

винятком однієї пари маленьких метацентричних хромосом, де він відсутній. Не відмічено явного гетероморфізму за розміром С-блоків центромерного гетерохроматину хромосом. Необхідно продовжити на популяційному рівні вивчення поліморфізму гетерохроматинових районів, що важливо в виявленні природних хромосомних маркерів.

Маркерні хромосоми можуть використовуватись як додатковий критерій при визначенні походження тварин. Існує необхідність дослідження можливого патогенетичного зв'язку між гетероморфізмом С-блоків та репродуктивною функцією коней.

Висновки:

1. Встановлено наявність соматичної хромосомної нестабільності в лейкоцитах крові коней української верхової породи, яка характеризується індивідуальними частотою та спектром спонтанних хромосомних мутацій.

2. Не виявлено гетероморфізму С-блоків центромерного гетерохроматину аутосом досліджених коней.

В статье представлены данные по цитогенетическому исследованию спонтанных хромосомных мутаций и С- гетерохроматина в лейкоцитах крови коней украинской верховой породы.

Results of investigating spontaneons chromosome mutations and C- heterochromatin in leukocyte of horses are resented in the articl.

УДК 636.2.082:575:619

РОЗРОБКА МЕТОДИЧНИХ ПРИЙОМІВ ПО СТВОРЕННЮ БАНКУ РЕАГЕНТІВ ДЛЯ АТЕСТАЦІЇ КОНЕЙ ЗА ГРУПАМИ КРОВІ

В.І.Россоха, Г.М.Тур, Т.Л.Ворошина, А.А.Івашура,

Інститут тваринництва УААН

В.І.Свтушенко, О.М.Кадацький.

Агрофірма “Шахтар”

У статті наведено результати вивчення впливу певних факторів, які визначають ефективність ізоімунізацій у коней при вирішенні питань щодо створення банку реагентів для атестації тварин за групами крові.

**антиген, антитіло, група крові, еритроцит, ін'єкція, кінь, сироватки-
реагенти**

Незважаючи на те, що за останні роки з'явилась велика кількість публікацій про ефективність використання молекулярно-генетичних маркерів на рівні ДНК і РНК, для вирішення багатьох завдань генетики сільськогосподарських тварин, в тому числі і коней, традиційні методи імуногенетичних досліджень, а саме еритроцитарний, білковий і ферментний поліморфізм, не втратили своєї

актуальності. На думку вчених, які вивчають дану проблему [1, 2, 5], ці два напрямки будуть співіснувати тривалий час, доповнюючи один одного.

У конярстві феномен поліморфізму еритроцитарних антигенів знайшов широке застосування при встановленні походження тварин, у вивченні ступеня генетичної схожості і відмінності між породами і лініями, у розшифруванні причин гемолітичної хвороби новонароджених лоша́т, а також у дослідженнях генетичної компоненти мінливості кількісних і якісних ознак, пов'язаних з відтворювальними здатностями і стійкістю тварин до різних захворювань.

Використання систем груп крові в селекційно-племінній роботі у коней реальне лише за наявності відповідного банку моноспецифічних сироваток-реагентів, які б дозволяли ідентифікувати певний спектр еритроцитарних агентів. Процес виготовлення реагентів досить складний, трудомісткий і довготривалий. Ускладнюється він ще й тим, що велика кількість тварин не утворює антитіл на введення антигенів, які відсутні в їх особистих еритроцитах [3].

Все це свідчить про необхідність розробки ефективних способів імунізацій з метою отримання “сирих” антисироваток, які б стали базою для виготовлення реагентів.

Методика проведення досліджень. Для виготовлення реагентів груп крові коней використовували як дорослих тварин обох статей, так і молодих одно- і дворічних коней торійської верхової, будьонівської, російської рисистої й орловської рисистої порід, а також безпородні коні господарства “Червона зірка” Донецької області.

Усіх тварин донорського стада ($n=116$) атестували банком реагентів Всеросійського НДІ конярства. При підборі пар “донор-реципієнт” враховували антигенний спектр коней-донорів, а також властивості деяких антитіл синтезуватись більш частіше і легше. У кожній серії імунізацій використовували 9-11 тварин-донорів і 20-30 реципієнтів. За такою схемою було проведено три імунізації, які здійснювали внутрим'язовим способом в шию коням. Нами застосовувались три-семикратні імунізації з інтервалом між ін'єкціями антигена 6–8 днів. Як антиген використовували цільну кров в об'ємі 40 мл, а також тричі відмиті фізіологічним розчином еритроцити в об'ємі 20 мл.

Кров для контролю синтезу антитіл відбирали з яремної вени в об'ємі 10 мл після кожної ін'єкції. Аналіз отриманих “сирих” антисироваток проводили двома серологічними тестами: в реакціях прямої аглютинації та гемолізу. Якість і специфічність реагентів перевіряли співставленням з антиеритроцитарними сироватками Всеросійського НДІ конярства, які пройшли міжнародні перевірки, що підтверджено міжнародними сертифікатами.

Результати досліджень. Метою досліджень було вивчення окремих особливостей антитілоутворення у коней в залежності від впливу різних факторів, а також виготовлення моноспецифічних сироваток-реагентів для визначення груп крові у коней.

Для визначення впливу дози введеного антигена на синтез антитіл було імунізовано 52 коней різних порід. Збільшення дози в відомих межах може привести до підвищення процесів синтезу антитіл, проте прямої залежності при

вивченні цього питання не виявлено, так як при значному її збільшенні імуногенез уповільнюється або ж повністю припиняється [3, 4].

При дослідженні впливу дози антигену на процеси утворення антитіл, одній групі тварин-реципієнтів (n=29) вводили 40 мл цільної крові, другій (n=29) – 20 мл тричі відмитих фізіологічним розчином еритроцитів. Результати дослідів наведені в таблиці 1.

1. Утворення і титр антитіл в залежності від дози введеного антигену

Показники	Доза введеного антигену	
	40 мл (цільна кров)	20 мл, (відмиті еритроцити)
Кількість реципієнтів	29	23
Із них:		
не синтезували антитіла	12 (41,4%)	8 (34,8%)
синтезували антитіла	17 (58,6%)	15 (65,2%)
в т.ч. з титром N	-	-
1:2	-	-
1:4	6	5
1:8	4	3
1:16	2	-
1:32	1	1
1:64	2	1
1:128	1	-
1:256	1	2
1:512	-	1
1:1024	-	2
Всього з титром N-16	12 (70,6%)	8 (53,3%)
Всього з титром 1:32 -1024	5 (29,4%)	7 (46,7%)

Із отриманих даних видно, що при введенні 20 мл тричі відмитих фізіологічним розчином еритроцитів процент реактивних тварин був майже таким же, як і при ін'єкціях 40 мл цільної крові. Проте при введенні 20 мл еритроцитів значно більша кількість реципієнтів синтезували антитіла з високою активністю (46,7 % проти 29,4 % при ін'єкції 40 мл цільної крові), в тому числі 5 особин з титром 1:256 – 1:1024. Серед коней, які імунізувались 40 мл цільної крові, такі тварини відсутні.

Рядом досліджень [3,4] встановлено, що при ізоімунізаціях великої рогатої худоби зменшення ізоімунізаційної дози від 100 мл до 20 мл цільної крові або 50 % суспензії еритроцитів не відображалось на інтенсивності синтезу антитіл. Наші дослідження показали, що по активності утворення антитіл введення 20 мл свіжевідмитих еритроцитів має деякі переваги в порівнянні з ін'єкціями 40 мл цільної крові.

Іншим фактором, який визначає ефективність ізоімунізацій у коней, було встановлення впливу кратності імунізації на синтез антитіл. Для встановлення оптимальної кратності імунізації, яка б сприяла збільшенню кількості реактивних тварин і отриманню від них високоактивних сироваток, нами досліджувалась дія одно-, дво-, три-, чотири-, п'яти-, шести- і семикратних ін'єкцій

антигену (табл. 2).

2. Синтез і титр антитіл в залежності від числа ін'єкцій антигену

Показники	Ін'єкції антигену						
	1	2	3	4	5	6	7
Кількість реципієнтів	37	22	50	52	43	39	17
Не синтезували антитіл	29 (78,4%)	15 (68,2%)	22 (44,0%)	18 (34,6%)	19 (44,2%)	18 (46,2%)	9 (52,9%)
Синтезували антитіла	8 (21,6%)	7 (31,8%)	28 (56,0%)	34 (65,4%)	24 (55,8%)	21 (53,8%)	8 (47,1%)
в т.ч. з титром N	2	1	2	-	3	4	-
1:2	4	2	3	-	2	3	-
1:4	2	2	7	5	6	5	4
1:8	-	1	5	4	3	3	1
1:16	-	1	4	4	2	2	2
1:32	-	-	2	7	1	1	2
1:64	-	-	3	5	2	2	-
1:128	-	-	1	2	3	1	-
1:256	-	-	1	2	2	-	-
1:512	-	-	-	3	-	-	-
1:1024	-	-	-	2	-	-	-
Всього з титром N-16	8 (100%)	7 (100%)	21 (75,0%)	13 (38,2%)	16 (66,7%)	17 (80,9%)	7 (87,5%)
Всього з титром 1:32-1:1024	-	-	7 (25,0%)	21 (61,8%)	8 (33,3%)	4 (19,1%)	1 (12,5%)

Аналіз отриманого матеріалу свідчить, що найбільш результативними щодо активності синтезу антитіл виявились три-, чотири-, п'яти- і шестикратні введення антигену (відповідно реактивних особин 56,0 %, 65,8 % і 53,8 %).

За кількістю реципієнтів з високою активністю антитіл найбільш ефективними виявились 4-кратні введення антигену (61,8 % з титром антитіл 1:32 – 1:1024). Одно-, дво- і семикратні ін'єкції антигену були найгіршими, як за загальним числом імунореактивних тварин (відповідно реактивних особин 21,6 %, 31,8 % і 47,1 %), так і за активністю синтезованих антитіл.

Таким чином, найбільш результативними й ефективними за показниками активності синтезованих антитіл є чотирикратні введення антигену.

Висновки:

1. При комплектації донорських стад з метою отримання антиеритроцитарних реагентів необхідно формувати поголів'я коней різнопородного походження.

2. Метод чотирикратних ін'єкцій 20 мл тричі відмитих фізіологічним розчином еритроцитів, з інтервалом сім днів, при ізоімунізаціях коней має переваги над іншими щодо активності та різноманітності синтезованих антитіл.

3. Для визначення груп крові коней виготовлено 12 моноспецифічних сироваток-реагентів, які діють у прямій реакції аглютинації (10) і в реакції гемолізу (2).

Бібліографічний список

1. Глазко В.И., Облап Р.В., Кушнир А.В., Щирський О.Н. Генетические маркеры лошадей // С.-х. биология. – 1999. – №6. – С.24-29.
2. Созинов А.А., Глазко В.И. Современные технологии в решении традиционных вопросов генетики и селекции // Цитология и генетика. – 1999. – Т.33. – №6. – С.53-75.
3. Тихонов В.Н. Иммуногенетика и биохимический полиморфизм домашних и диких свиней. – Новосибирск: Наука, 1991. Сс.13-34.
4. Bailey E. Usefulness of lymphocyte typing to exclude incorrectly assigned paternity in horses // Amer. J. Vet. Res. – V.45, №10. – 1984. – P.1976-1978.
5. Nevo E. Genetic variation in natural populations: patterns and theory // Theor. Pop. Biol. – 1987. – V13, №1. – P.121-177.

В статье представлены результаты исследований по изучению влияния определенных факторов, которые определяют эффективность изоиммунизаций у лошадей при создании банка реагентов для аттестации животных по группам крови.

In this article there are results of investigation according with studying of influence defined factors which determine effect of isoimmunization for horses when creating readgent base to typing the animals according to their blood groups

УДК 636.2.082:575:619

ГОЛОВНИЙ КОМПЛЕКС ГІСТОСУМІСНОСТІ КОНЯ (ELA) І СТІЙКІСТЬ ДО ЗАХВОРЮВАНЬ

А.А. Івашура, В.І. Россоха, Г.М. Тур, Т.Л. Ворошина,

Інститут тваринництва УААН

М.М. Івашура

Національна фармацевтична академія

У статті приведені дані по дослідженню лімфоцитарних антигенів головного комплексу гістосумісності у коней і можливість їх використання в селекції на стійкість до захворювань

лімфоцитарні антигени, кінь, селекція, резистентність, захворюваність, головний комплекс гістосумісності

Розуміння поліморфізму, структури й організації головного комплексу гістосумісності (ГКГС) у коней є важливим кроком до вивчення взаємозв'язку між ГКГС-гаплотипами і хворобами, або іншими ознаками, що викликають інтерес.

Антигени гістосумісності знаходяться на плазматичній мембрані клітин, що містять ядра, і тромбоцитів. Вони відіграють значну роль у імунорегуляції; у структурному і функціональному відношенні можуть бути розділені на класи: клас 1 - класичні ELA антигени і клас 2 - антигени, асоційовані з I-регіоном (ELA-DR).