

- Soc. for in vitro Biol. – 1998.
14. Harris H., Bramwell M. The expression of malignancy by terminal differentiation: Evidence from hybrids between tumor cells and keratinocytes // Cell. Sci. – 1987 – Vol. 87 – P383-388.
 15. Hill M., Hillova J. Malignant transformation of human keratinocytes during adaptation to autotrophy // In vitro. – 1991. – Vol. 27, № 4. – P270-272.
 16. Keratinocyte methods by I. and F. Walt. Cambridge University Press 1994. P5_12.
 17. Ljungren C.A. (Цит. по Гаврилюк Б.К., Рочев Ю.А., Николаева Т.И. Органная культура ткани. В кн.: Культура клеток и реконструкция ткани (на примере кожи)). Пушино, 1988 – 32с.
 18. Marcelo C.L., Kim Y.G., Kaine J.L., Voorhees J.Y., Stratification, specialization and proliferation of primary keratinocyte cultures. J.Cell Biol. 1978. v.79. p.356-370
 19. Peehl D.M., Ham R.G., Growth and differentiation of human keratinocytes without a feeder layer of conditioned medium. In vitro. 1980. v.16. p.516-525.
 20. Puck T.T., Giecura S.J., Robinson A. Genetics of somatic mammalian cells (3. Long-term cultivation of euploid cells from human and animal subjects.). J. Exp.Med. – 1958. – v.108, №6, p.493-497.
 21. Rheiwald J.Green H. Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells. Cells 1975;6: 331-344.
 22. Vermorken A.J.M., Bloemendal H. Human hair follicle cell in culture; the development of a new culture system and its potential applications. Mol. Biol.Repts. – 1986. – v.11, №11, p.3-12.
 23. Zhang Y. Mixed keratinocyte culture and its composite skin graft // Chung Hua Cheng Hsing Shao Shang Wai Ko Tsa Chih. –1993. – № 9(1). – P37-40.

УДК: 636.2:636.082.4

**Е.Б. Шукярова, Н.С. Марзанов, Ю.В. Саморуков, Л.И. Хуторов,
А.Н. Попов, Е.И. Кийко, Н.Г. Букаров, В.М. Игнатьев
(ДВНИИСХ)**

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ В СЕЛЕКЦИИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

Более чем десятилетняя деятельность зональной лаборатории иммуногенетики при Дальневосточном НИИ сельского хозяйства (ДВНИИСХ) позволила накопить определенный опыт использования генетических маркеров в селекционно-племенной работе в условиях Дальневосточного региона. Проводимые исследования направлены на выявление достоверности происхождения племенного молодняка из различных краев и областей региона; оценку генетической структуры стад, формируемых за счет целенаправленного подбора к ним определенных быков-производителей; оценку формируемых популяций КРС на устойчивость к различным заболеваниям.

Целью работы является: определение достоверности происхождения телят, выявление генотипов у формируемого дальневосточного типа черно-пестрого скота по 9 системам групп крови из различных областей и краев Дальневосточного региона; изучение генетической структуры дойного стада ГОПХ «Восточное» Хабаровского края, где проведен анализ групп крови 510 коров дойного стада.

Группы крови КРС определяли по общепринятой методике с использованием 48-54 наименований сывороток-реагентов

9-10 генетических систем (Сороковой П.Ф., 1974). Обработку полученных материалов проводили в соответствии с методическими рекомендациями Машурова А.М. и др. (1998). Диагностику маститов осуществляли в соответствии с «Методическими указаниями по диагностике, лечению и профилактике маститов, 1986». Носительство гена BLAD-синдрома определяли по описанной схеме Марзановым Н.С. и др. (2003).

В настоящее время в Дальневосточном регионе аттестовано 16380 племенных животных из них на достоверность происхождения 7835 голштинской, черно-пестрой и герефордской пород из Хабаровского и Приморского краев, Амурской и Сахалинской областей и Еврейской АО. В результате проведенных исследований в среднем по региону выявлено, что у 22,2% КРС имеются ошибочные записи в родословных. При этом причиной ошибки происхождения по отцовской линии являлись небрежность проводимых племенных записей, использование при искусственном осеменении спермы другого производителя. Причины не достоверности по матерям были в результате были в результате ошибок при лечении телят. Было установлено также, что ошибочность записи происхождения потомка может иметь под собой

и биологическую основу, когда длительность периода между смежными охотами может быть менее 21 дня. При этом корову повторно осеменяли спермой другого быка, тогда как она уже фактически оплодотворилась после первого осеменения. В случае больших колебаний продолжительности беременности животного трудно определить, произошел ли теленок в результате первого или второго осеменения, когда использовали сперму другого производителя. Замечено, большое число ошибочных записей в родословных животных ведет к снижению уровня селекционного процесса, поскольку данная ошибка накладывается на племенное животное при его оценке по потомству. Кроме того, хозяйства с не налаженным генетическим учетом несут значительные экономические потери, особенно при отказе у них закупки недостоверных животных на племя.

Результаты оценки генетической структуры голштинизированного чернопестрого скота в условиях ГОПХ «Восточное» Хабаровского края позволили выявить следующее:

ЕАА система. В локусе выявлено три фактора A_2 , Z' , «а» и контролирующие их аллели - A_2 (0,3667) и Z' (0,0029), «а» (0,6304). Семейным анализом установлено наличие пяти генотипов. Из них три наиболее часто встречающихся, два гомозиготных «а»/«а» (0,4902), A_2/A_2 (0,2255) и один гетерозиготный $A_2/\text{«а»}$ (0,2784). С участием аллеля Z' выявлено два редко встречающихся генотипа Z'/A_2 (0,0020) и $Z'/\text{«а»}$ (0,0039).

ЕАВ система. Наиболее сложная система групп крови у КРС, обуславливающая большую генетическую изменчивость популяции. Из 25 определяемых антигенов, в стаде обнаружено 23, обуславливающих различные фенотипы. Семейным анализом выявлено 57 аллелей. Большое распространение в стаде имеют аллели $G_2Y_2E'_2Q'$, $I_1(I_2)$ и I' , которые с большим числом редких аллелей обеспечивают генетическое разнообразие стада в данной системе и образуют гомозиготные генотипы, из которых 18 животных имеют гомозиготный генотип $G_2Y_2E'_2Q' / G_2Y_2E'_2Q'$, 12 - $I_1(I_2) / I_1(I_2)$, 3 - I'/I' . Всего в В-локусе установлено 190 генотипов, из них 40 гомозиготных. Более 40% животных являются носителями часто встречающихся генотипов, из них 5% коров - носители генотипа $G_2Y_2E'_2Q' / I_1(I_2)$.

ЕАС система. Семейным анализом обнаружено 45 аллелей, которые образуют

122 генотипа, однако они не столь сложны, как в В-системе. Наибольшее распространение получили три аллеля C_1E , X_2 и C_1W , более 50% животных являющихся их носителями, образуя большее число гомозиготных генотипов - 8 коров имеют генотип C_1W/C_1W , 16 - C_1E/C_1E и 14 - X_2/X_2 .

ЕАF система. В стаде наблюдается явное преобладание гомозиготных генотипов по ЕАF локусу. Коровы в количестве 373 или 73% являются носителями генотипов F/F (0,7098), V/V (0,0216), частота F/V составляла 0,2686. Относительно аллелей полученная картина выглядела следующим образом: F (0,8441) и V (0,1559).

ЕАJ, ЕАL, ЕАМ, ЕАЗ системы. Каждая из этих систем представлена одним антигеном J , L , M и Z . Каждый локус имеет по два фенотипа и три генотипа, два из которых являются гомозиготными. Причем число нулевых генотипов превалирует во всех четырех исследованных системах. В стаде 77,6% животных являются носителями генотипов «j»/«j» и J/J , 84,5%-носители «l»/«l» и «l»/«L», 92,9%-носители «m»/«m», 73,3% - носители «z»/«z», Z/Z .

ЕАС система. Данная система является полиаллельной, в ней определены 6 антигенных факторов, которые дают большое число комбинаций. Всего выявлено 10 аллелей и 18 генотипов. Данная система отличается большим генотипическим разнообразием. Тем не менее, 264 коровы или 51,7% оказались носителями гомозиготных генотипов «s»/«s», H'/H' и S_1H'/S_1H' .

Оценка коров по устойчивости к маститу проводилась в течение двух лактаций ежемесячно. В группу устойчивых к маститу отнесли животных, ни разу не болевших в течении двух лактаций; восприимчивых – неоднократно болевших, в группу «недостаточно устойчивых» животных, которые один раз болели маститом, после курса лечения вылечивались без видимых остаточных изменений в молочной железе. В качестве генетических маркеров использовали генотипы ЕАF – локуса и аллели ЕАВ-системы. По некоторым аллелям отмечена достоверная разница между группами устойчивых и восприимчивых животных. Так, частоты аллелей B_2O_1 , G_2Y_2D' и Q' , достоверно выше у устойчивых коров (от $p < 0,1$ до $p < 0,05$), а аллелей I_2I' , I' , G и «b» - у восприимчивых (от $p < 0,1$ до $p < 0,001$), среди здоровых животных не было обнаружено носителей E'_2 аллеля ($p < 0,01$), а среди восприимчивых - носителей $B_2O_1Y_2D'$ аллеля. Это означает, что коровы в генотипе групп крови, которых

имеются аллели B_2O_1 , G_2Y_2D' , $B_2O_1Y_2D'$ и Q' реже поражаются маститом, чем коровы-носители аллелей I_2I' , I' , G , E'_2 и «b». Данные по EAF-системе свидетельствуют, что среди здоровых коров нет носителей V/V гомозигот ($p < 0,01$). Частоты генотипов F/F и F/V у устойчивых, недостаточно устойчивых и восприимчивых к маститу коров примерно одинаковы. Это указывает на то, что генотипы F/F и F/V EAF-системы, как генетические маркеры, не отражают связи с устойчивостью к данному заболеванию.

Анализ на носительство гена BLAD проводили у 4 быков, 206 коров и 28 теллят. В результате установлена одна племенная телочка, которая в гетерозиготной форме была носителем мутантного гена BLAD. Потомки быка Оливера 2170, носителя BLAD оказались «чистыми», что еще раз подтверждают гипотезу о моногенности наследственной болезни дефицита лейкоцитарной адгезии или BLAD-синдрома у голштинизированного черно-пестрого скота и возможности его получения частью популяции.

Литература:

1. Сороковой П.Ф. Методические рекомендации по использованию групп крови в селекции крупного рогатого скота. Дубровицы. – 1974. – 30с.
2. Машуров А.М., Сухова Н.О., Царев Р.О., Тхань Х.Х.. Алгоритмы иммунобиохимической генетики. Новосибирск. 1998. 112с.
3. Методическими указаниями по диагностике, лечению и профилактике маститов. Москва. 1986.
4. Марзанов Н.С., Турбина И.С., Ескин Г.В., Турбина Г.С., Попов А.Н., Игнатъев В.М., Харлициус Б. Скрининг гена дефицита лейкоцитарной адгезии у черно-пестрого голштинизированного скота // Сельскохозяйственная биология. – 2003. - №6. – С.23-30.