

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГЕНОМА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА СЕРОЙ УКРАИНСКОЙ ПОРОДЫ ПО ЦИТО- И ДНК-МАРКЕРАМ

**К. В. КОПЫЛОВ, Л. Ф. СТАРОДУБ,
Н. Б. МОХНАЧЕВА, Н. П. СУПРОВИЧ**

*Институт разведения и генетики животных имени М. В. Зубца
Национальной академии аграрных наук Украины
с. Чубинское, Украина, 08321*

*Подольский государственный аграрно-технологический университет
г. Каменец-Подольский, Украина, 32301*

(Поступила в редакцию 30.01.2019)

У исследованных коров серой украинской породы выявлено отсутствие полиплоидного набора хромосом в клетках периферийной крови и уменьшения клеток с анеуплоидией в 2 раза сравнительно с животными пород молочного и комбинированного направления производительности и в 8,8 раз меньше сравнительно с животными пород мясного направления производительности.

Уровень разрывов хромосом у исследованного серого украинского скота равнялся 1,5 %, что в 4 раза ниже верхнего предела спонтанной хромосомной изменчивости, выявленной у исследованных животных пород трех направлений производительности со статистически достоверной разницей ($P > 0,999$). У коров серой украинской породы часть двуядерных лимфоцитов (2,2 %), в 2 раза более низкая сравнительно с вышеописанными животными, а митотическая активность лимфоцитов периферийной крови (2,8 %) достоверно ниже ($P > 0,99$), чем у исследованных групп других отмеченных пород. Кариотип исследованных коров серой украинской породы характеризуется большей стабильностью сравнительно с животными пород молочного, комбинированного и мясного направлений производительности при спонтанном мутагенезе, который является свидетельством наличия уникального генетически-детерминированного механизма высокой репарации и адаптивной стойкости к неблагоприятным факторам окружающей среды.

Ключевые слова: геном, крупный рогатый скот, серая украинская порода.

The studied cows of the gray Ukrainian breed revealed the absence of a polyploid set of chromosomes in peripheral blood cells and a decrease in cells with aneuploidy by 2 times compared with animal breeds of the dairy and combined direction of productivity and 8.8 times less compared with animals of a kind of meat performance directions.

The level of chromosome breaks in the studied gray Ukrainian cattle was 1.5%, which is 4 times lower than the upper limit of spontaneous chromosome variability found in the studied animals of breeds of three productivity directions with a statistically significant difference ($P > 0.999$). In Ukrainian gray cows, part of binuclear lymphocytes (2.2%) is 2 times lower compared to the animals described above, and the mitotic activity of peripheral blood lymphocytes (2.8%) is significantly lower ($P > 0.99$) than the studied groups of other marked breeds. The karyotype of the studied cows of the gray Ukrainian breed is characterized by greater stability compared with animal breeds of the dairy, combined and meat areas of productivity with spontaneous mutagenesis, which is evidence of the presence of a unique genetically determined mechanism of high reparation and adaptive resistance to unfavorable environmental factors.

Key words: genome, cattle, gray Ukrainian breed.

Введение. На сегодняшний день проблема сохранения аборигенных и местных пород домашних животных рассматривается мировым сообществом как одно из важных направлений в деле сохранения его культурного и природного наследия. Изучение генофонда местных (аборигенных) пород крупного рогатого скота интересно в плане оригинальности генетической структуры и выявления полигенов, которые отвечают за высокие адаптивные качества животных. При этом, по мнению экспертов Мировой продовольственной организации ООН (FAO), основное препятствие при разработке программ по сохранению пород животных – это недостаток информации о генетической структуре популяций, потому что статус риска, который основывается на численности поголовья, не может отобразить всей картины разрушения генофонда [1].

Отечественные аборигенные породы практически не исследованы на молекулярно-генетическом уровне с использованием современных ДНК-технологий, которые в полном объеме помогают оценить уникальность породного разнообразия Украины. В нашей стране таким признан генофонд серой украинской породы крупного рогатого скота. Это очень древняя по происхождению порода, поскольку она сохранила черты своего дикого предка – европейского тура. Создана многовековой народной селекцией, в прошлом очень распространена по значительной части страны. Серая украинская порода отыграла ключевую роль в создании новых пород и типов. Она нужна как потенциальный источник генетического материала, который может использоваться в будущих селекционных программах [2].

Среди всех пород крупного рогатого скота генетический потенциал серой украинской породы изучен очень мало, поэтому достаточно актуален анализ её кариотипической изменчивости.

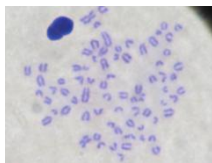
В качестве тест-системы для изучения генетического разнообразия серой украинской породы КРС использован аллельный полиморфизм гена BoLA-DRB3 как главного комплекса гистосовместимости, который участвует в формировании иммунного ответа организма на вирусные и бактериальные инфекции. Ген BoLA-DRB3 имеет высокий уровень полиморфизма, поэтому его используют в качестве высокоинформативного маркера для изучения генетического разнообразия пород крупного рогатого скота. В то же время генетическая характеристика пород сельскохозяйственных животных по главному комплексу гистосовместимости актуальна для решения проблем биоразнообразия и устойчивости к заболеваниям.

Целью работы было проведение цитогенетического анализа серого украинского скота, сравнение стабильности его кариотипа с ретроспективными данными относительно животных КРС пород разных по продуктивности и изучению особенностей распределения аллелей и генотипов гена BoLA-DRB3 у серой украинской породы крупного рогатого скота.

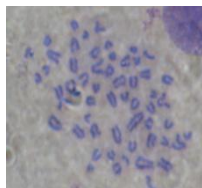
Материалы и методы исследований. Цитогенетический анализ проводили у 30 голов серой украинской породы опытного хозяйства «Маркеево» Института животноводства степных районов имени М. Ф. Иванова «Аскания-Нова» НААН Укрины. Все животные находились в условиях, которые отвечали нормам кормления, зоогигиеническим и ветеринарно-санитарным требованиям.

Для сравнительной оценки цитогенетических исследований, осуществленных нами, был проведен ретроспективный анализ кариотипического мониторинга животных крупного рогатого скота молочных пород (голландская черно-пестрой масти – 15 гол., украинская черно-пестрая молочная – 15 гол.); комбинированного (симментальская – 30 гол.); мясного направления (полесская мясная – 15 гол., шароле – 10 гол., абердин-ангусская – 10 гол., южная мясная – 10 гол.) [3].

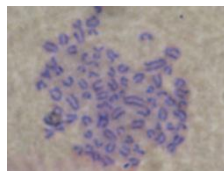
Цитогенетические препараты готовили согласно стандартной методике [4]. У животных определяли геномные мутации, связанные с изменением числа хромосом у кариотипе (% метафазных пластинок с анеуплоидией (А), полиплоидией (ПП), а также структурные нарушения (хромосомные и хроматидные разрывы). У каждого животного анализировали 100 метафазных пластинок. На этих же препаратах подсчитывали количество двуядерных лимфоцитов (ДЯ), одноядерных лимфоцитов с микроядрами (МЯ), митотический индекс (МИ). Частоту ДЯ, МЯ, МИ высчитывали в промилле (количество на 1000 клеток) (рис.1).



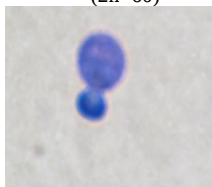
а) кариотип крупного рогатого скота серой украинской породы в норме (2n=60)



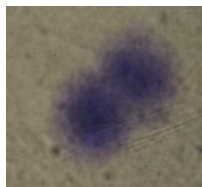
б) метафазная пластинка с анеуплоидией (2n=57)



в) структурные нарушения (хромосомный разрыв)



г) лимфоцит с микроядром



д) двуядерный лимфоцит



г) структурные нарушения (хроматидный разрыв)

Рис. 1. Цитогенетические препараты

Молекулярно-генетические исследования проводились на образцах

крови (n=72) от коров серой украинской породы с опытного хозяйства «Маркеево» Института животноводства степных районов имени М. Ф. Иванова «Аскания-Нова» НААН Укрины. Выделение ДНК из цельной крови проводили с использованием стандартного коммерческого набора «ДНК-сорб-Б» (производство АмплиСенс, ЦНИИ эпидемиологии РФ, Россия). Амплификацию фрагмента экзона 2 гена BoLA-DRB3 проводили в два этапа с использованием праймеров:

HLO-30(5'-3':TCCTCTCTCTGCAGCACATTTC),

HLO-31(5'-3':ATTTCGCGCTCACCTCGCCGCT)

HLO-32(5'-3': TCGCCGCTGCACAGTGAAACTCTC) [6, 7].

Для рестрикционного анализа продуктов амплификации использовали эндонуклеазы RsaI, HaeIII и BstYI (XhoII) при оптимальных для каждого фермента условиях. Электрофорез проводили в 6 %-м или 9 %-м полиакриламидном геле в трисборатном буфере. Визуализацию выполняли на трансиллюминаторе в УФ свете при длине волн 380 нм после окрашивания геля этидием бромидом. Размеры полученных в ПЦР или в результате рестрикции продуктов выявляли с помощью маркера молекулярных масс – 10_bp_LowRange_Ladder_GeneON, «Fermentas». Детекцию рестрикционных фрагментов проводили фотографированием геля цифровой камерой (рис. 2).



Рис. 2. Электрофореграммы продуктов амплификации экзона 2 гена BoLA-DRB3, полученных на ДНК коров серой украинской породы при помощи различных эндонуклеаз: М – маркер молекулярной массы, 1,2,3,4 ... 18 – порядковый номер исследованных животных

Для оценки длин фрагментов использован маркер молекулярных масс 10_bp_LowRange_Ladder_GeneON, «Fermentas», Литва. Снизу указаны варианты ДНК-паттернов.

Индекс Шеннона-Винера для количественной оценки аллельного разнообразия породы рассчитывается по формуле [7]:

$$H' = - \sum_{i=1}^n p_i \times \ln p_i ,$$

где $p_1, p_2, \dots, p_n$ – частоты аллелей.

Результаты, полученные в экспериментальных исследованиях, об-

рабатывали методом популяционно-генетического и биометрического анализа с использованием «GENAlex 6», «Statistica» [6].

Результаты исследований и их обсуждение. Серая украинская порода крупного рогатого скота создана многовековой народной селекцией. Процесс ее формирования происходил в сложных условиях степного региона. Сначала она характеризовалась тройным направлением продуктивности: молочно-мясо-рабочая. В настоящее время доение коров не проводят. Современный массив коров серой украинской породы относится к породам мясного направления производительности [2].

Результаты цитогенетического контроля серого украинского скота и ретроспективный анализ кариотипического мониторинга животных крупного рогатого скота пород разных направлений продуктивности показан в табл. 1. Полученные результаты цитогенетического анализа исследованных животных серой украинской породы и пород различных по направлению продуктивности, показали, что для них характерные количественные и структурные нарушения хромосом. Установлено, что часть клеток с анеуплоидией у коров серой украинской породы равнялась 1,2 %, что соответствовало спонтанному уровню этой переменчивости, характерному для крупного рогатого скота в целом (1,5–8,3 %) [8].

Таблица 1. Сравнительный анализ кариотипа животных пород разных направлений производительности и коров серой украинской породы крупного рогатого скота, %, (M±m)

Порода	Анеуплоидия	Полиплоидия	Разрывы хромосом	Разрывы хроматид
Серая украинская	1,2±0,27	–	1,5±0,45	–
Направление продуктивности				
Молочный	2,4±0,65	–	1,8±0,42	3,1±0,85
Комбинированный	2,0±1,76	0,2±0,12	2,0±0,87	1,6±1,08
Мясной	0,5±0,23– 10,6±2,95	2,1±0,40– 6,9±0,97	0,8±0,6– 6,4±0,91	0,9±0,6– 6,1±3,52

Процент анеуплоидных клеток у животных пород молочного направления продуктивности представлял 2,4 %, что почти в 2 раза превышало процент клеток по этому признаку у коров серой украинской породы, при статистически недостоверной разнице, у животных пород комбинированного направления – 2,0 %, а у животных пород мясного направления продуктивности 10,6 % (в 8,8 раз больше) при статистически достоверной разнице ($P>0,99$).

Концентрация полиплоидных клеток в крови животных пород молочного направления продуктивности отсутствовала у животных пород комбинированного направления продуктивности составляла 0,2 %, у

а у пород мясного направления – 2,1–6,9 % соответственно. У коров серой украинской породы эта изменчивость не выявлена.

По структурным нарушениям хромосом (хромосомные и хроматидные разрывы) животные пород трех направлений производительности не имели существенных расхождений. Пределы хромосомных разрывов у них составляли 0,86–6,4 %. Уровень разрывов хромосом у исследованного серого украинского скота равнялся 1,5 %, что в 4 раза ниже верхнего предела спонтанной хромосомной переменчивости, выявленной у исследованных животных пород трех направлений производительности при статистически достоверной разнице ($P>0,999$). Частота хроматидных разрывов у них колебалась в пределах 1,6–6,1 %, у исследованного серого украинского скота хроматидные разрывы отсутствовали.

Для более полной оценки соматического мутагенеза у исследованных животных серой украинской породы опытного хозяйства «Маркеево» Института животноводства степных районов «Аскания-Нова» провели микроядерный тест (табл. 2).

В результате анализа микроядерного теста в группах животных пород разного направления продуктивности выявлено, что наименьшее количество лимфоцитов с микроядрами было установлено у животных пород комбинированного направления производительности (0,4 %).

Таблица 2. Результаты микроядерного теста крупного рогатого скота серой украинской породы и животных пород трех направлений продуктивности %, ($M\pm m$)

Порода	Лимфоциты с микроядром	Двухядерные лимфоциты	Митотический индекс
Серая украинская	$1,1\pm 0,32$	$2,2\pm 0,34$	$2,8\pm 0,30$
Направление продуктивности			
Молочный	$1,07\pm 0,53$	$4,6\pm 1,77$	$7,6\pm 2,76$
Комбинированный	$0,4\pm 0,4$	$5,6\pm 1,97$	$11,1\pm 1,94$
Мясной	$1,03\pm 0,16$	$4,1\pm 0,69$	$8,2\pm 2,4$

У скота мясных пород уровень частоты лимфоцитов с микроядрами (1,0 %) близок к показателю (1,1 %), характерному для животных пород молочного направления продуктивности с недостоверной разницей средних величин.

У коров серой украинской породы частота лимфоцитов с микроядром представляла 1,1 %. У всех этих животных частота лимфоцитов с микроядром не превышала параметров нормы цитогенетических показателей крупного рогатого скота ($\text{lim } 1,00\text{--}3,67$ %) при спонтанном мутагенезе [3, 9, 10]. У животных пород комбинированного направления продуктивности отмечена тенденция к увеличению частоты двухядерных лимфоцитов (5,6 %) и темпов деления клеток (11,1 %) сравнительно с животными пород молочного (4,6; 7,6 %) и мясного направления продуктивности (4,1; 8,2 %) соответственно. Доля двухядерных

лимфоцитов (2,2 %) у коров серой украинской породы более чем в 2 раза ниже по сравнению с вышеописанными животными.

Существует научная гипотеза, что двуядерные клетки могут возникать как компенсация действия генотоксических агентов для поддержки генотоксического баланса в популяциях животных [11]. Митотическая активность лимфоцитов периферической крови (2,8 %) у коров серой украинской породы была достоверно ниже ($P>0,99$), чем у исследованных групп животных. Изменения в митотическом индексе свидетельствуют о цитотоксическом эффекте [8]. Следовательно, кариотип исследованных коров серой украинской породы характеризуется большей стабильностью сравнительно с животными пород молочного, комбинированного и мясного направлений продуктивности при спонтанном мутагенезе.

Полиморфность аллелей BoLA-DRB3 эволюционно возникла в связи с необходимостью строения клеточного рецептора по отношению к чужеродным белковым антигенам, а также она имеет широкую географическую и внутривидовую изменчивость. Показатели вариабельности аллелей гена BoLA-DRB3 у разных пород КРС подтверждают высокий уровень его полиморфизма. По информации зарубежных авторов [12] наиболее высокое разнообразие спектра аллелей гена BoLA-DRB3 выявлено у калмыцкого – 36, ярославского – 28 и монгольского скота – 35 аллелей. Средний уровень распространенности аллелей обнаружен у костромского (23) и зебувидного (22) скота. Низкий уровень генетического разнообразия по гену BoLA-DRB3 отмечен у якутского скота – 14 аллелей. Определен аллельный спектр двух отечественных популяций КРС. В украинской черно-пестрой молочной породы выявлено 28, а красно-пестрой – 22 аллеля [5]. В выборке из 72 животных серой украинской породы найдено 22 аллеля из 54 описанных за Van Eijk [10] и 5 аллелей, которые в этот перечень не входят: *jab, *jba, *jbb, *nad, *nda. Из 27 выявленных 13 аллелей определяются с частотой менее 1 %. Наиболее информативными («веские») аллели, которые определяются с частотой более 4 %) оказались 6 аллелей *jab, *jba, *jbb, *nad, *nda (табл. 3).

Таблица 3. Частоты определения аллелей *BoLA-DRB3.2* коров серой украинской породы

Аллели	Частота выявления, %	Аллели	Частота выявления, %	Аллели	Частота выявления, %
*01	0,69	*20	2,08	*43	0,69
*04	1,39	*22	1,39	*44	0,69
*06	6,25	*23	2,78	*53	1,39
*12	9,72	*24	4,86	*54	0,69
*13	0,69	*30	0,69	*jab	0,69
*14	2,78	*32	0,69	*jba	6,25
*15	4,86	*34	0,69	*jbb	2,08
*16	43,06	*36	2,08	*nad	0,69
*17	0,69	*39	0,69	*nda	0,69

Спектр аллелей и показатели их частот отличаются у разных пород, что непосредственно связано с особенностями их происхождения и развития. Такая же картина наблюдается у изученных ранее пород крупного рогатого скота. Как правило, основную часть общего аллельного разнообразия составляют от двух–трех (35–43 %) до пяти–шести аллелей (68–74 %) [12]. Например, преобладание шести аллелей выявлено у костромского скота (*01, *08, *10, *11, *28, *36, в сумме 73,7 %), которая также относится к аборигенным. Такая же ситуация и у джерсейской породы КРС (*08, *10, *15, *21, *36, *ibe, в сумме 74 %) [5], у зебувидного скота Канкрей (*34, *15, *06, *20, *37, *20, в сумме 71 %) [13], в одной из линий иранского голштинского скота (*08, *11, *16, *22, *23, *24, в сумме 69,7 %) [14], у японской шортгорнской породы (*08, *09, *21, *27, *07,

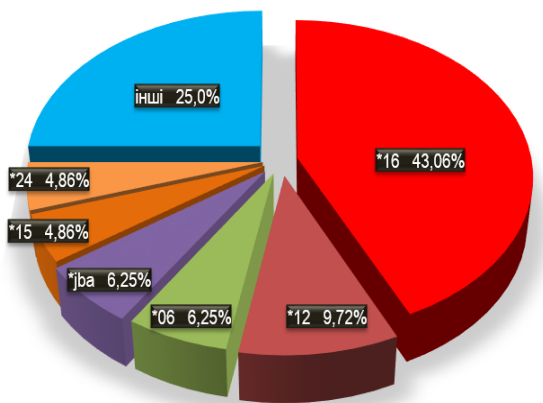


Рис. 3. Аллельный спектр гена BoLA-DRB3.2 серой украинской породы

*24, в сумме 70 %) [15].

Особенностью исследованной выборки есть частота аллеля *BoLA-DRB3.2* *16. Значительное преобладание одного–двух аллелей над другими встречается именно в аборигенных породах. Так, у якутского скота доминирующим оказался аллель *29, частота которого 42,9 %, а у костромской породы – *10 с частотой 22,5% [12].

Суммарная частота «веских» аллелей *BoLA-DRB3.2* *16, *12, *06, *jba, *15 и *24 аккумулирует 75 % аллелофонда серой украинской породы, что свидетельствует о её низком генетическом разнообразии (рис.3). Невысокий уровень аллельного разнообразия исследованной породы по локусу *BoLA-DRB3* обусловленный инбредной депрессией, которая возникает в случае длительной изоляции популяции и ее низкой численностью.

Чтобы количественно отобразить аллельный полиморфизм серого скота мы применили индекс Шеннона-Винера (H'). Значение индекса почти не превышает 4,5 и не опускается ниже 1,5. Чем выше значение индекса, тем более сложно организована исследуемая система. За количеством аллелей серой украинской породы и частотой их проявления рассчитано значение (H'). Самые высокие значения индекса (3,77 и 3,4) выявлены у красно-пестрой и голштинских пород КРС, самое низкое – у якутской породы (1,74), у которой минимальное число аллелей (14) [12]. Для серой украинской породы крупного рогатого скота индекс Шеннона-Винера составляет 3,26.

В данное время с помощью полимеразной цепной реакции выявлено 54 аллеля на основании которых базируется определение генотипов животных. Как правило, высокий уровень аллельного разнообразия гена BoLA-DRB3 определяет широкий диапазон возможных генотипов. Наибольшее количество генотипов наблюдается у красно-пестрого и ярославского скота (по 72 варианта), наименьшее – у якутского (18 вариантов) [12]. У серой украинской породы выявлено всего 35 BoLA-DRB3-генотипов (табл. 4). У данной породы тяжело выделить преобладающий генотип. Так, с частотой >5 % представлен только один генотип *16/*16 (5,25 %).

Таблица 4. Частота преобладающих BoLA-DRB3-генотипов у серой украинской породы

Порода	Число генотипов	Число генотипов >5 %	Преобладающие генотипы	Число генотипов <5 %	Общая частота генотипов с <5 %
Серая украинская порода	35	1	*16/*16 (5,25 %)	34	94,75 %

Похожая картина наблюдалась и у монгольского крупного рогатого скота. Там при общем количестве в 56 генотипов, с частотой >5 % также был представлен только один генотип – *07/*07 (5,6 %) [12].

Заключение. В результате исследования полиморфизма гена BoLA-DRB3 из 54 типов выявлено 22, которые входят в перечень по Van Eijk M. J и 5 типов, которые в этот перечень не входят: *jab, *jba, *jbb, *nad, *nda. Частотный диапазон изменяется от 43,06 до 4,86 %. Аллель *16 значительно преобладает над остальными. Он проявляется в более 43 % случаев. С высокой частотой представлен аллель *12 (9,72 %).

Изучено распределение генотипов у серого украинского скота. Установлено всего 35 BoLA-DRB3-генотипов. Так, с частотой >5 % пред-

ставлен тільки один генотип *16/*16 (5,25 %).

ЛИТЕРАТУРА

1. Сулимова, Г. Е. ДНК-маркери в изучении генофонда пород крупного рогатого скота / Г. Е. Сулимова // Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства. – М.: Наука, 2006. – С. 138–166.
2. Козир, В. С. Сіра українська порода: національне надбання на межі зникнення / В. С. Козир // Агробізнес сьогодні. – 2015. – № 22 (317).
3. Стародуб, Л. Ф. Цитогенетичний контроль у м'ясному і молочному скотарстві: автореф. дис. на здобуття наук. Ступеня кандидата с/г наук : спец. 03.00.15 «Генетика» / Л. Ф. Стародуб. – Чубинське, 2011. – 20 с.
4. Шельов, А. В. Методика приготування метафазних хромосом лімфоцитів периферійної крові тварин / А. В. Шельов, В. В. Дзіжок // Методики наукових досліджень із селекції, генетики та біотехнології у тваринництві: наук. зб. — К., 2005. – С. 210–213.
5. Gilliespie, B. E., Jayarao B. M., Dowlen H. H. & Oliver S. P. Analysis and frequency of bovine lymphocyte antigen *DRB3.2* alleles in Jersey cows // J. Dairy Sci. 1999. – V.82. – P. 2049–2053.
6. Супрович, Т. М. Поліморфізм алелів гена BoLA-DRB3 на прикладі українських чорно-рябої та червоно-рябої молочних порід / Т. М. Супрович // Наук. вісн. НУБіП. – К.: 2013. – Вип.188. – Ч.4. – С. 144–152.
7. Van Eijk M. J. Extensive Polymorphism of the BoLA-DRB3 Gene Distin guished by PCR-RFLP / M. J. Van Eijk, J. A. Stewart-Haynes, J. E. Beever // Animal Genetics. – 1992. – V.23(6). – P. 483–496.
8. Визначення генетичних аномалій у великій рогатій худоби: методичні рекомендації / М. І. Бащенко, К. В. Копилов, М. Л. Добрянська, Л. Ф. Стародуб, Ю. П. Подоба, К. В. Копилова. – Чубинське, 2011. – 36с.
9. Глазко, Т. Т. Мікроядерний тест у великій рогатій худоби / Т. Т. Глазко // Вісник аграрної науки. – 2001. – 39 – С. 45–48.
10. Migliore, L., Colognato R., Naccarati A. e.a. Relationship between genotoxicity biomarkers in somatic and germ cells: fsndings from a biomonitoring studu. Mutagenesis. – 2006. – №21 (2). – P. 149–152.
11. Ковалева, О. А. Цитогенетические аномалии в соматических клетках млекопитающих / О. А. Ковалева // Цитология и генетика. – 2008. – Т. № 1. – С. 58–72.
12. Поліморфізм гена BoLA-DRB3 у крупного рогатого скота монгольської, калмыцької і якутської порід / М. Н. Рузина [и др.] // Генетика. 2010. – Т. 46. – №4. – С. 517–525.
13. Behl, J. D., Verma N. K., Behl R. et al. Characterization of genetic polymorphism of the bovine lymphocyte antigen *DRB3.2* locus in Kankrej cattle (*Bos indicus*) // J. Dairy Sci. 2007. – V.90. – №6. – P. 2997–3001.
14. Pashmi, M., Qanbari S., Ghorashi S.A., and Salehi A. PCR based RFLP genotyping of bovine lymphocyte antigen *DRB3.2* in Iranian Holstein population // Pak. J. Biol. Sci. 2007. – V. 10. – № 3. – P. 383–387.
15. Takeshima, S., Nakai Y., Ohta M., and Aida Y. Characterization of *DRB3* alleles in the MHC of Japanese Shorthorn Cattle by polymerase chain reaction-sequence-based typing // J. Dairy Sci. 2002. – V. 85. – P. 1630–1632.