References

- 1. Lunitsyn V.G., Mikhaylov V.I., Shuklina E.V., Boranbaev A.V., Merlich P.N. Diagnostika i mery borby s gelmintozami maralov: metod. rekom. / RASKhN, VNIIPO. Barnaul, 2010. 34 s.
- 2. Lunitsyn V.G. Osnovnye parazitozy maralov, skhemy ikh profilaktiki i terapii / RASKhN, VNIIPO. Barnaul: AZBUKA, 2011. 236 s.
- 3. Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata «Rikazol».
- 4. Instruktsiya po primeneniyu lekarstvennogo preparata «Neomektin 1%».

- 5. Kotelnikov G.A. Gelmintologicheskie issledovaniya zhivotnykh i okruzhayushchey sredy: spravochnik. M.: Kolos, 1983. 208 s.
- 6. Ershov V.S. Spravochnik po veterinarnoy gelmintologii. M.: Kolos, 1964. 367 s.
- 7. Skryabin K.I. Metod polnykh gelmintologicheskikh vskrytiy pozvonochnykh, vklyuchaya cheloveka. M.: Izd-vo 1 MGU, 1928. 45 s.
- 8. Lunitsyn V.G., M.Yu. Tishkov, V.I. Mikhaylov Epizooticheskiy monitoring, profilaktika i mery borby s parazitozami maralov: metod. rekom. / RASKhN, VNIIPO. Barnaul, 2013. 46 s.



УДК 619:579.841.93

M.C. Турсумбетов, Р.З. Нургазиев, С.Б. Чегиров, З.С. Кельдибекова M.S. Tursumbetov, R.Z. Nurgaziyev, S.B. Chegirov, Z.S. Keldibekova

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВИДА БРУЦЕЛЛ СРЕДИ ЯКОВ МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

TYPE ASSIGNMENT OF BRUCELLAE IN YAKS BY MEANS OF POLYMERASE CHAIN REACTION

Ключевые слова: бруцеллез яков, типизация, праймеры, ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота), иммуноферментный анализ (ИФА), роз бенгал тест (РБТ), полимеразная цепная реакция (ПЦР).

Лабораторные исследования яков на бруцеллез и типовую принадлежность бруцелл проводили с применением классических методов ПЦР. Предварительно кровь от животных исследовали методом роз бенгал теста и иммуноферментного анализа. Положительно реагирующих на бруцеллез яков изучали с применением ПЦР анализа для выявления бруцелл и определения вида возбудителя. Типизация бруцелл у инфицированных яков была проведена впервые в Кыргызской Республике. При отборе проб крови от яков клинические симптомы на бруцеллез не наблюдались. Результаты исследования показали, что основным видом в крови инфицированных яков была бруцелла Br. abortus. Знание видовой принадлежности у конкретного вида животных играет важную роль при подходе научного и объективного плана в разработке противоэпизоотических мероприятий против бруцеллеза.

Турсумбетов Мамбеталы Садывалыевич, с.н.с. лаб. по изучению бруцеллеза с.-х. животных, Кыргызский НИИ ветеринарии им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: mambetalytursumbetov@gmail.com.

Нургазиев Рысбек Зарылдыкович, д.в.н., проф., членкорр. НАН КР, ректор, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: knau-info@mail.ru.

Keywords: brucellosis in yaks, type assignment, primers, DNA (deoxyribonucleic acid), enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), rose bengal test (RBT), polymerase chain reaction (PCR).

Laboratory studies of yaks to reveal brucellosis and determine the type of brucella were conducted by using classical PCR methods. First, the blood of the animals was studied by using the rose-bengal test and ELISA method. The yaks that had positive brucellosis reaction were examined by using PCR to identify brucella and determine the type. The type assignment of brucella in infected yaks was carried out for the first time in the Kyrgyz Republic. When taking blood samples from the yaks, no clinical symptoms of brucellosis were observed. The results of the study showed that *Brucella abortus* was the main species in the blood of the infected yaks. The knowledge of the brucella species in a particular animal species plays an important role in the development of the measures against brucellosis.

Tursumbetov Mambetaly Sadyvaliyevch, Senior Staff Scientist, Farm Animal Brucellosis Study Lab., Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: mambetalytursumbetov@qmail.com.

Nurgaziyev Rysbek Zaryldykovich, Dr. Vet. Sci., Prof., Corresponding Member of Natl. Acad. of Sci. of Kyrgyz Republic, Rector, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: knauinfo@mail.ru.

Чегиров Саламат Биримкулович, к.б.н., зав. лаб. по изучению бруцеллеза с.-х. животных, Кыргызский научно-исследовательский ветеринарный институт им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: ch_salamat15@mail.ru.

Кельдибекова Замира Садыбакасовна, к.в.н., вед. н.с. лаб. по изучению бруцеллеза с.-х. животных, Кыргызский научно-исследовательский ветеринарный институт им. А. Дуйшеева, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, г. Бишкек, Кыргызская Республика. E-mail: zkeldibekova@gmail.com.

Chegirov Salamat Berimkulovich, Cand. Bio. Sci., Head, Farm Animal Brucellosis Lab., Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: ch_salamat15@mail.ru.

Keldibekova Zamira Sadybakasovna, Cand. Vet. Sci., Leading Staff Scientist, Farm Animal Brucellosis Study Lab., Kyrgyz Research Veterinary Institute named after A. Duysheyev, Kyrgyz National Agricultural University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyz Republic. E-mail: zkeldibekova@gmail.com.

Введение

Из хронических инфекционных болезней в животноводстве наибольший экономический ущерб наносит бруцеллез, который снижает продуктивность животных, сдерживает воспроизводство ценного племенного поголовья и угрожает здоровью населения.

Бруцеллез опасен и тем, что к нему восприимчивы большинство видов сельскохозяйственных и домашних животных. Распространение заболевания происходит при контакте с инфицированными бруцеллезом животными во время случек и отелов, а также через зараженные пастбища. Так, в пяти обследованных хозяйствах Иссык-Кульской, Нарынской областей распространение бруцеллеза среди яков происходило через начавшиеся аборты якоматок с бруцеллезной этиологией. В результате происходило обсеменение пастбищ зараженными водами и абортплодами, обширное перезаражение яков [1].

Основным способом борьбы с бруцеллезом является своевременная и высокочувствительная диагностика, позволяющая с большой вероятностью выявлять больных бруцеллезом животных в общем стаде. Важную роль в противоэпизоотических мероприятиях играет определение вида возбудителя бруцеллеза и путей миграции возбудителя среди животных. По данным многолетних наблюдений и серологических исследований были выявлены случаи заражения яков при совместном пастбищном содержании их с крупным рогатым скотом. Регистрируются случаи выделения культуры Вг. abortus у яков. Имели место случаи, когда у инфицированных яков выявлялись бруцеллы вида Вг. melitensis [2, 3].

При изучении очагов инфекции по бруцеллезу степени напряженности эпидемиологического процесса в них крайне важно установление путей заноса возбудителя. При разработке средств и методов борьбы с бруцеллезом необходимо определить виды бруцелл, циркулирующих в кон-

кретных очагах. Располагая всеми необходимыми эпидемиологическими характеристиками, возможно реализовать целенаправленную, научную обоснованную программу борьбы с бруцеллезом [4-7].

Цель исследовательской работы – выделение возбудителя и типизация вида бруцелл в крови яков с помощью полимеразной цепной реакции.

Материалы и методы исследований

Исследовательская работа проводилась в лаборатории по изучению бруцеллеза КыргНИИВ им. А. Дуйшеева и Центре ветеринарной диагностики и экспертизы по северному региону.

Для определения вида возбудителя бруцеллеза использовали цельную кровь, взятую от инфицированных бруцеллезом яков, с добавленным антикоагулянтом (3%-ный раствор ЭДТА из расчета 10:1) в количестве не менее 10 мл. 15 положительно реагировавших по РБТ и ИФА проб засевали в кровяной агар по 5 мл в каждую пробирку агара. Инкубацию проводили с применением двух разных вариантов: в первом - с повышенным содержанием углекислоты в кровяном агаре (5-10%), во втором – при традиционных условиях. С четвертого дня после посева поверхность агара орошали бульоном. Рост культур обнаруживали в 5 пробах через 17 дней после засева в варианте с повышенным содержанием углекислоты. Для типизации возбудителя бруцеллеза применяли метод ПЦР.

Первый этап проведения ПЦР – выделение возбудителя бруцелл с применением набора «ДНК-сорб В» (Россия) согласно протоколу инструкции.

При постановке ПЦР использовали следующие реакционной смеси: 10-кратный буфер, праймеры, раствор дНТФ, раствор магния хлорида, зонды, деионизированная вода, Таq-полимераза. В готовую реакционную смесь (в пробирки) добавляли 10 мкл ДНК, выделенной из исследуемых

Таблица

образцов, для положительного контроля –10 мкл контрольной ДНК, для отрицательного контроля – 10 мкл деионизированной воды, специфичные праймеры:

- универсальный IS711 primer 5' TGCCGATCACTTAAGGGCCTTCAT-3';
 - Br. abortus primer 5'-
- GACGAACGGAATTTTTCCAATCCC-3';
- Br. melitensis primer 5'-AAATCGCGTCCTTGCTGGTCTGA-3'.

Затем пробирки помещали в амплификатор и проводили амплификацию согласно отработанному протоколу. Для температурного режима амплификации применяли амплификатор Mini Opticon (Bio-Rad) с назначением температурного градиента (табл.).

Программа амплификации возбудителя бруцеллеза

Температурный режим	Время	Количество циклов
Денатурация 94°С	2 мин.	1
Денатурация 94°С	30 c	
Эллонгация 55,5°C	30 c	35
Синтез 72°С	1 мин.	
Хранение 4°С	-	

Для обнаружения и учета реакции применяли 2,5%-ный агарозный гель на 1х ТАЕ буфере с бромистым этидием. Учет результатов проводили в системе BIO-RAD GelDoc XRTM.

Результаты исследований

При посеве на кровяном агаре было использовано 15 положительных проб на бруцеллез, из которых рост возбудителя отмечен в 5 пробирках. 5 положительных проб далее исследовали методом ПЦР для определения вида возбудителя. В результате в агарозном геле обнаружили специфические полосы на уровне 498 п.н. (рис.).

Таким образом, применение высокочувствительного ПЦР анализа было подтверждено, что у данных животных бруцеллез был вызван возбудителем *Br. abortus*. Как показывают практика и наблюдения, миграция возбудителя *Br. abortus* среди яков от крупного рогатого скота к якам происходила при контакте с инфицированным крупным рогатом скотом.

Полученные нами результаты показали возможность для генетического типирования бруцелл до уровня вида с помощью полимеразной цепной реакции.

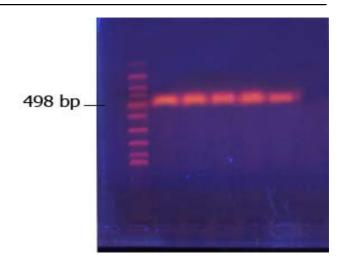


Рис. Учет результатов амплификации контрольных образцов (наличие фрагментов ПЦР продукта в геле свидетельствовало о присутствии ДНК бактерии В. Abortus на уровне 498 п.н.)

Выводы

В результате проведенных лабораторных исследований подтверждено распространение бруцелл вида *Br. abortus* среди яков. Применение ПЦР в типизации видов бруцелл является ключевым направлением при установлении путей миграции возбудителя бруцеллеза и в разработке методов борьбы с бруцеллезной инфекцией.

Библиографический список

- 1. Ким В.И. Вклад кыргызских ученых в изучении бруцеллеза животных. Кара-Балта, 2004. С. 140-143.
- 2. Беляков А.И. Материалы по изучению бруцеллеза яков в Киргизской ССР: автореф. дис. ... канд. вет. наук / 16.803. Фрунзе, 1971. C. 5-7.
- 3. Таранов В.А. Материалы по изучению бруцеллеза сельскохозяйственных животных в Таджикистане за 20 лет и бактериологическая, сероаллергическая диагностика бруцеллеза у яков: автореф. дис. ... канд. вет. наук / 16.803. Фрунзе, 1971. С. 13-14.
- 4. Шумилов К.В. Новейшие методы диагностики бруцеллеза // Ветеринария. 1996. № 12. С. 12.
- 5. Скляров О.Д. Молекулярные механизмы генотипирования патогенов // Сборник научных трудов ВГНКИ. М., 2003. С. 64.
- 6. Гребенникова Т.В., Грабовецкий В.В. Дифференциальная диагностика микобактерий методом ПЦР // Ветеринария. 1999. № 3. С. 17-20.

7. Федоров Н.А., Суханов Ю.С., Асади Мобархан А.Х. и др. Полимеразная цепная реакция (ПЦР): методическое пособие. – М., 1996. – С. 33.

References

- 1. Kim V.I. Vklad kyrgyzskikh uchenykh v izuchenii brutselleza zhivotnykh. Kara-Balta, 2004. S. 140-143.
- 2. Belyakov A.I. Materialy po izucheniyu brutselleza yakov v Kirgizskoi SSR: avtoref. diss. ... kand. vet. nauk: 16.803. Frunze, 1971. S. 5-7.
- 3. Taranov V.A. Materialy po izucheniyu brutselleza selskokhozyaistvennykh zhivotnykh v Tadzhikistane za 20 let i bakteriologicheskaya, sero-

- allergicheskaya diagnostika brutselleza u yakov: avtoref. diss. ... kand. vet. nauk: 16.803. Frunze, 1971. S. 13-14.
- 4. Shumilov K.V. Noveishie metody diagnostiki brutselleza // Veterinariya. 1996. No. 12. S. 12.
- 5. Sklyarov O.D. Molekulyarnye mekhanizmy genotipirovaniya patogenov // Sbornik nauchnykh trudov VGNKI. M., 2003. S. 64.
- 6. Grebennikova T.V., Grabovetskii V.V. Differentsialnaya diagnostika mikobakterii metodom PTsR // Veterinariya. 1999. No. 3. S. 17-20.
- 7. Fedorov N.A., Sukhanov Yu.S., Asadi Mobarkhan A.Kh. i dr. Polimeraznaya tsepnaya reaktsiya (PTsR): metodicheskoe posobie. M., 1996. S. 33.



УДК 636.4.082.22: 636.082.26:636.082.265

Л.В. Хрипунова, С.В. Бурцева L.V. Khripunova, S.V. Burtseva

ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА СВИНЕЙ РАЗНОГО ГЕНОТИПА ИРЛАНДСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

PRODUCTIVE QUALITIES OF PIGS OF DIFFERENT GENOTYPES OF IRISH BREEDING

Ключевые слова: свиньи, генотип, крупная белая порода, порода ландрас, ирландская селекция, межпородное скрещивание, воспроизводительные качества, откормочные качества, среднесуточные приросты, индексы телосложения.

Эксперимент проведен в ООО «Алтаймясопром» Тальменского района Алтайского края в период 2015-2017 гг. Проанализированы воспроизводительные, откормочные качества и особенности телосложения свиней разного генотипа ирландской селекции в условиях Алтайского края. 1-я контрольная группа – чистопородное разведение свиней крупной белой породы (♀КБ × ♂КБ), 2-я контрольная группа – внутрипородный подбор свиней породы ландрас (♀Л × ♂Л). В опытных группах применяли межпородное скрещивание свиней в разных сочетаниях: 3-я опытная группа – ♀КБ × ♂Л, 4-я опытная – Л \times КБ, 5-я опытная – (КБ \times Л) \times КБ, 6-я опытная – $\mathcal{L}(KE \times J) \times \mathcal{L}J$, 7-я опытная — $\mathcal{L}(J \times KE) \times \mathcal{L}KE$, 8-я опытная группа – ♀(Л × КБ) × ♂Л. В результате исследований установлено, что межпородное скрещивание свиней ирландской селекции по схеме: ♀КБ × ♂Л позволяет увеличить массу гнезда в 30 дней на 10,0% (р≤0,05) в отличие от чистопородного разведения свиней крупной белой породы. Использование возвратного скрещивания животных в 5-й и 8-й опытных группах способствует повышению воспроизводительных качеств свиноматок на 6,1-22,7% (р≤0,05-0,001). Свиньи крупной белой породы в отличие от аналогов породы ландрас более сбиты (+9.8%; p<0.05), широкотелы (+7.4%; p<0.001), массивны (+12,1%; p<0,01), высоконоги (+4,2%; p<0,05). Поросята

генотипа КБ х Л в сравнении с подсвинками породы ландрас более массивны и широкотелы на 18,9% (р≤0,001) и 7,4% (р≤0,001) соответственно. Особи 6-й опытной группы более растянуты по сравнению с аналогами 1-й контрольной группы на 6,9% (р≤0,05). Молодняк 7-й опытной группы по отношению к аналогичным показателям свиней породы ландрас в контроле оказался более массивным на 18,5% (р≤0,001) и широкотелым на 10,3% (р≤0,001). По откормочным качествам свиньи породы ландрас лидировали над сверстниками крупной белой породы с разницей от 3,5 до 12,8% (р≤0,05). Помесный молодняк 3-й и 4-й опытных групп отличался более высокими среднесуточными приростами на 12,1-13,7% (р≤0,05), чем у чистопородных животных. Возвратное скрещивание свиней в 5-, 6-, 7- и 8-й опытных группах способствует повышению скороспелости потомства от 3,1 до 4,7% (р≤0,05) и интенсивности роста от 1,6 до 18,1% (р≤0,05) в отличие от чистопородного разведения свиней.

Keywords: pigs, genotype, Large White breed (LW), Landrace breed (L), Irish selective breeding, interbreeding, reproductive features, fattening qualities, average daily weight gains, body composition indices.

The experimental studies were carried out on the pig farm of the OOO "Altaymyasoprom", the Talmenskiy District of the Altai Region from 2015 through 2017. The reproductive and fattening qualities and body composition features of pigs of different genotypes of Irish selective breeding were analyzed under the conditions of the Altai Region. The 1st