

**Оценка уровня проявления генетических аномалий поголовья на территории Ставропольского края в соответствии с национальными и международными нормативными требованиями, в том числе: оценка основных параметров молочной продуктивности и качества молока высокопродуктивного маточного поголовья крупного рогатого скота молочного направления продуктивности (надой молока, показатели качества молока: жир, белок, соматические клетки) в различные периоды лактации**

Увеличение удельного веса кровности голштинской породы, которая относится к лучшим культурным молочным породам мира, является одним из основных путей улучшения генотипов молочного скота во многих странах мира.

Широкое распространение в молочном животноводстве биотехнологий, крупномасштабной селекции обусловило использование ограниченного контингента быков-производителей, что привело к появлению новорожденных телят с различными аномалиями, имеющими зачастую наследственную основу, обусловленную как мутациями генов, так и хромосомными нарушениями. Ввиду того, что основная часть таких аномалий наследуется по рецессивному типу, они представляют собой скрытый генетический груз, который не всегда проявляется в фенотипе.

Значимость цитогенетического анализа и кариотипирования в последние годы приобретает все большее значение не только при рассмотрении теоретических предпосылок, но и при решении прикладных задач, направленных на предотвращение ущерба, наносимого сельскохозяйственному производству.

Объектом исследований являлось маточное поголовье северокавказской популяции крупного рогатого скота голштинской породы ( $n = 5189$ ), разводимого в племенных хозяйствах Ставропольского края. На основании анализа материалов первичного зооветеринарного учета, журналов осеменений и отелов, регистрации приплода было отобрано 174 головы коров с проявлениями явных нарушений функции воспроизводства – частые перегулы (повторные осеменения), аборт,

рождение мертвых телят и телят-уродов и 25 голов здоровых животных (контрольная группа).

Образцы крови в количестве 5-10 мл отбирались от каждого животного из яремной вены в вакуумные стерильные пробирки VACUETTE, содержащие гепарин. Вся процедура взятия крови проводилась с максимальным соблюдением стерильности: перед взятием крови поверхность кожи в месте введения иглы стерилизовалась 70% этиловым спиртом. Образцы крови помещались в термоконтейнер при температуре 2-4°C и доставлялись в лабораторию в течение 1-2 часов. К образцам крови прилагалась ведомость с указанием хозяйства, даты взятия крови, клички, индивидуального номера животного, пола, породы.

Цитогенетический анализ осуществлялся в аккредитованной лаборатории иммуногенетики и ДНК – технологий ФГБНУ Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства (Свидетельство ПЖ-77 № 005942 от 01.10.2013 г.) с использованием специальных методик и соответствующего оборудования.

Для получения препаратов хромосом использовались образцы культуры лейкоцитов периферической крови животных. Культивирование лимфоцитов (0,5 мл) осуществлялось в течение 48 часов в питательной среде RPMI-1640 (5 мл) с добавлением 15-20 % аутологичной сыворотки и конкавалина (0,1 мл). За 1,5 ч до завершения культивирования в среду добавлялся раствор колхицина. Гипотоническая обработка проводилась с использованием 0,56 М раствора KCl в течение 20 минут при температуре с последующей фиксацией в метанол-уксусной смеси. Препараты хромосом рутинно окрашивались в растворе Гимза и исследовались под микроскопом OLIMPUS BX-43 (увеличение x1000). G – дифференциальное окрашивание проводилось по методике Сибрайт с модификациями.

Морфометрический анализ хромосом проводили для каждого исследуемого животного: анализировали метафазы, имеющие полный

диплоидный набор хромосом. Вычисляли относительную длину хромосом, центромерный и плечевой индексы:

- относительную длину определяли, как выраженное в процентах отношение длины данной хромосомы к общей длине всех хромосом в гаплоидном наборе (включая данную хромосому и X-хромосому);

- центромерный индекс - отношение длины короткого плеча к длине целой хромосомы, выраженное в процентах;

- плечевой индекс - отношение размера более длинного плеча хромосомы к размеру более короткого.

Для анализа и фотографирования отбирались те метафазные пластинки, в которых хромосомы лежали отдельно друг от друга. На одном препарате (стекле) исследовали от одной до десятка метафазных пластинок, а для составления представления о кариотипе, просматривали в среднем 50, а иногда и больше метафазных пластинок.

Таблица 7 – Группы исследуемых коров

Группа	Функциональные нарушения	Количество животных
I	Абортирование	26
II	Мертворожденные телята	31
III	Рождение телят-уродов	2
IV	Множественное осеменение	115
V	Без нарушений функций воспроизводства (контроль)	25
Всего голов	-	199

С учетом функциональных нарушений воспроизводства было сформировано пять групп животных: I группа - абортированные коровы (n=26), II - родившие мертвых телят (n=31), III – родившие уродов (n=2),

IV - сверхнормативное осеменение (n=115), V – без нарушений функций воспроизводства – (контроль, n=25) (таблица 7).

Сравнительным анализом морфометрических характеристик коров с функциональными расстройствами воспроизводства выявлена определенная схожесть морфометрических признаков хромосом у абортированных коров и у животных с повторным осеменением, с одной стороны и значительные различия изучаемых показателей – у коров, родивших мертвых телят и уродов – с другой (таблица 8).

Таблица 8 - Морфометрические характеристики хромосомного набора северокавказской популяции коров голштинской породы

Группа животных	Морфометрические признаки хромосом, %		
	индексы		относительная длина
	плечевой	центромерный	
I	13,98	6,60	1,6
II	10,75*	8,57*	1,7
III	8,10**	10,9**	1,9
IV	13,89	6,74	1,5
V	14,36	6,50	1,5

Так, в хромосомном наборе коров II и III группы величина плечевого индекса была достоверно на 25,14-43,49% меньше по отношению к контролю, в то время как величина центромерного индекса была на 31,85-67,69% выше по отношению к этому показателю коров без нарушений функций воспроизводства.

Результаты метафазного анализа позволили регистрировать определенную часть стабильных аберраций. При цитогенетическом анализе абортированных коров выявлено, что при рассмотрении 1300 метафазных пластинок обнаружено 93 аберрантных клетки с частотой

встречаемости 7,2%, из них полиплоидии - 4, парных фрагментов – 16, дицентрических слияний – 73. Количество аберраций на одну исследованную (аберрантную) клетку составило 0,07/1,0 (таблица 9).

Таблица 9 - Результаты цитогенетического анализа коров функциональными нарушениями воспроизводства

Показатель		Группы животных				
		I	II	III	IV	V
Изучено	образцов	26	31	2	115	25
	метафазных пластинок	1300	1550	100	5750	1250
Аберрантные клетки	количество	93	125	37	211	53
	частота встречаемости, %	7,2	8,1	37,0	3,7	4,2
Выявленные аберрации	полиплоидия	4	6	1	9	2
	парные фрагменты	16	21	9	20	18
	дицентрические	73	98	27	182	33
Количество аберраций на 1 обследованную клетку		0,07/1,0	0,08/1,0	0,37/1,0	0,03/1,0	0,04/1,0

Цитогенетическим анализом коров, родивших мертвых телят, установлено, что при обследовании 1550 метафазных пластинок, обнаружено 125 абберрантных клетки с частотой встречаемости 8,1%, из них полиплоидии - 6, парных фрагментов – 21, дицентрических слияний – 98. Количество аберраций на одну исследованную (аберрантную) клетку составило 0,08/1,0 (рисунок 6, 7).

При цитогенетическом анализе коров, родивших уродов выявлено, что при рассмотрении 100 метафазных пластинок, обнаружено 37 абберрантных клеток с частотой встречаемости 37,0%, из них полиплоидии - 1, парных фрагментов – 9, дицентрических слияний – 27. Количество аберраций на одну исследованную (аберрантную) клетку составило 0,37/1,0.

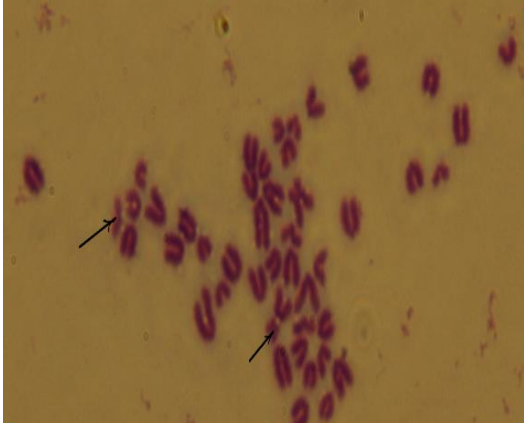


Рисунок 6 – Парные фрагменты в хромосомном наборе

Цитогенетическим анализом коров с нарушением цикла осеменения рассмотрено 5750 метафазных пластинок, обнаружено 211 aberrантных клеток с частотой встречаемости 3,7%, из них полиплоидии - 9, парных фрагментов – 20, дицентрических слияний – 182. Количество aberrаций на одну исследованную (aberrантную) клетку составило 0,03/1,0.

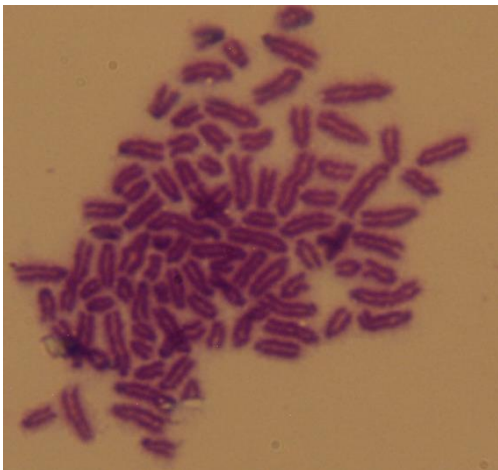


Рисунок 7 – Полиплоидия в хромосомном наборе коров

При цитогенетическом анализе коров без нарушений функций воспроизводства (контроль) выявлено, что при рассмотрении 1250 метафазных пластинок, обнаружено 53 aberrантных клеток с частотой встречаемости 4,2%, из них парных фрагментов – 18, дицентрических слияний – 33, полиплоидных клеток - 2. Количество aberrаций на одну исследованную (aberrантную) клетку составило 0,04/1,0. Общее количество

абберантных клеток у коров с проблемами воспроизводства ( $n=174$ ) составило: полиплоидии ( $n=20$ ), парные фрагменты ( $n=66$ ), дицентрики ( $n=380$ ) с частотой встречаемости, в среднем, 5,35%, что на 21,5% выше по сравнению со здоровыми животными. Можно предположить, что выявленные aberrации могли быть причиной функциональных расстройств воспроизводства.

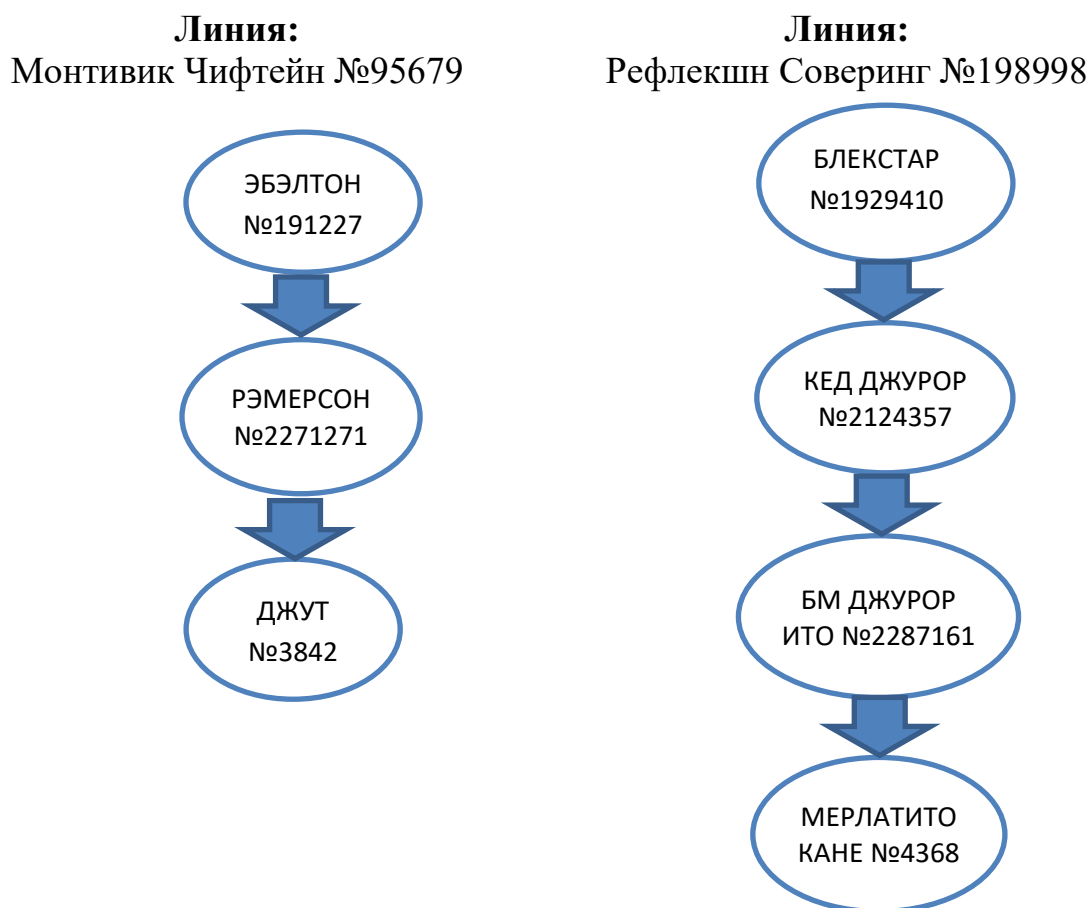


Рисунок 8 – Родословные быков-производителей, от коров-дочерей которых наблюдались случаи появления мертворожденных телят

Но, поскольку, частота встречаемости абберантных клеток ( $n=519$ ) на популяцию с численностью 5189 составляет всего лишь 5,35%, а количество aberrаций на одну исследованную клетку – 0,05/1,0, то выявленные нарушения в хромосомном наборе коров, носят случайный характер и не имеют наследственную основу.

Анализ генеалогической структуры популяции крупного рогатого скота голштинской породы позволил выявить основные генеалогические схемы быков-производителей, у коров-дочерей которых наблюдались нарушения воспроизводительного цикла, приведшие к появлению мертворожденных телят (рис. 8).

Маточное поголовье с хромосомными нарушениями было элиминировано из популяции для исключения возможности дальнейшего участия их в селекционном процессе. Результаты исследований показали, что использование методов цитогенетики является необходимым условием для успешного ведения селекционно-племенной работы в современном молочном скотоводстве.

Результаты исследования проб сырого молока от подконтрольного поголовья коров показали существование породных различий в уровне жира и белка (табл. 10). Пробы молока отбирались индивидуально от каждой коровы во время контрольной дойки в первую, вторую и заключительную треть лактации, при условии, что разовый удой не был меньше 3 л, что наблюдается при переводе коров в группу запуска [18-25].

При достаточно усредненных данных по содержанию жира и белка между подконтрольными группами разных пород, следует отметить, что уровень белка у коров айрширской породы (СПК колхоз-племзавод «Кубань»), в среднем, на 0,18 г или на 5,9% был выше, чем у коров черно-пестрой и голштинской пород. Содержание жира в значительной большей степени зависит от уровня кормления, чем уровень белка. На протяжении стандартной лактации уровень жира в молоке здоровых коров находится в пределах 3,6-4,5%. Перед запуском, при снижении удоя, уровень жира в молоке может увеличиваться до 5-6%.

Мониторинг уровня соматических клеток в молоке позволяет оперативно производить контроль здоровья коров и улучшать технологические показатели валовых партий молока.



Таблица 10 - Результаты анализов качества молока племенных хозяйств  
Ставропольского края

№ п/п	Агроформирование	Проб молока, всего	Средние показатели		
			Белок, %	Жир, %	Соматическ ие клетки, тыс. в 1 см <sup>3</sup>
1	СПК колхоз имени Ворошилова	460	3,03	3,96	415
2	СПК колхоз-племзавод «Казьминский»	972	3,03	4,43	330
3	СПК колхоз-племзавод «Кубань»	301	3,23	3,98	285
4	ООО «Приволье» Красногвардейский район	63	3,05	3,95	413
5	СПК колхоз «Россия»	930	3,04	4,45	294
6	ООО СП «Чапаевское» Шпаковский район	594	3,10	4,05	220
По лаборатории всего:		3330	3,08	4,14	326

Таким образом, для увеличения продуктивности молочного скота, разводимого в хозяйствах Ставропольского края и обеспечения его генетического благополучия необходимо осуществлять регулярный цитогенетический контроль племенного поголовья и оценку качества молока.

Такой подход применим не только к племенному поголовью, управление стада, безусловно, имеет значение и для товарных стад, которые, в основном, дают валовый сбор молока в Ставропольском крае.