

ВСТАНОВЛЕННЯ ЗВ'ЯЗКУ МІЖ СОМАТИЧНИМИ КЛІТИНАМИ МОЛОКА І ДНК-МАРКЕРАМИ У КОРІВ

Л. Строяновська, Т. Супрович

Заклад вищої освіти «Подільський державний аграрно-технічний університет»

Наведено результати дослідження алелів гена *BoLA-DRB3*, які мають асоціації із соматичними клітинами молока і можуть слугувати ДНК-маркерами фізіологічного стану молочної залози у корів. Алельний спектр гена *BoLA-DRB3* вивчали за допомогою ПЛР-ПДРФ. Для встановлення зв'язку між соматичними клітинами молока та частотами алелів використано показник відносного ризику та тест χ^2 . Всього знайдено 7 алелів, що мають вагомому частку в дослідній вибірці, тобто їх частка перевищує 5% від загального обсягу. Найбільш поширеним був алель *BoLA-DRB3.2*24* з $P(A) = 0,181$. Репертуар найбільш поширених варіантів характерний для голштинської породи. За величиною відносного ризику вагоми асоціації виявлено у 9 алелів, з яких 5 вказують на зв'язок з низьким рівнем SCC (*04, *07, *11, *28, *48) і 4 – з високим вмістом соматичних клітин (*10, *12, *23 і *51). Серед виявлених варіантів вагомих асоціацій лише алель *BoLA-DRB3*22* мав достовірну асоціацію за критерієм χ^2 . Він також витримує перевірку за тест χ^2 тип на обмежений розмір вибірки, що дає можливість рекомендувати його у якості ДНК-маркера.

Ключові слова: соматичні клітини молока, мастит, ген *BoLA-DRB3*, алелі.

Постановка проблеми. Соматичні клітини (SCC) постійно присутні в молоці; до них належать 75% лейкоцитів, тобто нейтрофілів, макрофагів і лімфоцитів, еритроцитів та 25% епітеліальних клітин. Їх висока концентрація є ознакою порушення секреції молока або захворювань. Тому рівень SCC є санітарним показником як якості сирого збираного молока, так і захворювання тварини. Нормальне коров'яче молоко має регулярний рівень SCC 100-150 тис. клітин/мл. Значення SCC, що перевищує 200 тис/см³ свідчить про 60% ймовірність запалення в одній або декількох чвертях молочної залози. Підвищення вмісту соматичних клітин понад 200 000 в 1 мл молока вказує на інфікування вим'я інфекційним агентом [1, 2, 3, 4, 5].

Генетична кореляція між SCC і бактеріальною інфекцією оцінюється близькою до одиниці, що свідчить про те, що соматичні клітини і субклінічні інфекції є по суті однією ознакою. В зв'язку з цим, кількість соматичних клітин дослідниками розглядається як фізіологічний показник здоров'я молочної залози [6].

Дослідження, які проводяться в багатьох країнах світу, свідчать, що однією з вагомих причин інтрамамарної інфекції корів та основним фактором маститорезистентності серед безлічі інших, є генетична детермінованість цієї ознаки. Цим обумовлений інтерес до ДНК-маркерів, застосування яких дозволяє проводити оцінку схильності до маститу у тварин будь-якого віку. До таких маркерів у великої рогатої худоби належить ген *BoLA-DRB3*, що кодує молекули класу II головного комплексу гістосумісності (ГКГ). Молекули ГКГ виконують роль своєрідних «антен», які дозволяють організму, розпізнавати власні та чужорідні клітини (бактерії, віруси, ракові клітини) і, при необхідності, запустити імунну відповідь, забезпечуючи утворення специфічних антитіл і видалення чужорідного агента з організму [7, 8, 9].

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Існує величезна кількість доказів, які вказують на те, що соматичні клітини відіграють захисну протиінфекційну роль у молочних залозах корів як частина фізіологічного протекторного механізму [10].

Зважаючи на те, що ген *BoLA-DRB3* відповідає за формування імунної відповіді на чужорідні патогени, ряд авторів спробували встановити зв'язок між алелями та генотипами цього гену та вмістом соматичних клітин в молоці корів. Проведені раніше дослідження з метою виявлення асоціацій між алелями *BoLA-DRB3* і вмістом соматичних клітин мають досить неоднозначний характер.

В одному з найперших і наймасштабніших досліджень (всього вивчено зразки крові та молока від 1100 голштинських корів з різних ферм США) для виявлення асоціацій алелів гена

BoLA-DRB3 з маститом було встановлено, що алель DRB3*16 тісно пов'язаний з підвищеним ризиком розвитку захворювання вим'я для корів та гострим проявом інтрамамарної інфекції, яка визначалася за високим рівнем SCC. Даний алель виявлявся в генотипі всіх 258 корів з діагнозом гострий мастит. Також встановлено, що алель DRB3*08 був тісно пов'язаний з підвищеним SCC у корів першої лактації, а алель DRB3*23 – з високим SCC у корів після другої лактації [11].

Результати дослідження Pashmi et al. вказують на суттєвий зв'язок між підвищеним рівнем SCC, що відображає зростання ймовірності виникнення субклінічного маститу і алелем DRB3*08 для іранських голштинів [12].

Значні зв'язки між поліморфізмом гена BoLA-DRB3 і SCC були показані Oprzadek et al. На їх думку присутність алеля *16 пов'язано зі збільшенням кількості соматичних клітин, тоді як алель *22 був асоційований з низькими значеннями SCC. Крім того, алелі *11, *12 і *23 вказують на стійкість до клінічного маститу [13].

Суперечливі результати були представлені Sharif et al. [14] і Sender et al. [15], які виявили, що алель *16 був пов'язаний з більш низьким рівнем SCC у молоці, а алель *23 з підвищеним SCC та сприйнятливістю до маститу.

Zanotti et al. повідомили, що за допомогою регресійного аналізу, враховуючи поліморфізм DRB3, алелі *08 показали значний негативний ефект, а алель *16 значний позитивний вплив на параметр SCC [16].

Серед 25 BoLA-DRB3 алелів виявлених в китайських голштинах південного Китаю на основі GLM SCC (General Linear Model) вказується на чотири (*03, *08, *18 і *26), які були пов'язані з більш низьким SCC [17].

Baltian et al. у досліджуваній популяції голштинів значний зв'язок був відзначений з алелем BoLA-DRB3*23 і *27 з захисним і сприйнятливим ефектом відповідно. Крім того, алелі BoLA-DRB3*20 і *25 продемонстрували зв'язок з високим SCC [18].

Аналіз показує великі розбіжності між результатами, що зв'язують різні алелі BoLA-DRB3 з SCC, отриманими для різних порід і навіть в межах однієї породи.

Розбіжність результатів пояснюються різними причинами і в першу чергу, різноманітністю епізоотичних штамів мікроорганізмів, що обумовлюють запалення молочної залози.

Мета роботи полягала у виявленні можливості оцінити придатність поліморфізму гена BoLA-DRB3 до визначення достовірних зв'язків в системі «алель - SCC».

Матеріали і методи дослідження. Виробничі досліди проводилися у фермерському господарстві «Подільська марка» с. Дем'янківці Кам'янець-Подільського району Хмельницької області. В господарстві на вихідному маточному поголів'ї української чорно-рябої молочної породи використовувалися бугаї голштинської породи.

Визначення кількості соматичних клітин в молоці проводилося на аналізаторі молока АМВ-1-02.

Експериментальні дослідження проводили спільно із лабораторією генетики інституту розведення і генетики ім. М.В. Зубця.

Виділення ДНК проводили з використанням наборів «DIAtomTMNAPRep 200» фірми ТОВ «Лабораторія Ізоген» згідно з вимогами виробника.

Для визначення алелів гена BoLA-DRB3 використано рестрикційний аналіз продуктів ампліфікації (ПЛР-ПДРФ) другого екзона. Ампліфікацію фрагмента проводили в два етапи з використанням набору «GenePakTM PCR Core». Для першого раунду використано праймери HLO-30 і HLO-31, для другого раунду – HLO-30 і HLO-32. Характеристика праймерів:

HLO-30 (5'-3': TCCTCTCTGTCAGCACATTTCC);

HLO-31 (5'-3': ATTCGCGCTCACCTCGCCGCT),

HLO-32 (5'-3': TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC).

Рестрикційний аналіз продуктів ампліфікації проводили з використанням ендонуклеаз RsaI, HaeIII і BstYI (XhoII). Продукти реакції розділяли за допомогою електрофорезу в 9% поліакриламідному гелі (ТВЕ: 0,089 М борна кислота, 0,002 М ЕДТА рН 8,0). Електрофорез поліакриламідного гелю проводили у вертикальній камері 10-12 годин при 80V. Фарбування гелів здійснювались за допомогою бромистого етидію (0,5 мкг/мл) протягом 10 хв. з наступною

їх багаторазовою відмивкою у дистильованій воді. Візуалізація фрагментів ДНК проводилась в УФ світлі на транслюмінаторі при довжині хвилі 280 нм. Для оцінки довжини фрагментів використовували маркер молекулярних ваг «GeneRuler™ Ultra Low Range DNA Ladder» фірми «Fermentas», Латвія. Результатом були електрофореграми (рис.1), які піддавалися аналізу.

Сила асоціативного зв'язку визначалася на основі відносного ризику. Ступінь відносного ризику захворюваності (RR – relatively risk) визначає ймовірність розвитку захворювання в тварин, які мають відповідний алель в порівнянні з тваринами, у яких він відсутній. Якщо значення $RR \leq 0,5$, то наявність алеля в генотипі тварини вказує на тісний зв'язок з резистентністю до хвороби. У цьому випадку, для виділення позитивної асоціації, значення відносного ризику визначається як $1/RR$ з протилежним знаком.

Достовірність відносного ризику оцінювали за критерієм χ^2 для двох альтернатив: *високий рівень SCC* ↔ *низький рівень SCC* та алель: *присутній* ↔ *відсутній* при $dF = 1$ та довірчого інтервалу $CI = 0,95$.

При відхиленні від допустимих меж достовірності для вирішення питання про можливість включення алелів до числа ДНК-маркерів проведено перевірку за точним одностороннім критерієм Фішера [19] з контролем сили асоціації за коефіцієнтом спряженості (сполученості) Пірсона [20].

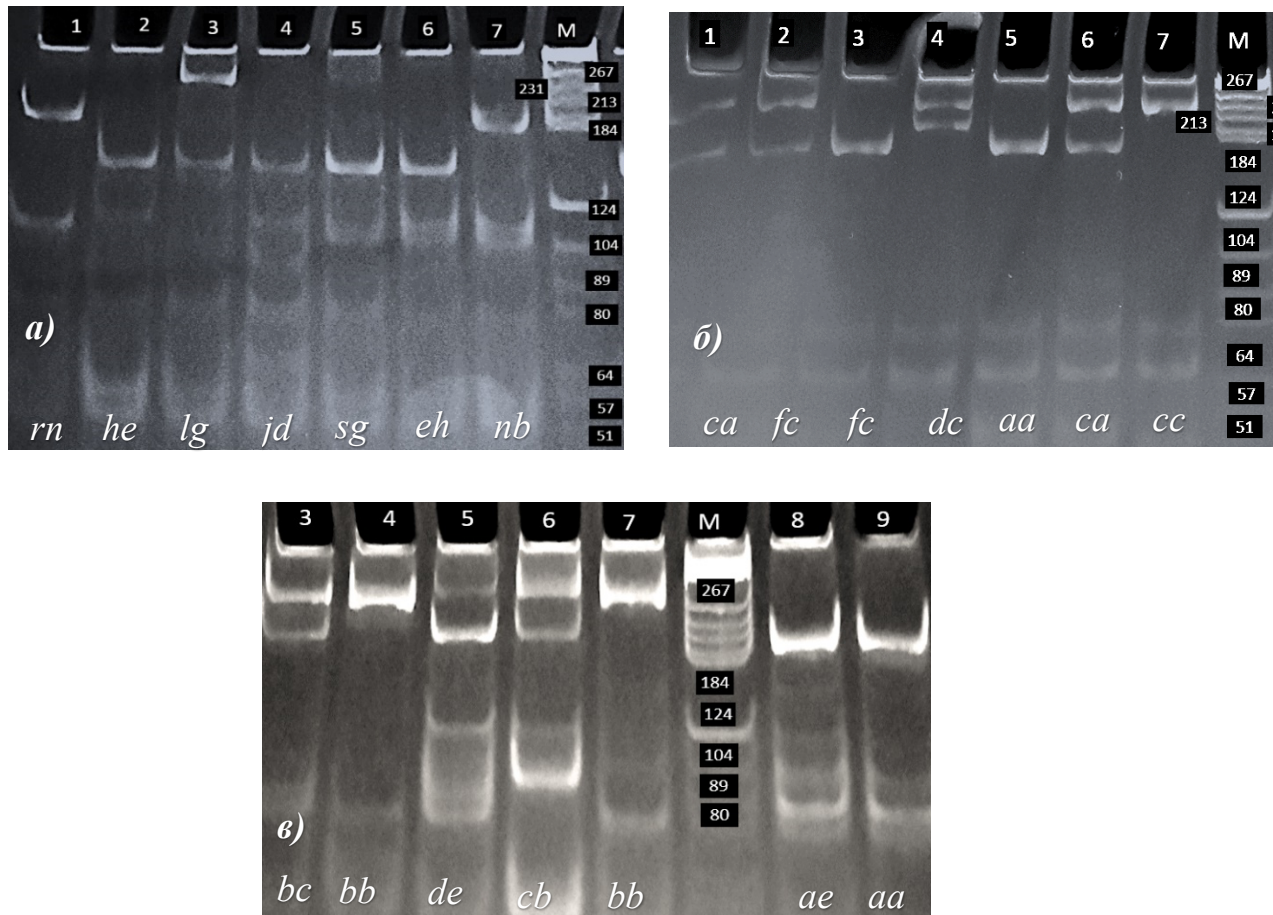


Рис.1. Фрагменти електрофореграм продуктів ампліфікації ексона 2 гена BoLA-DRB3, отриманих на ДНК корів української чорно-рябої молочної породи з використанням ендонуклеаз *RsaI* (а), *HaeIII* (б) і *XhoII* (в); М - маркер молекулярних мас рBR322 DNA/BsuRI; зверху вказано номери зразків крові, знизу – варіанти ДНК-патернів

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами проведених досліджень у 91 корови було відібрано проби крові для визначення алелів гена BoLA-DRB3. При цьому, 25 проб крові відібрано у корів, кількість соматичних клітин молока у яких була менше 100 тис. клітин/см³, а 66 проб – у тварин у яких SCC перевищувала 500 тис. клітин/см³.

Дозвіл на використання тварин затверджено Вченою радою ЗВО ПДУ у відповідності з Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей.

В результаті типування 91 зразка крові виявлено 26 алелів. Результати дослідження та розрахунків по групам корів з високим і низьким рівнем SCC та в загальній вибірці показано в таблицях 1 і 2.

В групі тварин з низьким рівнем соматичних клітин в молоці виявлено 21 алель DRB3.2. Найчастіше виявлявся алель *07 та *28 з частотою $P(A) = 0,1$. Зовсім не зустрічалися алелі DRB3.2*14, *19, *31 та *51. В групі корів з високим показником соматичних клітин молока виявлено 26 алелів DRB3.2. Найчастіше виявлявся алель *24 ($P(A) = 0,167$) та *22 ($P(A) = 0,114$). Найрідше виявлявся алель *11, *42 і *51 ($P(A) = 0,008$).

Таблиця 1. Поширення алелів в групах корів з високим (↑) і низьким рівнем соматичних клітин (↓)

Алелі BoLA-DRB3.2	Частота, $P(A)$		Алелі BoLA-DRB3.2	Частота, $P(A)$	
	SCC↓	SCC↑		SCC↓	SCC↑
*01	0,02	0,015	*21	0,02	0,015
*03	0,06	0,045	*22	0,02	0,114
*04	0,04	0,015	*23	0,02	0,061
*07	0,1	0,045	*24	0,22	0,167
*08	0,04	0,061	*26	0,02	0,03
*10	0,04	0,076	*28	0,1	0,053
*11	0,02	0,008	*31	-	0,015
*12	0,02	0,015	*32	0,02	0,03
*13	0,04	0,03	*36	0,02	0,023
*14	-	0,015	*37	0,04	0,023
*15	0,02	0,015	*42	-	0,008
*16	0,08	0,068	*48	0,04	0,008
*19	-	0,015	*51	-	0,03

Всього знайдено 7 алелів, що мають вагому частку в дослідній вибірці, тобто їх частка перевищує 5% від загального обсягу. Найбільш поширеним був алель BoLA-DRB3.2*24 з $P(A) = 0,181$. Репертуар найбільш поширених варіантів характерний для голштинської породи [21].

За величиною відносного ризику вагомі асоціації виявлено у 9 алелів, з яких 5 вказують на зв'язок з низьким рівнем SCC (*04, *07, *11, *28, *48) і 4 – з високим вмістом соматичних клітин (*10, *12, *23 і *51).

Значення RR для алеля *51 розраховано з поправкою Woolf-Haldane, тому що в дослідній вибірці серед відібраних зразків крові не виявлено варіантів з низьким рівнем SCC. Тому в наступному аналізі даний алель може розглядатися як кандидат в ДНК-маркери лише після додаткових досліджень при розширенні дослідної вибірки.

Серед виявлених варіантів вагомих асоціацій лише алель BoLA-DRB3*22 мав достовірну асоціацію за критерієм χ^2 . Він також витримує перевірку за тест χ^2_{min} на обмежений розмір вибірки, що дає можливість рекомендувати його у якості ДНК-маркера.

Серед інших варіантів необхідно звернути увагу на алелі *07, *28 і *48, які мають позитивний зв'язок щодо низького рівня SCC та *10 і *23, які характеризуються сильними асоціаціями щодо високого рівня соматичних клітин але не витримують перевірки за загальним та обмеженим тестами щодо достовірності досліджень.

Для перевірки сили асоціації та можливості використання цих алелів в якості ДНК-маркерів проведено додаткову дослідження перевірку за точним коефіцієнтом Фішера з

контролем за коефіцієнтом спряженості Пірсона. Для всіх варіантів отримано значення $P > 0,05$ з низькою вагомістю сили зв'язку за коефіцієнтом Пірсона, що в межах проведеного дослідження не дозволяє рекомендувати вказані алелі роль маркерів.

Алель *22 як маркер здоров'я молочної залози в дослідженій нами популяції за літературними даними також асоціюється з низьким значенням соматичних клітин молока в популяції корів польських голштинів [13].

Таблиця 2. Результати виявлення алелів BoLA-DRB3 асоційованих з SCC

Алелі BoLA-DRB3.2	Частота, $P(A)$	χ^2	Відносний ризик, RR	Стандартна похибка, SE	Тест χ^2_{\min} на обмежений розмір вибірки			
					$\frac{(a+b)(a+c)}{N}$	$\frac{(a+b)(a+c)}{N}$	$\frac{(a+b)(a+c)}{N}$	$\frac{(a+b)(a+c)}{N}$
*01	0,017	0,053	0,633	0,009	2,18	0,86	63,8	24,2
*03	0,05	0,17	0,733	0,016	6,53	2,77	59,5	22,5
*04	0,022	1,07	-2,78	0,011	2,9	1,10	63,1	23,9
*07	0,06	2,03	-2,5	0,018	7,98	3,14	58,0	22,0
*08	0,055	0,315	1,57	0,017	7,25	3,41	58,7	22,3
*10	0,066	0,81	2,05	0,018	8,7	4,35	57,3	21,7
*11	0,011	0,521	-2,71	0,008	1,45	0,55	64,5	24,5
*12	0,017	0,053	0,75	0,009	2,18	0,86	63,8	24,2
*13	0,033	0,111	0,742	0,013	4,35	1,78	61,6	23,4
*14	0,011	0,775	1,98	0,008	1,45	0,59	64,5	24,5
*15	0,017	0,053	0,633	0,009	2,18	0,86	63,8	24,2
*16	0,071	0,083	0,829	0,019	9,43	4,29	56,6	21,4
*19	0,011	0,775	1,98	0,008	1,45	0,59	64,5	24,5
*21	0,017	0,053	0,633	0,009	2,18	0,86	63,8	24,2
22	0,088	4,39	7,06	0,021	11,6	6,86	54,4	20,6
*23	0,05	1,34	2,37	0,016	6,53	3,16	59,5	22,5
*24	0,181	0,893	0,636	0,029	23,9	13,1	42,1	15,9
*26	0,028	0,148	1,55	0,012	3,63	1,54	62,4	23,6
*28	0,066	1,4	-2,11	0,018	8,7	3,56	57,3	21,7
*31	0,011	0,775	1,98	0,008	1,45	0,59	64,5	24,5
*32	0,028	0,148	1,18	0,012	3,63	1,54	62,4	23,6
*36	0,022	0,013	1,14	0,011	2,9	1,19	63,1	23,9
*37	0,028	0,417	0,548	0,012	3,63	1,43	62,4	23,6
*42	0,006	0,383	1,17	0,005	0,73	0,29	65,3	24,7
*48	0,017	2,39	-4,65	0,009	2,18	0,79	63,8	24,2
*51	0,022	1,59	3,67	0,011	2,9	1,27	63,1	23,9

Примітка. * $P < 0,05$

На сьогодні застосування генетичних маркерів пов'язаних з вмістом соматичних клітин в молоці корів з наступною кореляцією щодо стійкості чи сприйнятливості до маститів можливе лише в межах певних популяцій, для яких встановлено статистично значимий зв'язок між алелями гена BoLA-DRB3 та SCC.

Висновки і перспективи. У досліджуваній популяції тварин виявлено достовірний зв'язок між алелем BoLA-DRB3*22 та низьким рівнем соматичних клітин в молоці корів, що дає можливість використовувати цей алель як ДНК-маркер здоров'я молочної залози.

Наступні дослідження полягають у розширенні дослідної вибірки корів. Це дозволить не тільки уточнити асоціації між кількістю соматичних клітин та алелями гена BoLA-DRB3, але й перейти до виявлення асоціацій в системі «генотип – SCC». Необхідно розробити науково-методичні підходи для вирішення більш складних асоціацій в системі «генотип – SCC – мастити».

Список використаних джерел

1. Собко Г. В., Брода Н. А., Віщур О. І., Куртяк Б. М. Вплив препарату «Антимаст» на стан системи антиоксидантного захисту у корів, хворих на субклінічну форму маститу. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. Серія: Ветеринарні науки. 2016. Т. 18. № 1 (1). С. 158–163.
2. Касянчук В. В., Бергілевич О. М., Скляр О. І., Марченко А. М., Терьохіна О. В. Взаємозв'язок між кількістю соматичних клітин та захворюванням корів субклінічним маститом стафілококової та коліформної етіології. *Вісник Сумського національного аграрного університету*. Серія: Ветеринарна медицина. 2015. Вип. 1. С. 72-77.
3. Паневник В. В., Супрович Т. М. Етіологічні чинники маститу корів української чорно-рябої молочної породи. *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького*. Серія: Ветеринарні науки. 2016. Т. 18. № 3. С. 191-195.
4. Reshi A.A., Husain I., Bhat S.A., Rehman M.U., Razak R, Bilal S., Mir M.R. Bovine mastitis as an evolving disease and its impact on the dairy industry. *International Journal of Current Research and Review*, 2015, vol. 7(5), pp. 48–55.
5. Suprovych T.M. Vishchur O. I., Chepurnal V. A. Relationship between alleles of gene BoLA-DRB3 and somatic cells amount in milk of Ukrainian black-and-white dairy breed. *The Animal Biology*, 2019, V.21 (4). Doi:10. 15407/ animbio 121.04. 075 P.75-83.
6. Weller J.I., Saran A., Zeliger Y. Genetic and environmental relationships among somatic cell count, bacterial infection, and clinical mastitis. *Journal Dairy Science*, 1992, vol. 75, pp. 2532–2540. DOI: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(92\)78015-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(92)78015-1).
7. Ghodke Y., Joshi K., Chopra A., Patwardhan B. HLA and disease. *European Journal of Epidemiology*. 2005. V.20(6). Pp. 475-488.
8. Hagnestam C., Emanuelson U., Berglund B. Yield losses associated with clinical mastitis occurring in different weeks of lactation. *Journal of Dairy Science*. 2007.V.90 (5). Pp. 2260-2270.
9. Sender G., Galal K., Hameid K. Et al. Association of the BoLA-DRB3 alleles with estimated breeding value for somatic cell count in Polish dairy cattle. *Archiv fur tierzucht*. 2008. V. 51. № 2. Pp.111-119.
10. Souza, Fernando N. Et al. Somatic cell count and mastitis pathogen detection in composite and single or duplicate quarter milk samples. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2016, v.36, n.09, pp.811-818. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X201600 0900004>.
11. Dietz A.B., Detilleux J.C., Freeman, A.E., Kelley D.H., Stabel J.R., Kehrli M.E. Genetic association of bovine lymphocyte antigen DRB3 alleles with immunological traits in Holstein cattle. *Journal of Dairy Science*, 1997, vol. 80(2), pp. 400–405. DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(97)75950-2.
12. Pashmi M., Qanbari S., Ghorashi S.A., Sharif A.R.,Simianer H. Analysis of relationship between bovine lymphocyte antigen DRB3.2 alleles; somatic cell count and milk traits in Iranian Holstein population. *Journal of Animal Breeding and Genetics*, 2009, vol. 126, pp. 296–303. DOI:10.1111/j.1439-0388.2008.00783.x.
13. Oprzadek J.M., Brzozowska A.M., Urtnowski P., Rutkowska K., Lukaszewicz M. Association

of BoLA-DRB3 genotype with somatic cell count in milk of Polish Holstein cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 2018, vol. 47, e20150290. DOI: 10.1590/rbz4720150290.

14. Sharif S., Mallard B.A., Wilkie B N., Sargeant J.M., Scott H.M., Dekkers J.C., Leslie K.E. Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with occurrence of disease and milk somatic cell score in Canadian dairy cattle. *Animal Genetics*, 1998. Vol. 29, pp. 185-193. DOI: 10.1046/j. 1365-2052.1998.00318.x.

15. Sender G., Hameed K.G.A., Korwin-Kossakowska A., Sobczyńska M. Association of the BoLA-DRB3 alleles with estimated breeding value for somatic cell count in Polish dairy cattle. *Archiv für Tierzucht*, 2008, vol. 51(2), pp. 111–119. DOI: 10.5194/aab-51-111-2008.

16. Zanotti M., Strillacci M.G., Taboni I., Samorè A.B., Longeri M. Histocompatibility genes and Somatic Cell Count (SCC) in Italian Holstein Friesian. *Italian Journal of Animal Science*, 2003, vol. 2 (1), pp. 85-87. DOI: 10.4081/ijas.2003. 11675923.

17. Xiu-Xiang Wu, Zhang-Ping Yang, Xiao-Long Wang, Yong-Jiang Mao, Shu-Chun Li, Xue-Kui Shi, Ying. Chen Restriction fragment length polymorphism in the exon 2 of the BoLA-DRB3 gene in Chinese Holstein of the south China. *Journal of Biomedical Science and Engineering*, 2010, vol. 3(2), pp. 221–225. DOI: 10.4236/jbise.2010.32030.

18. Baltian L.R., Ripoli M.V., Sanfilippo S., Takeshima S.N., Aida Y., Giovambattista G. Association between BoLA-DRB3 and somatic cell count in Holstein cattle from Argentina. *Molecular Biology Reports*, 2012, vol. 39, pp. 7215–7220. DOI: 10.1007/s11033-012-1526-y.

19. Lydersen S., Fagerland M.W., Laake, P. Recommended tests for association in 2×2 tables. *Statistics in Medicine*. 2009. №28. P.1159-1175. <https://doi.org/10.1002/sim.3531>.

20. Basic Concepts of Correlation: URL: <http://www.real-statistics.com/correlation/basic-concepts-correlation/> (дата звернення 20.02.2022).

21. Suprovych T., Dyman T., Suprovych M., Karchevska T., Koval T., Kolodiy V. Population genetic structure of the Ukrainian black-pied dairy breed with the genome BoLA-DRB3. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, 2018, vol.9, no.4, pp. 568-577. doi:10.15421/021885.

ESTABLISHMENT OF LINKS BETWEEN MILK SOMATIC CELLS AND DNA MARKERS IN COWS

L. Strojnovska, T. Suprovych

The results of research of BOLA-DRB3 gene alleles, which have association with somatic milk cells and can serve as DNA markers of the physiological condition of the udder in cows, are presented. The allele spectrum of the gene BOLA-DRB3 was studied with the help of PCR-RFLP. To establish the connection between somatic milk cells and allele frequencies, the relative risk indicator and the χ^2 test were used. In total, 7 alleles with a significant share in the sample, i.e. their share exceeds 5% of the total volume, were found. The most common was BOLA-DRB3.2*24 c $R(A) = 0.181$. The repertoire of the most common alleles is characteristic of the Holstein breed. Relative risk weight associations were found in 9 alleles, 5 of which indicate a connection with low SCC levels (*04, *07, *11, *28, *48) and 4 with high somatic cell content (*10, *12, *23 and *51). Among the identified variants, only the BOLA-DRB3*22 allele had a reliable association according to the criterion χ^2 . It also survives the test χ^2_{min} for a limited sample size, which allows it to be recommended as a DNA marker.

Keywords: somatic count cells, mastitis, BoLA-DRB3 gene, alleles