их генетическую структуру по группам крови, что и являлось целью данных исследований.

Материалы и методы. Работа проведена на 4 группах суточных цыплят различной генеалогии по 51-56 голов в группе. Исследовали чувствительность к БМ кур породы полтавская глинистая (ПГ), гибрида род-айленд на серебристый леггорн (линия 10), субпопуляции Г2 борковских мясо-яичных кур и финального гибрида кросса Ломанн браун (ЛБ).

Определение чувствительности кур к болезни Марека проводили в остром опыте. Цыплят инфицировали вирулентным штаммом JM-P вируса БМ в суточном возрасте в дозе $1000 \text{ ЕЛД}_{50} / 0,5 \text{ см}^3$. За инфицированной птицей наблюдали на протяжении 168 суток, учитывали причины отхода. В конце срока наблюдения выжившие куры были забиты, проведено патологоанатомическое вскрытие с целью отбора кур с признаками, характерными для БМ.

От опытных групп цыплят в 30-сут. возрасте отбирали кровь индивидуально для определения групп крови по частоте эритроцитарных антигенов согласно разработанной ранее методике [11]. Иммуногенетическое тестирование птицы проводили с использованием 31 моноспецифического реагента на группы крови.

Результаты исследований и их обсуждение. Наименьший отход инфицированной птицы вирусом БМ наблюдался среди кур полтавской глинистой породы (62,5 %). У зараженных кур другой генеалогии гибель колебалась от 72,5-74,6 (линия 10 и кросс Ломанн браун) до 87,0 % (субпопуляция Г2 борковских мясо-яичных кур) (табл. 1). Разница по отходу кур между полтавскими глинистыми и субпопуляции Г2 статистически значима при $P < 0.01$.

Таблица 1 – Чувствительность разных генеалогических групп кур к инфицированию вирусом БМ

Породные группы	Количество кур в гр.	Срок наблюдения, суток	Отход птицы		БМ, установленная при забое выжившей птицы		Общее количество птицы с признаками БМ	
			голов	%	голов	%	голов	%
ПГ	56	168	35	62.5	0	-	35	62.5+0.065
10	55		41	74.6	0	-	41	74.6+0.059
Г2	54		46	85.1	1	1.9	47	87.0+0.046*
ЛБ	51		37	72.5	0	-	37	72.5+0.063

Примечание: * – $P < 0.01$ (при сравнении субпопуляции Г2 с ПГ)

Первые единичные случаи гибели зараженных цыплят с характерными для БМ патологоанатомическими признаками (опухоль в висцеральных органах, дистрофия с утолщением седалищного нерва) отмечены среди цыплят 37-суточного возраста 10 линии, субпопуляции Г2 и кросса Ломанн браун (по 1 гол. в каждой группе). Более интенсивный отход птицы в этих группах наблюдали с 50-суточного возраста. У полтавских глинистых цыплят первые случаи гибели от БМ зарегистрированы в 59-суточном возрасте.

Таблица 2 – Частота проявления эритроцитарных антигенов в группах кур при заражении вирусом болезни Марека.

Эритроци-тарные антигены		Частота проявления эритроцитарных антигенов, %							
		Код группы							
		ПГ-1	ПГ-0	10-1	10-0	Г2-1	Г2-0	ЛБ-1	ЛБ-0
№	Обозначение	Количество проб							
		34	12	37	11	39	3	30	10
1	A12	14,7*	0,0	67,6	63,6	23,1	0,0	46,7	50,0
2	A21	17,6	8,3	43,2	27,3	30,8	33,3	36,7	50,0
3	A36	26,5	16,7	27,0	18,2	12,8	33,3	23,3	10,0
4	B2'''	26,5	8,3	43,2	45,5	25,6	33,3	26,7	30,0
5	B2'	29,4	16,7	75,7	63,6	41,0	66,7	70,0	90,0
6	B3	20,6	6,7	62,2*	90,9	35,9	33,3	63,3	80,0
7	B9	11,8*	41,7	43,2	27,3	79,5	100,0	60,0	60,0
8	X3	23,5	8,3	64,9	54,5	38,5	33,3	73,3	80,0
9	X4	23,5	8,3	54,1	45,5	25,6	33,3	56,7	80,0
10	X11	55,9	58,3	70,3	90,9	59,0	33,3	80,0	70,0
11	X11'	5,9	25,0	56,8	54,5	56,4*	100,0	70,0	80,0
12	X23	8,8	0,0	54,1	45,5	56,4	33,3	63,3	70,0
13	X32	29,4	25,0	70,3	45,5	41,0	66,7	63,3	90,0
14	X44	44,1	50,0	43,2	45,5	56,4*	0,0	46,7	50,0
15	X57	17,6*	0,0	13,5	18,2	15,4	0,0	10,0	20,0
16	X71	67,6	58,3	81,1	63,6	84,6	100,0	93,3	90,0
17	X81	17,6**	0,0	45,9	36,4	33,3	33,3	56,7	80,0
18	X82	8,8	0,0	45,9	27,3	25,6	0,0	30,0	50,0
19	X84	8,8	16,7	13,5	18,2	33,3*	0,0	30,0	20,0
20	X85	35,3	25,0	62,2	45,5	43,6*	0,0	56,7	80,0
21	X87'	14,7	8,3	16,2	27,3	51,3	66,7	30,0	10,0
22	X88	29,4	16,7	75,7	45,5	66,7	33,3	66,7	90,0
23	X90	0,0	0,0	10,8*	0,0	12,8	33,3	0,0	0,0
24	X91	0,0	0,0	18,9	18,2	5,1	0,0	0,0	0,0
25	X92	5,9	0,0	13,5*	0,0	5,1	0,0	3,3	0,0
26	X93	61,8	66,7	70,3	45,5	82,1	33,3	76,7	80,0
27	713	2,9	0,0	13,5	9,1	5,1	0,0	23,3	20,0
28	765	35,3	33,3	29,7	27,3	25,6	0,0	46,7	40,0
29	714	26,5	8,3	24,3	27,3	30,8	66,7	46,7	40,0
30	720	0,0	0,0	13,5*	0,0	10,3	0,0	10,0	0,0
31	716	67,6	58,3	81,1	63,6	84,6	100,0	93,3	90,0

Примечание: * – P<0.05 ; ** – P<0.01 (сравнивались группы в пределах породы, субпопуляции, кросса).

В ходе эксперимента было изучено генетическую структуру этих четырех групп кур.

Частота встречаемости эритроцитарных антигенов в группах птицы, погибшей (код 1) или выжившей после заражения (код 0), приведены в таблице 2. Только по одному эритроцитарному антигену у полтавских глинистых кур, линии 10 и субпопуляции Г-2 оказались статистически значимо позитивно ассоциированными с резистентностью к болезни Марека. Среди полтавских глинистых кур в группе выжившей птицы достоверно выше частота антигена В9, в группе линии 10 – В3, в популяции Г2 – Х11'. В то же время, в каждой из этих групп кур выявлено по три различных эритроцитарных антигена, которые отсутствуют среди выживших кур. Можно предположить, что они отрицательно влияют на резистентность птицы к болезни Марека – частота проявления антигенов в обеих группах практически не отличается.

Генетическое расстояние между группами птицы находится в пределах 0,118-0,434 (табл. 3). Между группами птицы чувствительной и резистентной к болезни Марека в пределах каждой породной группы (популяции) птицы расстояния значительно меньше и находятся в пределах 0,118-0,253. Максимальные генетические расстояния между группами птицы разной генеалогии значительно выше, чем между группами одной линии, породы. Наименьшие пределы колебаний генетического расстояния (разница между минимальным и максимальным расстояниями) у групп субпопуляции Г2 (0,094 и 0,118), а наибольшие – у групп полтавских глинистых кур (0,262 и 0,315). Следовательно, полтавские глинистые куры в целом наиболее отличаются от остальных групп птицы. Возможно, это является следствием того, что в 70-80-е годы прошлого столетия полтавских глинистых кур некоторое время селекционировали на устойчивость к неопластическим заболеваниям.

Таблица 3 – Генетические расстояния между опытными группами кур

Группы птицы	ПГ-1	ПГ-0	10-1	10-0	Г2-1	Г2-0	ЛБ-1	ЛБ-0	Пределы расстояния*
ПГ-1	-	0,119	0,279	0,241	0,228	0,336	0,294	0,381	0,119-0,381
ПГ-0		-	0,340	0,295	0,247	0,343	0,343	0,434	0,119-0,434
10-1			-	0,144	0,195	0,326	0,118	0,151	0,118-0,340
10-0				-	0,215	0,328	0,175	0,239	0,144-0,328
Г2-1					-	0,253	0,168	0,262	0,168-0,262
Г2-0						-	0,298	0,371	0,253-0,371
ЛБ-1							-	0,133	0,118-0,343
ЛБ-0								-	0,133-0,434

Примечание: * – минимальное и максимальное расстояние данной группы птицы со всеми остальными.

Из таблицы видно также, что между группами чувствительных и резистентных полтавских глинистых кур расстояние наименьшее (0,119), а в субпопуляции Г2 – наибольшее (0,253). Это свидетельствует о наибольшей внутривидовой изменчивости кур этой субпопуляции по признаку чувствительности – резистентности к болезни Марека.

Выводы. Наименьший отход птицы от болезни Марека отмечен среди кур полтавской глинистой породы – 62,5 %. У кур другой генеалогии смертность от заболевания колебалась от 72,5 и 74,6 соответственно в линии 10 и кросс Ломанн браун до 87,0 % в субпопуляции Г2 борковских мясо-яичных кур.

В 3-х группах кур (полтавских глинистых, линии 10 и Г-2) выявлено по одному эритроцитарному антигену, которые можно рассматривать как ассоциированные с резистентностью к болезни Марека.

Полтавские глинистые куры могут представлять интерес для проведения дальнейших исследований по созданию генетически резистентной птицы к болезни Марека.

Список литературы

- Weigend, S., Matthers, S., Solkner, J., Lamont, S.J. Resistance to Marek's disease virus in White Leghorn chickens: effects of avian leukosis virus infection genotype, reciprocal mating, and major histocompatibility complex//Poultry Science, 2001, V.80, Is. 8, – P. 1064-1072.
- Cheng, H., Niikura, M., Mao, W., MacLea, K.S. et. al. Using integrative genomics to elucidate genetic resistance to Marek's disease in chickens//Dev.Biol. (Basel), 2008; 132: – P. 365-372.
- Кэлнек, Б.У., Виттер, Р.Л. Болезнь Марека//Болезни домашних и сельскохозяйственных птиц.-М.:«Аквариум», 2003, – С. 426-479.
- Придыбайло, Н.Д., Джавадов, Э.Д., Смирнов, М.Н., Островский, М.В. Поиск альтернативного пути повышения эффективности вакцинации против болезни Марека // Вет. мед.: Міжвід. тем. наук. зб. ІЕКВМ.– Харків, 2007.– Вип. 88. – С. 175-179.
- Baigent, S.J., Smith, L.P., Currie, R.J. Vaccinal control of Marek's disease: current challenges, and future strategies to maximize protection//Vet Immunol Immunopathol., 2006, Jul 15; 112 (1-2): – P. 78-86.
- Виттер, Р.Л. Путь к лучшей вакцине против болезни Марека//Эфф. птицеводство, 2007, N 3, с.34.
- Сюрин, В.Н., Самуйленко, А.Я., Соловьев, Б.В., Фомина, Н.В. Вирусные болезни животных.– М.: ВНИТИБП, 1998.
- R.L. Vallejo, L.B. Bacon, H.–Ch. Liu, R. L.Witter et. al. Mapping Quantitative Trait Loci affecting susceptibility to Marek's disease virus induced tumors in F₂ intercross chickens//Genetics, 1998; V 148: – P. 349-360.
- E.M. Heifetz, J.E. Fulton, N.P. O'Sullivan, J.A. Arthur et. al. Mapping Quantitative Trait Loci affecting susceptibility to Marek's disease virus in a backcross population of layer chickens//Genetics, 2007; 177 (4): – P. 2417-2431.
- Y.H. Huang, N.Li, D.W.Burt, F.Wu. Genomic research and application in the duck (*anas platyrhynchos*)//World poultry science, 2008, 3: – P. 329-341.
- Keeler, G.C.L., Bliss, T.B., Lavric, M., Maughan, M.N. A functional genomics to approach to the study of avian innate immunity// Cytogenetics genome research, 2007, 16: – P. 139-145.
- Подстрешний, О.П. Генетична ідентифікація і паспортизація порід і ліній птиці. Методичні рекомендації / Подстрешний, О.П., Терещенко, О.В., Ткачик, Т.Е., Подстрешна, І., Іщенко, Ю.Б. Інститут птахівництва УААН. – Бірки, 2009. – 76 с.

SENSITIVENESS OF HENS OF DIFFERENT GENEALOGY TO THE MAREK'S DISEASE AND DETERMINATION OF THEIR GENETIC STRUCTURE BY BLOOD GROUPS

Beletskaya A.V., Podstreshny A.P., Gribkova N.P., Rakova A.A., Podstreshnaya I.A.
Poultry Research Institute of the National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine

It was tested the sensitiveness of chickens of four populations of different genealogy to the Marek's disease virus in the investigation. The least dying of birds from the Marek's disease was observed in Poltava Clayey hens (62,5 per cent). The dying from the Marek's disease in hens of other breed groups fluctuated from 72,5-74,6 per cent to 87,0 per cent. In each from three groups, it was revealed one erythrocyte antigen, which it is possible to consider as associated with the resistance to the Marek's disease.