

ПОЛІМОРФІЗМ ГЕНА МАННОЗА-ЗВ'ЯЗУЮЧОГО ЛЕКТИНУ (MBL1) В УКРАЇНСЬКИХ МАЛОЧИСЕЛЬНИХ ТА ТРАНСКОРДОННИХ ПОРОДАХ ВЕЛИКОЇ РОГАТОЇ ХУДОБИ

Н.Б. МОХНАЧОВА, О.М. ЖУКОРСЬКИЙ

Інститут розведення і генетики тварин імені М.В. Зубця НААН, Київська обл. Бориспільський р-н с. Чубинське, вул. Погребняка 1, Україна

E-mail: nataliia.mokhnachova82@gmail.com, o_zhukorskiy@ukr.net

Автор для кореспонденції – Мохначова Н.Б., e-mail: nataliia.mokhnachova82@gmail.com

В останні роки в селекційній практиці зросло використання генетичних методів для створення більш стійкого до хвороб поголів'я сільськогосподарських тварин. Особливе значення мають дослідження генів, які відповідають за імунний статус організму, зокрема ген манноза-зв'язуючого лектину 1 (MBL1). Визначені частоти алелів і генотипів гену манноза-зв'язуючого лектину 1 (MBL1) в українських малочисельних та транскордонних породах великої рогатої худоби (лебединській, бурій карпатській, джерсейській, айширській та швіцькій), методом ПЛР-ПДРФ-тестування з використанням рестриктази *HaeIII* (поліморфізм с.2569 T>C). Визначення Т- і С-алелів MBL1 має практичне значення, оскільки ген манноза-зв'язуючого лектину є кандидатом в маркери стійкості до маститів. Частоти Т-алеля MBL1 в досліджених породах варіюють від 0,27 до 0,47, генотипів ТС- від 0,13 до 0,4 і генотипів ТТ- від 0,17 до 0,33. В чотирьох порід виявлено зміщення генетичної рівноваги через надлишок гомозигот. Значення ефективно діючих алелів в локусі MBL1 у вивчених порід менші за граничну величину, що свідчить про те, що число діючих алелів в популяціях для даного локусу менше можливого. Найбільш ($N_a = 1,993$) поліморфною виявилася популяція корів зникаючої бурої карпатської породи. Найбільшим ступінь реалізації генетичної мінливості був також у бурої карпатської породи ($V = 41,379$), яка вирощена та утримується в приватному секторі гірської місцевості, а найменшим у айришської породи ($V = 13,236$) відповідно. Розрахунок генетичних відстаней виявив, що найбільш близькими виявилися джерсейська і лебединська породи, а максимальна генетична дистанція зафіксована між тваринами джерсейської та бурої карпатської порід. Аналіз генетичної структури вивчених порід великої рогатої худоби в Україні виявив зміни частоти того чи іншого генотипу в залежності від породи. Результати, отримані в даному дослідженні, містять важливу інформацію, яка може бути вико-

ристана для ведення селекції на стійкість до маститів великої рогатої худоби.

Ключові слова: поліморфізм, гени, алель, корови, малочисельні породи ВРХ, манноза-зв'язуючий лектин 1, MBL1, мастит.

Вступ. Серед усіх хвороб молочних корів найчастіше зустрічається запалення молочної залози. Мастит корів широко розповсюджений і завдає великих економічних збитків виробникам молока через його недоотримання і зниження якості, передчасної вибраковки корів, захворювання новонароджених телят і витрат на лікування (Morales-Ubaldo et al, 2023). Незважаючи на будівництво нових сучасних тваринницьких комплексів з молочними залами з комп'ютерними системами контролю дійного стада, частота маститу серед дійного стада визначається в межах 15–83 %. Першочерговими причинами маститу є інтрамамарні (локалізація безпосередньо в молочній залозі) інфекції викликані такими бактеріями: *Escherichia coli*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* у *Streptococcus agalactiae* (Cadona et al, 2021). Тривалий час перспективним методом подолання маститів вважалася вакцинація тварин, були проведені дослідження та вироблені декілька специфічних препаратів, які діють проти конкретного збудника (Magotra et al, 2016). Проте через поліетіологічний характер маститів їх важко подолати моновакцинами, тому вчені в пошуках альтернативного підходу в боротьбі із запаленням молочної залози (Dhundwal et al, 2019).

В Україні основним акцентом генетичного відбору корів є збільшення виробництва молока, але несприятливі кореляції між надоями молока та маститом вказують на те, що селекція виключно на надої молока тільки збільшить

захворюваність на мастит (Sahana et al, 2014). Серед генетичних факторів стійкості до захворювань великої рогатої худоби виявили потенційні гени-кандидати на стійкість до маститів, які можна використовувати для проведення маркерної селекції в молочних стадах: *BoLA-DRB3*, *B-4 defensin*, *IL8RA*, *C5AR1*, *CD14*, *IFNG*, *IL1B*, *IL6*, *IL8*, *MBL1*, *LBP*, *LTf*, *SAA3*, *TLR2*, *TLR4*, *TNF* (Tanamati et al, 2019). Останнім часом привертає увагу ген манноза-зв'язуючого лектину (*mannose-binding lectin*, *MBL*) – також відомий як маннан-зв'язуючий білок (МВР). Це кальцій-залежний колагеновий білок, який приймає участь в активації комплексу через лектинові шляхи *MBL* зв'язує поверхневі вуглеводи мікробів і активує шлях лектинового комплексу, а також пов'язує велику кількість клінічних ізолятів бактерій, грибів, вірусів та паразитів (Baghel et al, 2022). Продуктування *MBL* здійснюється як зворотня реакція на інфекційний агент, тому при попаданні в кров він стає частиною механізму антиген-специфічного імунітету.

Ген *bovine* манноза-зв'язуючого лектину 1 локалізований на 28 хромосомі та має довжину 5223 пар нуклеотидів (п.н.). Він містить чотири інтрони і п'ять екзонів, що кодують білок з 248 амінокислотних залишків. Багато вчених-дослідників виявили зв'язок генотипів *MBL1* із кількістю соматичних клітин в молоці та продуктивними ознаками у різних порід ВРХ (Asaf et al, 2014; Wang et al, 2011; Yuan et al, 2013; Kamaldeep et al, 2021), проте українські породи практично не досліджені за цим геном.

Метою роботи є вивчення поліморфізму гену *MBL1* (манноза-зв'язуючого лектину 1) в українських малочисельних та транскордонних породах великої рогатої худоби (лебединській, бурій карпатській, джерсейській, айширській та швіцькій).

Матеріали і методи. Молекулярно-генетичні дослідження проводились в лабораторії генетики Інституту розведення і генетики імені М.В. Зубця НААН на зразках ДНК, які отримані з крові корів українських малочисельних та транскордонних порід: бура карпатська, (n = 30), лебединська (n = 32), айширська (n = 56), швіцька (n = 65), джерсейська (n = 74). Зразки крові корів бурі карпатської породи відібрані під час експедиції у приватному секторі в Закарпатській області, лебединської – ДГ «Голосієво» Київська обл., айширської – з ДП ДГ «Декабристів» Полтавська обл., швіцької – з ТДВ племзавод «Михайлівка» Сумська обл., джерсейської – з АП НВП «Візит» Вінницька обл.

Виділення ДНК здійснювали із 150 мкл цільної крові з використанням стандартного комерційного набору «ДНК-сорб-В» (Амплі-Сенс, ЦНП епідеміології МЗ РФ) згідно інструкції виробника. Концентрація ДНК в отриманому препараті визначалася в агарозному гелі, шляхом порівняння яскравості полос фрагментів, які аналізуються і стандартного препарату ДНК (фрагменти фага λ). Всі проби доводили до робочої концентрації 20 нг/мкл.

Фрагмент гена манноза-зв'язуючого лектина (*MBL1*) довжиною 255 п.н. ампліфікували методом ПЛР із використанням набору реактивів АмпліСенс і праймерів: *MBL1 f*: – GTGG-TGGCAAATGTTGGCTAAAC-3' та *MBL1 r*: 5'-TGGCTCTCCCTTTTCTCCCTT-3' (Yuan et al, 2013). ПЛР-суміш містила: 2 мкл буфера для ДНК полімерази, 1 мкл суміші дНТФ («Амплісенс», РФ), по 0,9 мкл кожного праймера, 0,2 мкл ДНК-полімерази («Fermentas» Литва), вода для ПЛР 3,5 мкл. Геномна ДНК додавалась у кількості 1,5 мкл. Загальний об'єм ДНК-суміші становив 10 мкл. Ампліфікацію сумарної ДНК з праймерами проводили в про-

Таблиця 1. Характеристика умов ПЛР та схеми ПДРФ-аналізу продуктів ампліфікації

Поліморфізм	Умови ампліфікації	Ампліфікат	Генотипи та відповідні довжини рестрикційних фрагментів
MBL1-HaeIII g.2686T>C (екзон II)	95 °C – 5 хв; (95 °C – 30 с; 62 °C – 30 с; 72 °C – 30 с)×35; 72 °C – 5 хв	255 п.н.	MBL1-HaeIII TT:255 п.н.; MBL1-HaeIII TC:178/77п.н.; MBL1-HaeIII CC:255/178/77 п.н.

грамованому чотирьох каналному ампліфікаторі «Терцик» (ДНК-технологія, РФ).

Умови ПЛР та схеми рестрикційного аналізу продуктів ампліфікації поліморфних ділянок досліджуваних генів в табл. 1.

Для виявлення алельних варіантів гену *MBL1* використали рестрикційний аналіз продуктів ампліфікації кожного продукту ампліфікації (15 мкл), який проводили в стандартних умовах з використанням 5 одиниць ендонуклеази *HaeIII* (при 37 °С – 12 год). Продукти рестрикції розділяли в 2%-ному агарозному гелі з бромистим етидієм (0,5 мкг/мл) в 1 × × ТВЕ-буфері при напрузі 100 В (тривалість фореузу 1 год). Фіксацію фрагментів ДНК проводили фотографуванням гелів цифровою камерою під короткохвильовим ультрафіолетовим випромінюванням на транслюмінаторі (Mokhnachova, 2018). В якості маркерів молекулярних мас використовували ДНК *GeneRuler UltraLowRangema TM 50 bp DNA Ladder*. Аналіз результатів проводили, фотографуючи гелі цифровою камерою.

Частоту генотипів, алелів, гетерозиготність та інші біометричні показники розраховували відповідно прийнятих методик (Peakall et al, 2012).

Статистичний аналіз проводили за допомогою програмного пакету *Statistica 6.0* та *Exel (Microsoft Office 2007)*. Статистичний обробіток даних і кластерний аналіз з побудовою дендрограм проводили в стандартному пакеті *Microsoft Excel* з використанням інтегрованої надбудови програми *StatistiXL 2.0* (<http://www.statistixl.com/>).

Результати. Враховуючи розподіл поліморфних сайтів рестрикції, які дозволяють визна-

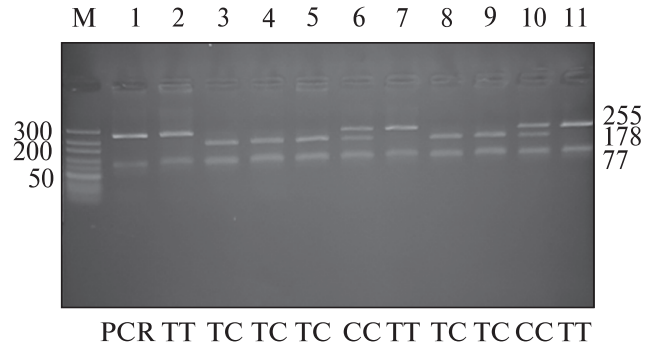


Рис. 1. Електрофореграма результату ПЛР-ПДРФ-аналізу гену манноза-зв'язуючого лектину (*MBL1*) великої рогатої худоби з праймерами *MBL1f* + *MBL1r* та ендонуклеазним розщепленням рестриктазою *HaeIII*, де М-маркер молекулярних мас; 1-ПЛР продукт; 2, 7, 11 – генотип ТТ; 3, 4, 5, 8, 9 – генотип ТС; 6, 10 – генотип СС

чати алельні варіанти гену *MBL1*, ми вибрали для ампліфікації *in vitro* ділянку гену довжиною 255 п.н., розташовану в екзоні II (Wang et al, 2012). Після проведення ампліфікації при аналізі електрофореграм визначалася одна смужка, рухомість якої відповідала розміру заданого для ампліфікації фрагменту (255 п.н.). При наступному ПДРФ-аналізі продуктів ампліфікації в отриманих препаратах ДНК досліджуваного поголів'я великої рогатої худоби виявлено два алеля гену манноза-зв'язуючого лектину – *MBL1^T* і *MBL1^C*, та відмічено наявність трьох генотипів: *MBL1^{TT}*, *MBL1^{TC}* і *MBL1^{CC}* (рис. 1).

Поліморфізм гену манноза-зв'язуючого лектину (*MBL1*) в досліджуваних популяціях відображено в табл. 2. Встановлено, що кожна популяція має свою породоспецифічну структуру. Частоти алелів та генотипів гену *MBL1*

Таблиця 2. Частоти алелей і генотипів *MBL1* у досліджуваних порід великої рогатої худоби

Порода	n	Частоти алелів		Частоти генотипів			H_o	H_e	χ^2	F_{is}
		T	C	TT	TC	CC				
Джерсейська	74	0,4	0,6	0,33	0,14	0,53	0,167	0,480	14,88***	0,653
Айрширська	56	0,335	0,665	0,27	0,13	0,6	0,133	0,446	14,63***	0,701
Швіцька	65	0,27	0,73	0,17	0,2	0,63	0,200	0,394	7,06**	0,493
Лебединська	32	0,375	0,625	0,25	0,25	0,5	0,250	0,469	4,36*	0,467
Бура карпатська	30	0,47	0,53	0,27	0,4	0,33	0,400	0,498	0,58	0,197

Примітка. n – розмір вибірки, H_o – фактична гетерозиготність; H_e – очікувана гетерозиготність; χ^2 – критерій відповідності; F_{is} – індекс фіксації Райта; *** – (p < 0,001), ** – (p < 0,01), * – (p < 0,05).

значно різняться у всіх тестованих порід великої рогатої худоби.

Частоти Т-алеля *MBL1* в досліджених породах варіюють від 0,27 до 0,47, генотипів ТС— від 0,13 до 0,4 і генотипів ТТ— від 0,17 до 0,33. Найбільший вміст Т-алеля відмічено у бурій карпатської породи, найменший — у швіцької породи з ТДВ племзавод «Михайлівка» Сумська обл. За цим показником вони різняться в 1,7 рази. В решті досліджених порід частоти Т-алеля варіювали в межах від 0,335 до 0,4, а частота генотипу ТТ— від 0,25 до 0,33.

Таблиця 3. Гомозиготність за геном манноза-зв'язуючого лектину (*MBL1*) в популяціях

Порода	Генотип	Число гомозиготних генотипів	Ca, %
Джерсейська	ТТ	25	86,0
	СС	39	
Айрширська	ТТ	15	87,0
	СС	34	
Швіцька	ТТ	11	80,0
	СС	41	
Лебединська	ТТ	8	75,0
	СС	16	
Бура карпатська	ТТ	8	60,0
	СС	10	

Аналіз отриманих даних показав, що популяціях джерсейської ($p < 0,001$), айрширської ($p < 0,001$), швіцької ($p < 0,01$) та лебединської порід ($p < 0,05$) зміщена генетична рівновага через надлишок гомозигот і недостатність гетерозигот. Така ситуація, ймовірно, пов'язана із дією штучного відбору тварин, тобто селекцією.

Методами генетико-статистичного аналізу оцінено генетичні структури вивчених популяцій великої рогатої худоби. Отримані генетичні константи залежали від умов утримання тварин і від досліджуваного гену.

Ступінь гомозиготності (Ca, %) свідчить про консолідацію стад (табл. 3). В локусі *MBL1* цей показник варіював від 60 % у бурій карпатської породи до 87 % у айрширської. Характерною особливістю є те, що найменша ступінь гомозиготності (60 %) характерна для популяції корів, які утримуються в умовах гір (бура карпатська).

Збільшення ступеня гомозиготності спричиняє зниження генетичного і фенотипового різноманіття, що веде до збільшення однорідності популяції.

Ще одним показником, який відображає стан популяції є тест гетерозиготності (ТГ), який ґрунтується на фактично і теоретично очікуваному розподілі генотипів гену манноза-зв'язуючого лектину (табл. 4).

Таблиця 4. Показник гетерозиготності (ТГ) за геном манноза-зв'язуючого лектину (*MBL1*) в популяціях

Порода	Фактично гетерозигот, гол.	Теоретично гетерозигот, гол.	Фактично гомозигот, гол.	Теоретично гомозигот, гол.	ТГ
Джерсейська	10	35,5	64	38,5	−0,766
Айрширська	7	25,0	49	31,0	−0,664
Швіцька	13	25,6	52	39,4	−0,400
Лебединська	8	15,0	24	17,0	−0,549
Бура карпатська	12	14,9	18	15,1	−0,320

Таблиця 5. Число ефективних алелів у популяціях (Na) за геном манноза-зв'язуючого лектину (*MBL1*) в популяціях

Порода	Частота алелів		Na
	T	C	
Джерсейська	0,4 ± 0,035	0,6 ± 0,028	1,923
Айрширська	0,335 ± 0,035	0,665 ± 0,025	1,804
Швіцька	0,27 ± 0,035	0,73 ± 0,021	1,651
Лебединська	0,375 ± 0,043	0,625 ± 0,033	1,882
Бура карпатська	0,47 ± 0,047	0,53 ± 0,044	1,993

Тест гетерозиготності (ТГ) за геном манноза-зв'язуючого лектину (MBL1) в досліджених українських популяціях великої рогатої худоби має від'ємні значення із значною варіабельністю: від $-0,320$ у бурій карпатської породи до $-0,766$ у джерсеїв. Це свідчить про недостатність гетерозигот.

Показником числа ефективно діючих алелей (N_a) локуса *MBL1* або рівня поліморфності популяції (табл. 5) є величина, яка характеризує кількість алелей діючих в популяції за даним локусом.

Отримані результативні значення ефективно діючих алелей в локусі *MBL1* у вивчених популяціях менші за граничну величину, що свідчить про те, що число діючих алелей у популяціях для даного локусу менше можливого. Найбільш ($N_a = 1,993$) поліморфною виявилася популяція корів бурій карпатської породи.

Показником стану протестованих українських малочисельних та транскордонних популяцій великої рогатої худоби також є ступінь генетичної мінливості (V , %) (рис. 2).

Найбільшим ступінь реалізації генетичної мінливості був у бурій карпатської породи ($V=41,379$), яка вирощена та утримується в приватному секторі гірської місцевості, а найменшим у айрширської породи ($V=13,236$) відповідно.

Молекулярно-генетичне тестування п'яти українських мало чисельних та транскордонних порід великої рогатої худоби (бура карпатська, лебединська, айрширська, швіцька, джерсейська) дало змогу визначити ступінь їх генетичної диференціації (табл. 6). Генетичні взаємодії між розглянутими породами оцінювали шляхом розрахунку генетичних відстаней (Nei, 1972).

Аналіз матриці відстаней встановив, що найбільш близькими виявилися джерсейська і

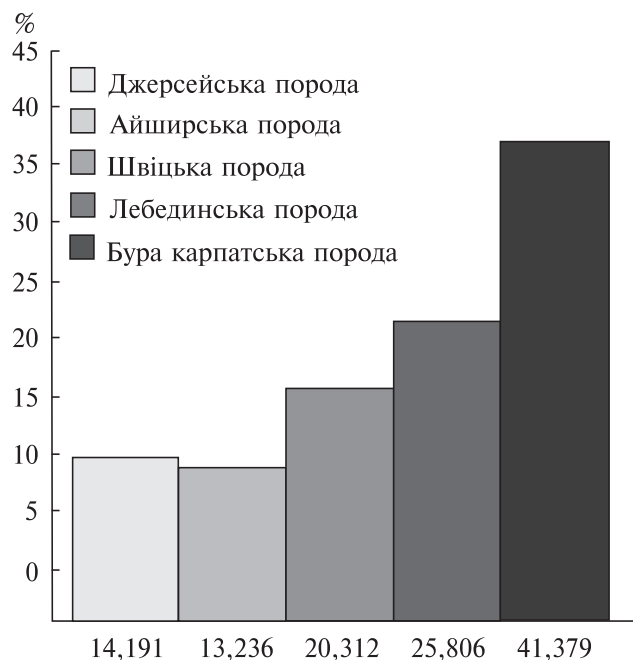


Рис. 2. Ступінь генетичної мінливості популяцій (V , %)

лебединська породи ($P_{1;4} = 0,0354$), тому вони об'єднуються в один кластер (рис. 3). Такі результати можуть пояснюватися факторами природного відбору.

Максимальна генетична дистанція зафіксована між тваринами джерсейської та бурій карпатської порід ($P_{1;5} = 0,099$). Це цілком відповідає характеру відмінностей досліджених популяцій великої рогатої худоби.

Обговорення. Раніше проведені дослідження гену манноза-зв'язуючого лектину (MBL1) в ідентифікації поліморфізму 2569 T>C серед різних порід та популяцій великої рогатої худоби мають досить суперечливий характер (табл. 7). Так, найвищу частоту алеля С (0,79 та 0,735) виявлено у місцевої китайської худоби Luxi Yellow (Liu et al, 2011; Wang et al, 2011). Високі значення алелю С (0,63) були встанов-

Таблиця 6. Генетична диференціація порід

Порода	Джерсейська	Айрширська	Швіцька	Лебединська	Бура карпатська
Джерсейська	0	—	—	—	—
Айрширська	0,0919	0	—	—	—
Швіцька	0,184	0,0919	0	—	—
Лебединська	0,0354	0,0566	0,148	0	—
Бура карпатська	0,099	0,191	0,283	0,134	0

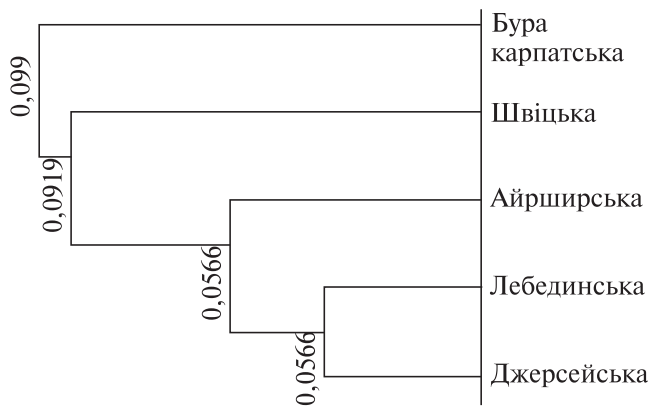


Рис. 3. Дендрограма генетичних взаємовідносин популяцій

лені також при дослідженні у турецької голштинської породи корів (Aksel et al, 2021), сименталів (Aksel et al, 2019) та у місцевої Bohai Black (Liu et al, 2011). Дещо менший показник алелю С (0,61) визначений у китайських голштинів (Liu et al, 2011) та у місцевої породи Nariana (Baghel et al, 2022), у місцевої турецької сірої худоби С (0,58) (Aksel et al, 2019) та швейцарської бурої С (0,55) (Aksel et al, 2019). Усі інші породи великої рогатої худоби мали перевагу алелю Т = 0,60–0,79 (Yuan et al, 2013; Aksel et al, 2019; Zhao et al, 2012). Цей розподіл алелей гену *MBL1* схожий з отриманими нами

результатами при дослідженні українських популяцій малочисельних порід великої рогатої худоби, де спостерігається переважання алелю С над алелем Т.

Хоча кількість досліджених за геном *MBL1* порід великої рогатої худоби є невеликою, проте, деякі вчені повідомляли про зв'язок цього SNP із стійкістю до маститу (Phatsara et al, 2007; Kamaldeep et al, 2017). Таким чином, ген *MBL1* може бути потенційним маркером стійкості до запалення молочної залози.

Висновки. Дослідження було проведено на популяціях транскордонних та місцевих порід ВРХ України з метою ідентифікації маркера, пов'язаного з резистентністю тварин. Ми генотипували зареєстрований SNP g.2686T>C у вивчених популяціях за допомогою ПЛР-ПДРФ. Апробований ПЛР-ПДРФ-протокол для генотипування великої рогатої худоби за геном *MBL1* виявився дієвим підходом до визначення генотипної приналежності досліджуваних вибірок тварин. У результаті виконаного аналізу було виявлено, що вивчені популяції є поліморфними за геном манноза-зв'язуючого лектину – проявилися усі три можливі генотипи: *MBL1*^{TT}, *MBL1*^{TC} та *MBL1*^{CC}. Методом ДНК-діагностики визначені міжпородні особливості поліморфізму гену манноза-зв'язуючого лектину, частота алелів якого залежала від поро-

Таблиця 7. Частота генотипів гену манноза-зв'язуючого лектину (*MBL1*) в різних породах великої рогатої худоби

Порода	Частота генотипів, %			Посилання
	<i>TT</i>	<i>TC</i>	<i>CC</i>	
Китайські Голштини	7	65	28	Liu et al, 2011
LuxiYellow	0	43	57	Liu et al, 2011
BohaiBlack	8	58	34	Liu et al, 2011
LuxiYellow	0	53	47	Wang et al, 2011
Китайські Голштини	68	23	9	Zhao et al, 2012
Сахне	42	37	21	Yuan et al, 2013
Sahiwal	17	46	37	Kamaldeep et al, 2017
Південно-анатолійська червона худоба	41	48	11	Akseletal, 2019
Симетальська	14	46	40	Aksel et al, 2019
Швейцарська бура	20	51	29	Aksel et al, 2019
Сіра турецька	17	50	33	Aksel et al, 2019
Турецькі голштини	17	40	43	Aksel et al, 2021
Nariana	32	14	54	Baghel et al, 2022
Sahiwal	36	12	52	Baghel et al, 2022

ди: частота алеля *C* виявилася домінуючою порівняно з *T*-алелем *MBL1*, який в досліджених популяціях варіював від 0,27 до 0,47.

На основі даних, отриманих у цьому дослідженні, вважаємо, що слід провести аналіз і вивчити зв'язок між генотипами гену *MBL1* великої рогатої худоби та захворюваністю на мастит.

Дотримання етичних стандартів. Всі міжнародні, національні та/або інституційні принципи догляду та використання тварин були дотримані. Дослідження були схвалені Комісією з питань поводження з тваринами у наукових дослідженнях ІПГТ ім. М.В.Зубця (Протокол № 1 від 27 листопада 2023; с. Чубинське, Україна).

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність будь-яких конфліктів інтересів.

Фінансування. Це дослідження не отримувало будь-якого конкретного гранту від фінансуючих установ у державному, комерційному або некомерційному секторах.

POLYMORPHISM OF THE MANNANOSE-BINDING LECTIN (*MBL1*) GENE IN UKRAINIAN SMALL BREEDS AND TRANSBOUNDARY BREEDS OF CATTLE

N. Mokhnachova, O. Zhukorskiy

Institute of Animals Breeding and Genetics
nd. a. M.V. Zubets National Academy
of Agrarian Sciences of Ukraine
1, Pohrebniaka Str., Chubynske village,
Boryspil district, Kyiv region, 08321, Ukraine

E-mail: nataliia.mokhnachova82@gmail.com,
o_zhukorskiy@ukr.net

In recent years, the use of genetic methods in breeding practice to create a more disease-resistant herd of farm animals has increased. Especially noteworthy is the study of genes responsible for the immune status of the body, in particular, the mannose-binding lectin 1 (*MBL1*) gene. The frequencies of alleles and genotypes of the mannose-binding lectin 1 (*MBL1*) gene in small-numbered Ukrainian cattle breeds (Jersey, Ayrshire, Swiss, Lebedyn, and Carpathian Brown) were determined by PCR-RFLP-testing using the *HaeIII* restriction enzyme (polymorphism p.2569 T>C). The determination of T- and C-alleles of *MBL1* is of practical relevance since the mannose-binding lectin gene is a candidate for resistance markers to mastitis. The frequencies of the *MBL1* T-allele in the studied

breeds vary from 0.27 to 0.47, those of TC- genotypes — from 0.13 to 0.4, and of TT- genotypes — from 0.17 to 0.33. A shift in the genetic balance due to an excess of homozygotes was found in four breeds. The values of effective alleles at the *MBL1* locus in the studied breeds are under the threshold value, which indicates that the number of effective alleles in the populations for this locus is fewer than possible. The most polymorphic ($N_a = 1.993$) population of cows was that of the endangered Carpathian Brown breed. The highest degree of genetic variability realization was also registered in the Carpathian Brown breed ($V = 41.379$), grown and kept in the private sector of the mountainous area, and the lowest — in the Ayrshire breed ($V=13.236$), respectively. The estimation of genetic distances demonstrated that the Jersey and Lebedyn breeds were the closest, and the maximal genetic distance was recorded between animals of the Jersey and Carpathian Brown breeds. The analysis of the genetic structure of the studied cattle breeds in Ukraine demonstrated changes in the frequency of a genotype depending on the breed. The results obtained in this study contain important information that can be used in cattle breeding to achieve resistance to mastitis.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

- Aksel EG, Akçay A, Arslan K, Sohel MH, Güngör G, Akyüz B (2021) The effects of *MBL1* gene polymorphism on subclinical mastitis in holstein cows. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 27(3):389–395. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2021.25714>
- Aksel EG, Arslan K, Zdemir F, Aky ZB (2019) Investigation of *MBL-1* gene polymorphism in some cattle breeds raised in Turkey. *Mediterranean Agric Sci* 32(1):25–30. <https://doi.org/10.29136/mediterranean.457231>
- Asaf VNM, Bhushan B, Panigrahi M, Dewangan P, Kumar A, Kumar P, Gaur GK (2014) Association study of genetic variants at single nucleotide polymorphism rs109231409 of mannose-binding lectins 1 gene with mastitis susceptibility in Vrindavani crossbred cattle. *Veterinary World* 7(10):807–810. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2014.807-810>
- Baghel M, Sharma D, Singh SP, Tiwari M, Kumar A (2022) Single nucleotide polymorphisms in *MBL1* gene of cattle and their association with milk production traits and somatic cell score. *Indian J Anim Sci* 92(2):208–214. <https://doi.org/10.56093/ijans.v92i2.122095>
- Cadona JS, Hernandez LB, Lorenzo R, Bottini E, Bustamante AV, Sanso AM (2021) Draft genome sequence of *Streptococcus Agalactiae* TA B490, a multidrug-resistant strain isolated from bovine mastitis in Argentina. *Microbiology Resource Announcements* 10(5). <https://doi.org/10.1128/mra.01429-20>

- Dhundwal K, Pander B, Dalal D, Magotra A, Mittal D, Singh M, Malik A, Garg A (2019) Characterization and validation of point mutation in MBL1 gene and its relationship with mastitis in Murrah buffalo (*Bubalus bubalis*). *Buffalo Bulletin* 38(3):451–457
- Kamaldeep K, Magotra A, Pander B, Manjeet M, Malik BS, Dalal DS (2017) Identification of point mutation in Exon 2 of MBL1 gene and its relationship with Somatic Cell Score (SCS) in Sahiwal cattle. *Indian J Animal Res* 53(2):200–203. <https://doi.org/10.18805/ijar.B-3483>
- Kamaldeep D, Magotra A, Pander BL, Malik A, Garg AS, Dalal DS, Malik BS (2017b) Association of G.2686T>C mutation of MBL1 gene with reproduction traits in Sahiwal cattle. *Inter J Agricul Sci Res* 7(6):159–64
- Kamaldeep, Ankit Magotra, Pander BL, Dalal DS, Malik BS, Asha Rani Garg, Anika Malik (2021) Evaluation of candidate genotype of immune gene MBL1 associated with udder health and performance traits in dairy cattle and buffalo of India. *Tropical Animal Health and Production* 53:429. <https://doi.org/10.1007/s11250-021-02865-2>
- Liu J, Ju Z, Li Q, Huang J (2011) Mannose-binding lectin 1 haplotypes influence serum MBL-A concentration, complement activity, and milk production traits in Chinese Holstein cattle. *Immun Genet* 63(11):727–742
- Magotra A, Gupta ID, Archana V, Alex R, Vijay K, Vineeth MR, Ashwani A, Selvan AS (2016) Characterization and validation of point mutation in breast cancer 1 (BRCA1) and its relationship with mastitis traits in Sahiwal. *Inter J Recent Research in Interdisciplinary Sci* 3(1):22–26
- Mokhnachova NB (2018) Peculiarities of the genetic structure of Grey Ukrainian breed cattle by complex genotypes. *Anim Breed Genet* 55:235–242. <https://doi.org/10.31073/abg.55.32>
- Morales-Ubaldo AL, Rivero-Perez N, Valladares-Carranza B, Velázquez-Ordoñez V, Delgadillo-Ruiz L, Zaragoza-Bastida A (2023) Bovine mastitis, a worldwide impact disease: Prevalence, antimicrobial resistance, and viable alternative roaches. *Veterin Anim Sci* 21:100306. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2023.100306>
- Peakall R, Smouse PE (2012) GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics* 28:2537–2539
- Phatsara C, Jennen DGJ, K, Wimmers K (2007) Molecular genetic analysis of porcine mannose-binding lectin genes, *MBL1* and *MBL2*, and their association with complement activity. *Inter J Immunogenet* 34(1):55–63. <https://doi.org/10.1111/j.1744-313X.2007.00656.x>
- Sahana G, Guldbrandtsen B, Thomsen B, Holm LE, Panitaz F, Brondum RF, Benedixen C, Lund MS (2014) Genome-wide association study using high-density single nucleotide polymorphism arrays and whole-genome sequences for clinical mastitis traits in dairy cattle. *J Dairy Sci* 97:7258–7275. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8141>
- Tanamati F, Stafuzza NB, Gimenez DFJ, Stella AAS, Santos DJA, Ferro MIT, Albuquerque LG, Gasparino E, Tonhati H (2019) Differential expression of immune response genes associated with subclinical mastitis in dairy buffaloes. *Animal* 13(8):1651–1657. <https://doi.org/10.1017/s1751731118003324>
- Wang CF, Liu M, Li QL, Ju ZH, Huang JM, Li JB, Zhong JF (2011) Three novel single-nucleotide polymorphisms of MBL1 gene in Chinese native cattle and their associations with milk performance traits. *Vet Immunol Immunop* 139:229–236. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2010.10.023>
- Wang X, Ju Z, Huang J, Hou M, Zhou L, Qi C, Zhang Y, Gao Q, Pan Q, Li G, Zhong J, Wang C (2012) The relationship between the variants of the bovine MBL2 gene and milk production traits, mastitis, serum MBL-C levels and complement activity. *Veterin Immunol Immunopathol* 148:311–319. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2012.06.017>
- Yuan Z, Li J, Li J, Gao X, Xu S (2013) SNPs identification and its correlation analysis with milk somatic cell score in bovine MBL1 gene. *Mol Biol Rep* 40(1):7–12. <https://doi.org/10.1007/s11033-012-1934-z>
- Zhao ZL, Wang CF, Li QL, Ju ZH, Huang JM, Li JB, Zhong JF, Zhang JB (2012) Novel SNPs of the mannan binding lectin 2 gene and their association with production traits in Chinese Holsteins. *Genet Mol Res* 11(4):3744–3754. <https://doi.org/10.4238/2012.October.15.6>

Надійшла в редакцію 14.02.2024
Після доопрацювання 11.06.2024
Прийнята до друку 18.11.2024