

РЕПРОДУКТИВНА ФУНКЦІЯ КОРІВ У ЗВ'ЯЗКУ З ПОЛІМОРФІЗМОМ СИСТЕМ БІЛКІВ ТА ЕНЗИМІВ КРОВІ

*В. В. Каплінський, канд. вет. наук, с. н. с.,
Г. М. Седіло, д-р с.-г. наук, професор, академік НААН,
С. С. Вовк, д-р біол. наук, професор,
О. І. Стадницька, канд. с.-г. наук*

Інститут сільського господарства Карпатського регіону НААН
вул. Грушевського 5, с. Оброшино, Пустомитівський р-н., Львівська обл., 81115, Україна

У статті наведені результати аналізу показників репродуктивної функції та частоти акушерсько-гінекологічних захворювань корів української чорно-рябої породи у зв'язку з визначеними поліморфними системами білків сироватки крові та ензимів. Отримані дані аналізу показників репродуктивної здатності корів з урахуванням поліморфних систем білків, ензимів крові свідчать про можливість їх використання для ведення цілеспрямованої селекції з метою створення високопродуктивного та резистентного до захворювань молочного стада корів.

Ключові слова: КОРОВИ, ПОЛІМОРФІЗМ СИСТЕМ БІЛКІВ ТА ЕНЗИМІВ КРОВІ, РЕПРОДУКТИВНА ФУНКЦІЯ, АКУШЕРСЬКО-ГІНЕКОЛОГІЧНІ ЗАХВОРЮВАННЯ.

Покращення репродуктивної функції корів, зменшення частоти акушерських і гінекологічних захворювань можливе за умов ефективних способів їх прогнозування і профілактики, раціонального лікування, спрямованого відбору тварин у ранньому віці з певними фізіологічними і біохімічними показниками та імуногенетичними ознаками, серед яких заслуговують великої уваги поліморфні системи білків (ензимів). Переваги останніх перед іншими показниками у тому, що вони формуються у період внутрішньоутробного розвитку плода, не змінюються з віком тварин і під впливом зовнішніх факторів.

Дослідження, які проводяться в багатьох країнах світу, свідчать, що найбільш вагомою причиною та основним чинником стійкості корів до захворювань, серед безлічі інших, є генетична детермінованість цієї ознаки, а ступінь резистентності певним чином залежить від спадкових властивостей батьків [1-5].

Цим зумовлений інтерес до генетичних маркерів, застосування яких дає змогу здійснювати маркер-асоційовану селекцію і прогнозувати здоров'я тварин та їх господарсько-корисні якості [7, 8].

Зв'язок між сприйнятливістю навіть до однієї і тієї самої хвороби, але в різних порід тварин, не носять постійного характеру, тобто не має того самого генетичного маркера, що може бути пов'язаний з відсутністю генетичного зчеплення за полігенного успадкування хвороб, тому пошук генетичних маркерів хворих і здорових тварин набуває особливого практичного значення для створення стад, стійких до хвороб, особливо акушерсько-гінекологічних [9].

Метою досліджень було провести оцінку репродуктивної здатності поголів'я тварин, визначити в сироватці крові поліморфні системи білкових макромолекул та ензимів та встановити їх зв'язок з показниками репродуктивної функції, резистентністю до акушерсько-гінекологічної патології у корів. Головна стратегія наведених результатів досліджень полягає у вивченні можливості використання молекулярно-генетичного аналізу великої рогатої худоби для виявлення імуногенетичних маркерів з метою теоретичного обґрунтування їх застосування для формування високопродуктивного та резистентного до

акушерсько-гінекологічної патології дійного стада корів.

Матеріали і методи. Дослідження проведені на 65 коровах української чорно-рябої молочної породи (західний внутрішньопородний тип) віком 5-9 років, живою масою 550-600 кг в ДП «ДГ «Оброшино» Інституту сільського господарства Карпатського регіону НААН.

Акушерсько-гінекологічну диспансеризацію корів проводили за методикою М. В. Косенка та співавт. [3].

Критерієм оцінки репродуктивної функції корів були: тривалість тільності, час першого осіменіння після отелення, сервіс-період, індекс осіменіння; запліднюваність після першого осіменіння, всього запліднених (загальна кількість запліднених тварин за період досліджень), народження близнят.

Резистентність корів до акушерської і гінекологічної патології визначали за частотою захворювань і ускладнень, а саме: до акушерської патології, %: в час тільності (аборти); родів (неправильні розміщення плода, слабкі потуги і перейми, затримання посліду); післяродовий період (субінволюція, випадіння матки, післяродові ендометрити); до гінекологічної патології, %: гострі і хронічні ендометрити; персистентне жовте тіло, кісти (атрофія) яєчників. Для об'єктивного визначення частоти акушерської і гінекологічної патології у піддослідних тварин, встановлення вірогідності відхилень, проведення дисперсного аналізу використовували розроблені коефіцієнти резистентності з врахуванням фізіологічних періодів: тільності, отелення, після отелення [12].

Матеріалом для генетико-біохімічних досліджень була кров корів. Поліморфізм білків сироватки крові - трансферинів, постальбумінів визначали методом диск-електрофорезу в 7,5 % поліакриламідному гелі за удосконаленою нами системою приготування розділяючих гелів (U. Laemmli, 1970), яка забезпечує економію часу і реактивів для приготування гелів [10]. Для оцінки фракційного складу білків сироватки крові їх поліморфізму використовували метод типізації за В. М. Холодом [12].

Ізоформи ензимів (%) антиоксидантного захисту визначали методом електрофорезу: каталази [6, 15, 20] та пероксидази [14, 17] у 7,5 % ПААГ, супероксиддисмутази [17, 18] – у 10 % ПААГ.

Генетичну частоту алелів поліморфних систем білків і ферментів сироватки крові визначали за формулою Харді-Вайнберга. Аналіз показників репродуктивної функції корів з урахуванням поліморфних систем білків і ферментів сироватки крові, частоти акушерської і гінекологічної патології проведено за розробленою в лабораторії Інституту програмою для ІВМ-сумісних персональних комп'ютерів (СУБД “CLIPPER”). Статистичний аналіз одержаних результатів виконаний з використанням методів варіаційної статистики за М. О. Плохінським [16].

Результати й обговорення. У відібраному матеріалі (проби крові від 65 корів) для генетико-біохімічних досліджень визначали поліморфні системи білків: постальбуміни; трансферини; гаптоглобуліни та ізоформи ензимів: каталази, пероксидази та супероксиддисмутази.

Генетичну частоту алелів поліморфних систем білків і ферментів сироватки крові визначали за формулою Харді-Вайнберга.

Генетична частота досліджених поліморфних систем білків і ферментів сироватки крові корів у різних стадах не однакова. Частота алеля А трансферинового локуса у корів менша, а алеля D більша на 0,11 одиниці (табл. 1).

Корів-гомозигот із типом трансферину AD на 24,6 % і 35,4 %, відповідно більше, ніж гомозигот AA та DD. Корів гетерозигот із типом трансферину AE та DE – однакова кількість – 1,5 %, частота алеля E – 0,01.

Вивченням постальбумінів та їх фенотипів виявлено, що у корів частота алелів А і В постальбумінового локуса не однакова, частота алеля В вища на 0,08 одиниці.

**Частота алелів та фенотипів досліджених поліморфних систем білків
та ензимів сироватки крові підслідних корів (n =65)**

Фенотипи трансферину					Алелі трансферину		
AA	DD	AD	AE	DE	A	D	E
n	n	n	n	n			
%	%	%	%	%			
18	11	34	1	1	0,55	0,44	0,01
27,7	16,9	52,3	1,5	1,5			
Фенотипи постальбуміну					Алелі постальбуміну		
AA	AB	BB	-	-	A	B	-
9	42	14	-	-	0,46	0,54	-
13,8	64,6	21,5					
Фенотипи гаптоглобіну					Алелі гаптоглобіну		
AA	AB	BB			A	B	-
33	26	6			0,71	0,29	
50,8	40,0	9,2					
Фенотипи каталази					Алелі каталази		
К-АА	К-АВ	-	-	-	К-А	К-В	-
52	13				0,9	0,1	
80,0	20,0						

За типами гаптоглобулінів корови-гомозиготи АА переважали гетерозигот АВ на 10,8 % та гомозигот ВВ – на 41,6 %. Відповідно, і частота алеля А у корів становила 0,71, що більше, ніж алеля В на 0,42 одиниці.

У корів, тестованих за ізоформами ензиму каталази плазми крові, виявлено два фенотипи: одноалельний К-ВВ і двоалельний К-АВ. Частота фенотипу ВВ становила 80,0 %, ВВ – 20 %, а генетична частота алелів В і А становила, відповідно, 0,9 і 0,1.

Фенотипи ізоформ глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази при їх поділі в ПААГ були мономорфні – характеризуються однією суцільною ізоформою та за характером візуальної оцінки нагадують фракцію альбуміну сироватки крові великої рогатої худоби – звичайно при його виявленні на фореграмі ПААГ (рис. 1, 2).

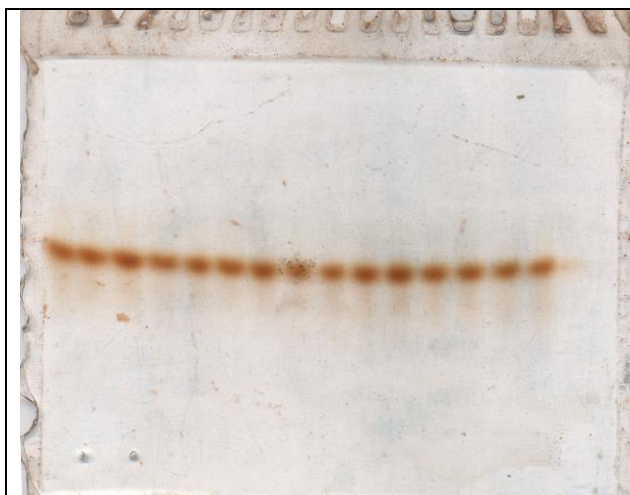


Рис. 1. Фореграма ізоформ глутатіонпероксидази



Рис. 2. Фореграма ізоформ супероксиддисмутази

Наведені дані (табл. 2) показників репродуктивної функції: тривалість тільності, час першого осіменіння після отелення, сервіс-період, індекс осіменіння; запліднюваність після першого осіменіння, народження близнят, а також коефіцієнти частоти захворювань і ускладнень під час отелення та після отелення корів свідчать про те, що репродуктивна

здатність тварин, тестованих за поліморфними системами білків (ензимів) крові не однакова.

Таблиця 2

Показники репродуктивної функції корів у зв'язку з поліморфними системами білків та ензиму каталази крові

Фенотипи поліморфних систем білків і ензимів	Досліджувані показники						
	Тривалість тільності, дн.	Перше осіменіння після отелення, дн.	Сервіс-період, дн.	Індекс осіменіння	Запліднюваність після першого осіменіння, %	Всього запліднилось, %	Народження близнят, %
	M±m	M±m	M±m	M±m	%	%	%
Трансферин							
AA	280,9±1,73	58,7±2,85	86,9±5,93	1,64±0,10	59,4	87,6	5,6
DD	279,2±1,65	66,4±3,23	99,4±5,29	1,82±0,09	51,1	82,2	-
AD	282,3±0,88	61,3±2,41	95,7±3,81	1,83±0,06	49,1	83,0	-
AE	279,0±0,0	57,0±0,0	71,0±0,0	2,0±0,0	-	100	-
DE	279,0±0,0	61,0±0,0	130,0±0,02	3,0±0,0	-	100	-
Постальбумін							
AA	278,9±1,61	66,6±4,07	99,4±6,7	1,67±0,1	53,9	84,0	-
AB	280,9±0,99	60,5±1,76	93,3±3,19	1,83±0,06	42,2	83,9	2,4
BB	283,7±1,10	63,2±4,87	97,9±7,17	1,81±0,10	50,9	83,7	-
Гаптоглобулін							
AA	281,2±0,81	61,4±2,19	93,7±3,58	1,78±0,06	53,7	81,2	3,0
AB	281,2±1,55	64,7±2,62	100,9±4,53	1,88±0,08	45,5	87,0	-
BB	279,3±1,14	52,1±4,73	76,5±8,96	1,53±0,15	56,7	96,8	-
Каталаза							
K-AA	280,8±0,69	62,8±1,81	96,4±2,97	1,80±0,05	51,3	84,3	1,92
K-AB	283,3±2,78	58,6±3,49	89,7±6,7	1,78±0,11	49,4	81,4	-

У корів, тестованих за поліморфізмом ізоформ білків трансферину, постальбуміну, гаптоглобуліну та ензиму каталази тривалість тільності перебувала в межах фізіологічної норми та становила 279 -289 днів.

У корів гетерозигот AA за трансфериним локусом показники репродуктивної функції були кращі, ніж у гомозигот DD та гетерозигот AD, відповідно перше осіменіння після отелення у них проводили на 7,7 та 2,6 дні швидше, сервіс період був менший на 12,5 та 8,8 днів, індекс осіменіння нижчий на 0,18: 0,19 одиниці, заплідненість вища на 5,4 та 4,6 %. Окрім того, у вищевказаної групи корів спостерігали високе число народження близнят – 5,6 %.

При проведенні акушерсько-гінекологічної диспансеризації у корів з фенотипом трансферину AA в однієї тварини було виявлено затримання посліду та ендометрит, у гомозигот DD – у двох корів післяродовий ендометрит та мастит, а у гетерозигот AD – дві корови мали затримання посліду та гнійно-катаральний ендометрит. У корови з фенотипом трансферину DE також виявлено ендометрит та дисфункцію яєчників.

Результати досліджень свідчать, що у корів тестованих за постальбуміновим локусом суттєвої різниці за показниками репродуктивної функції не виявлено, частота акушерсько-гінекологічних захворювань також була однаковою. У гетерозигот AB встановлено народження близнят – 2,4 %.

Кращі результати репродуктивної здатності встановлено у корів гомозигот BB, тестованих за гаптоглобуліновим локусом. Так, перше осіменіння після отелення у них

проводили швидше, у порівнянні з гомозиготами АА, на 9,3 дні та з гетерозиготами АВ – на 12,6 дні, відповідно, сервіс-період у них був менший на 17,2 та 24,4 днів, індекс осіменінь нижчий на 0,25 і 0,35 одиниць, заплідненість вища – на 15,6 та 9,8%. Частота захворювань на акушерсько-гінекологічну патологію була вищою у корів гетерозигот з фенотипом гаптоглобуліну АВ на 7-12 %, у порівнянні з гомозиготами. У гомозигот АА спостерігали народження близнят.

У корів гомозигот та гетерозигот, тестованих за ізоформами каталази, суттєвої різниці за досліджуваними показниками репродуктивної функції не встановлено, народження близнят спостерігали у гомозигот К-АА.

ВИСНОВКИ

1. У корів, тестованих за поліморфними системами білків сироватки крові – гетерозигот АА за трансферинним локусом показники репродуктивної функції були кращі, ніж у гомозигот DD та гетерозигот AD, відповідно перше осіменіння після отелення у них проводили на 7,7 та 2,6 дні швидше, сервіс період був менший на 12,5 та 8,8 днів, індекс осіменінь нижчий на 0,18: 0,19 одиниць, заплідненість вища на 5,4 та 4,6%. Окрім того, у вищевказаній групі корів спостерігали народження близнят – 5,6 %.

2. Кращі результати репродуктивної здатності встановлено у корів гомозигот ВВ, тестованих за гаптоглобуліновим локусом. Так, перше осіменіння після отелення у них проводили швидше у порівнянні з гомозиготами АА на 9,3 дні та з гетерозиготами АВ на 12,6 дні, відповідно, сервіс-період у них був менший на 17,2 та 24,4 днів, індекс осіменінь нижчий на 0,25 і 0,35 одиниць, заплідненість вища – на 15,6 та 9,8%. Частота захворювань на акушерсько-гінекологічну патологію була вищою у корів гетерозигот з фенотипом гаптоглобуліну АВ на 7-12% у порівнянні з гомозиготами. У гомозигот АА спостерігали народження близнят.

3. Фенотипи ізоформ глутатіонпероксидази та супероксиддисмутази при їх поділі в ПААГ були мономорфні – характеризуються однією суцільною ізоформою. У корів гомозигот та гетерозигот, тестованих за ізоформами каталази, суттєвої різниці за досліджуваними показниками репродуктивної функції не встановлено, народження близнят спостерігали у гомозигот К-АА.

4. Отримані дані аналізу показників репродуктивної здатності корів з урахуванням поліморфних систем білків, ензимів сироватки крові свідчать про доцільність їх використання для ведення цілеспрямованої селекції з метою створення високорезистентного до акушерсько-гінекологічних захворювань молочного стада корів.

Перспективи досліджень. На перспективу планується проведення оцінки репродуктивної здатності стада корів з урахуванням зв'язку генеалогічної належності, досліджених поліморфних систем протеїнів, ензимів крові, лактоглобулінів та казеїнів молока, для встановлення об'єктивної тест-системи високої продуктивності та резистентності до акушерсько-гінекологічних захворювань у тварин.

REPRODUCTIVE CORONARY FUNCTION IN THE RELATIONSHIP WITH THE POLYMORPHISM OF BLOOD AND BLOOD ENZYME SYSTEMS

V. Kaplinskiy, G. Sedilo, S. Vovk, O. Stadnycka

Institute of Agriculture of Carpathian Region of NAAS
5, Hrushevskiyi str., Obroshyno, Pustomyty district, Lviv region, 81115, Ukraine

S U M M A R Y

The article presents the results of the analysis of indices of reproductive function and frequency of obstetric and gynecological diseases of Ukrainian black-and-white breed cows in connection with certain polymorphous systems of serum proteins and enzymes. The obtained data on the analysis of indices of reproductive capacity of cows, taking into account polymorphous systems of proteins, blood enzymes, testify to the possibility of their use for conducting purposeful breeding in order to create a highly productive and resistant to dairy cattle diseases.

Keywords: COWS, POLYMORPHISM OF SYSTEMS OF PROTEINS AND ENZYMES OF BLOOD, REPRODUCTIVE FUNCTION, OBSTETRIC-GYNAECOLOGICAL DISEASES.

РЕПРОДУКТИВНА ФУНКЦІЯ КОРОВ В СВ'ЯЗИ С ПОЛІМОРФІЗМОМ СИСТЕМ БЕЛКОВ І ЕНЗИМОВ КРОВІ

В. В. Каплинский, Г. М. Седило, С. О. Вовк, О. И. Стадницкая

Институт сельского хозяйства Карпатского региона НААН
ул. Грушевского, 5, с. Оброшино Пустомытовского р-на Львовской обл., 81115, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье приведены результаты анализа показателей репродуктивной функции и частоты акушерско-гинекологических заболеваний коров украинской черно-пестрой породы в связи с определенными полиморфными системами белков сыворотки крови и ферментов. Полученные данные анализа показателей репродуктивной способности коров, с учетом полиморфных систем белков, ферментов крови, свидетельствуют о возможности их использования для ведения целенаправленной селекции с целью создания высокопроизводительного и резистентного к заболеваниям молочного стада коров.

Ключевые слова: КОРОВЫ, ПОЛІМОРФІЗМ СИСТЕМ БЕЛКОВ І ЕНЗИМОВ КРОВІ, РЕПРОДУКТИВНА ФУНКЦІЯ, АКУШЕРСКО-ГИНЕКОЛОГІЧЕСКІЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Ахметов Т. М.* Использование методов маркервспомогательной селекции в молочном скотоводстве Республики Татарстан: дис. доктора биол. наук / Т. М. Ахметов. – Казань, 2009. – 277 с.
2. Генетичний компонент біорізноманіття великої рогатої худоби / Глазко Т. Т., Зубець М. В., Кушнір А. В. та ін. – Київ: КВІЦ, 2005. – 200 с.
3. Косенко М. В., Відтворення молочного поголів'я / Косенко М. В., Чухрій Б. М., Чайковська О. І. // НВФ «Українські технології». – 2005. – 228 с.
4. Репродуктивна функція і диспансеризація бугаїв / Косенко М. В., Чухрій Б. М., Коцюмбас І. Я. та ін. // НВФ «Українські технології». – 2007. – 186 с.
5. *Копилов К. В.* Комплексний аналіз тварин великої рогатої худоби білоголової української та української чорно-рябої молочної порід за різними ДНК-маркерами / Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва // Копилов К. В., Копилова К. В., Арнаут К. О., Боярська А. В. – Біла Церква., 2010. – Вип. 2 (70). – С. 71-72.
6. *Королюк М. А.* Метод определения активности каталазы / М. А. Королюк, Л. И. Иванова, Майорова И. Г., В. Е. Токарев // Лаб. дело. – 1991. – № 12. – С. 9 – 10.

7. *Созинов А. А.* Полиморфизм белков и его значение в генетике и селекции. – М.: Наука, 1985. – 272 с.
8. *Луценко М. М.* Перспективні технології виробництва молока: Монографія / М. М. Луценко, В. В. Іванишин, В. І. Смоляр. – К.: Видавничий центр “Академія”, 2006. – 192 с.
9. Біотехнологічні і молекулярно-генетичні основи відтворення тварин // В. А. Яблонський, С. П. Хомин, В. І. Завірюха та ін. – Львів: Афіша, 2009 – 217 с.
10. *Каплінський В. В.* До методики визначення білкових макромолекул організму тварин у поліакриламідному гелі // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок. – 2014. – Вип. 15, № 2-3. – С. 282–286.
11. *Каплінський В. В.* Репродуктивна здатність корів у зв’язку з генеалогічною належністю / В. В. Каплінський // НТБ ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин. – 2016. - Вип. 17, № 2. – С. 251–254.
12. *Холод В. М.* Белки сыворотки крови в клинической и экспериментальной ветеринарии / В. М. Холод. – Минск: Ураджай. – 1983. – 77 с.
13. *Чевари С. Н.* Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Н. Чевари, Т. А. Андян, Я. И. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
14. *Моим В. М.* Простой и специфический метод определения глутатионпероксидазы в эритроцитах / В. М. Моим // Лаб. дело. – 1986. – № 12. – С.16 – 19.
15. Лабораторні методи досліджень у біології тваринництві та ветеринарній медицині: довідник / В. В. Влізла, Р. С. Федорук, І. Б. Ратич та ін.; За ред. В. В. Влізла. — Львів: СПОЛОМ, 2012. – 764 с.
16. *Плохинский Н. А.* Биометрия. – М.: Изд-во Моск. гос. ун-та. – 1970. – 366 с.
17. Influence of Various Bio- Stimulants on the Biochemical and Hematological Parameters in Porcine Blood Plasma/ N. Karagodina, Y. Kolosov, A. Usatov [et al.] // World Applied Sciences Journal. – 2014. – No. 30. – P. 723-726.
18. Beauchamp C. Superoxide dismutase: Improved assays and an assay applicable to acrylamide gels / Beauchamp C., Fridovich I. // Anal. Biochem. – 1971. – Vol. 44. – P. 276 – 287.
19. *Misra Hara P., Fridovich I.* Superoxide Dismutase and Peroxidase: A Positive Activity Stain Applicable to Polyacrylamide Gel Electropherograms // Archives of Biochemistry and Biophysics – 1977. – 183. – P. 511–515.
20. *Wodbury W.* An improved procedure using ferricyanide for detecting catalase isozymes / Wodbury W., Spencer A. K., Stahmann M. A. // Analyt. Biochem. – 1971. – Vol.44, N1. – P. 301–305.

Рецензент – О. І. Чайковська, к. б. н., с. н. с., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.