**Науковий вісник Львівського національного університету
ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького.**

Серія: Ветеринарні науки

**Scientific Messenger of Lviv National University
of Veterinary Medicine and Biotechnologies.**

Series: Veterinary sciences

ISSN 2518-7554 print
ISSN 2518-1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9921
<https://nvlvet.com.ua/index.php/journal>

UDC 436.52.58 + 619

Possibility to use erythrocyte antigens and feather coloration genes to determine resistance to non-plastic diseases

L. P. Livoschenko, Y. M. Livoschenko

Sumy National Agrarian University, Sumy, Ukraine

Article info

Received 14.09.2020
Received in revised form
12.10.2020
Accepted 13.10.2020

Sumy National Agrarian
University, G. Kondrat'eva, 160,
Sumy, 40000, Ukraine.
Tel.: +38-050-102-93-78
E-mail: evglivoshenko@gmail.com

Livoschenko, L. P., & Livoschenko, Y. M. (2020). Possibility to use erythrocyte antigens and feather coloration genes to determine resistance to non-plastic diseases. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary sciences, 22(99), 143–147. doi: 10.32718/nvlvet9921

Non-plastic diseases are a problem in both medical and veterinary practice. These include lymphoid leukemia (LL) and Marek's disease (CM). It should be noted that HM causes losses to poultry three times higher than LL. CM is a highly contagious viral neoplastic disease of chickens. It is known that the degree of resistance of different breeds and lines of chickens to Marek's disease (CM) and lymphoid leukemia (LL) is not the same. To date, little attention has been paid to the role of erythrocyte antigenic factors in the bird's response to morbidity. There is a relationship between the incidence among vaccinated birds and the natural susceptibility to HM birds of certain breeds and lines. The effect of protective reactions in chickens associated with erythrocyte antigenic factors in poultry selected for resistance to non-plastic diseases is still unclear. The objects of the study were chickens and 11-day-old embryos of poultry from one of the farms of Ukraine. The studies were performed on Rhode Island, Leghorn D4 and P-37 chickens. Standard strains of Rouse's sarcoma virus (HRV) were used in the study. Embryos of 11 days of incubation were infected with Rouse virus on the chorio-allantoic membrane (CAM). The results of the studies proved that the resistance to HRV had a significantly opposite correlation only with the presence of B₁₆ antigen and the absence of X₃₁. In chickens of the P-37 line we noted a probable difference in the number of birds of different genetic groups at loci B₁₈ and E 8. Among birds of this line of genotypes rs and ss no individuals with locus E₈ were found, while among chickens with genotype rr rarely found a bird with a locus B₁₈. In hens of line D-4 with genotype rr, the frequency of the A₁₂ locus was set more often than in genotypes rs and ss. As for the frequency of the B₃₃ locus, the opposite pattern was observed. Tumor regression was probably more common in birds with antigenic factor B₁ and in the absence of B₃₃. Hypersensitivity to non-plastic diseases of chickens carrying B₂, B₂₁, B₂₉, X₅₀ antigens has been established. The bird, more resistant to neoplasms, had an increased number of antigens B₃, B₁₈, C₂₆. and research in this direction continues. It is assumed that the plumage color gene (s), if present in homozygous form, is an inhibitor of sensitivity. The experiments used embryos and chickens with different plumage color: red, black, white with a yellow tinge, pure white. Their ratio is approximately 2:1:1 or 3 parts "colored" and 1 part white. It was found that among the "colored" embryos were more stable than sensitive. In fact, the resulting cleavage was close to expected.

Key words: chickens, embryos, leukemia-sarcoma complex viruses, Raus sarcoma virus, Marek's disease, erythrocyte antigens, plumage gene.

Можливість використання антигенів еритроцитів і генів забарвлення оперення птиці для визначення стійкості до непластичних захворювань

Л. П. Лівощенко, Є. М. Лівощенко

Сумський національний аграрний університет, м. Суми, Україна

Непластичні захворювання є проблемою як в медичній, так і в ветеринарній практиці. До них відносяться лімфоїдний лейкоз (ЛЛ) і хвороба Марек (ХМ). Треба відмітити, що ХМ завдає птахівництву збитків в тричі вищих, ніж ЛЛ. ХМ високо контагіозне вірусне неопластичне захворювання курей. Відомо, що ступінь стійкості різних порід і ліній курей до хвороби Марек (ХМ) і лімфоїдному лейкозу (ЛЛ) неоднакова. До теперішнього часу мало уваги приділялося ролі антигенним факторам еритроцитів в реакції організму птиці на захворюваність. Є залежність між захворюваністю серед вакцинованої птиці і природною чутливістю до ХМ птиці певних порід і ліній. Вплив захисних реакцій у курей, що пов'язаний з антигенними фактори еритроцитів у птиці, селекціонованих за стійкістю до непластичних захворювань досі залишаються нез'ясованими. Об'єктами дослідження були кури і 11-денні зародки птиці одного із господарств України. Дослідження проводили на курах породи род-айленд, леггорн лінії Д4 та полтавській глинястій породи П37. В роботі були використані стандартні штами вірусу саркоми Рауса (BCP). Ембріони 11-денної інкубації заражали вірусом Рауса на хоріо-аллантоїсну оболонку (ХАО). Результати досліджень довели, що стійкість до BCP мала вірогідно протилежну кореляцію тільки з наявністю антигену B_{16} і відсутністю X_{31} . У курей лінії П-37 нами відзначена вірогідна різниця в кількості птиці різних генетичних груп по локусам B_{18} і E . Серед птиці цієї лінії генотипів rs і ss не встановлено особин, що мають локус E_s , в той час як серед курей з генотипом gg вірогідно рідше виявляли птицю з локусом B_{18} . У курей лінії Д-4 з генотипом gg частота локусу A_{12} становили частіше, ніж у генотипів rs і ss . Що стосується частоти локусу B_{33} , то спостерігали зворотну закономірність. Регресія пухлин вірогідно частіше відбувалася у птиці, що мала антигенний фактор B_1 і при відсутності B_{33} . Встановлена підвищена чутливість до непластичних захворювань курей носіїв антигенів B_2 , B_{21} , B_{29} , X_{50} . Більш стійка до неоплазм птиця мала підвищену кількість антигенів B_3 , B_{18} , C_{26} . Дослідження в цьому напрямку тривають. Припускається, що ген забарвлення оперення (i), якщо він є в гомозиготній формі, являється інгібітором чутливості. В досліді використовувалися ембріони і курчата з різним забарвленням оперення: червоні, чорні, білі з жовтим відтінком, чисто білі. Співвідношення їх приблизно 2:1:1 або 3 частини "забарвлених" і 1 частина білих. Установлено, що серед "забарвлених" ембріонів стійких було більше, ніж чутливі. Фактично отримане розщеплення виявилось близьким до очікуваного.

Ключові слова: курчата, ембріони, віруси лейкозо-саркомного комплексу, вірус саркоми Рауса, хвороба Марек, антигени еритроцитів, ген забарвлення оперення.

Вступ

Сучасне птахівництво – одна з рентабельних галузей тваринництва. Яйце і м'ясо птиці є дієтичним продуктом для харчування людини (Tsang et al., 1999; Plachý et al., 2017; Vahrusheva, 2020). На жаль, стримують подальший розвиток промислового птахівництва різні захворювання птиці заразної етіології (Plotnikov et al., 2013). До таких відносяться неопластичні хвороби птиці, що реєструються серед усіх порід і ліній курей. За даними ряду авторів економічні збитки, які завдає ХМ, в три рази перевищує збитки, що наноситься хворобами лейкозо-саркомної групи (Payne & Nair, 2012; Bhutia & Damodar, 2017). Птиця, що уражена онкарновірусами, втрачає вагу, уповільнює ріст (Rubin, 2011). Загибель від ХМ і ЛЛ і вимушений забій завдає величезний економічний збиток, який може коливатися від 10 % до 60 %, залежно від форми прояву хвороби. Крім того, необхідно враховувати і витрати на ветеринарно-санітарні заходи, по ліквідації захворювання та збитки за рахунок зниження продуктивності (Payne & Venugopal, 2000; Soujanya et al., 2019; Vahrusheva, 2020).

Відомо, що ступінь стійкості різних порід і ліній курей до хвороби Марек (ХМ) і лімфоїдному лейкозу (ЛЛ) неоднакова. До теперішнього часу мало уваги приділялося ролі антигенним факторам еритроцитів в реакції організму птиці на захворюваність.

Є залежність між захворюваністю серед вакцинованої птиці і природною чутливістю до ХМ птиці певних порід і ліній. Вплив захисних реакцій у курей, що пов'язаний з антигенними фактори еритроцитів у птиці, селекціонованих за стійкістю до непластичних захворювань досі залишаються нез'ясованими (Payne & Venugopal, 2000; Plachý et al., 2017).

Мета роботи: дослідити вплив антигенних факторів еритроцитів і генів забарвлення оперення птиці на стійкість до неопластичних хвороб в стаді курей порід леггорн і полтавська глиняста, селекціонованих на підвищену стійкість до онкорнавірусів.

Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на курах породи род-айленд, леггорн лінії Д4 та полтавській глинястій породи П37.

В роботі були використані стандартні штами вірусу саркоми Рауса (BCP), що належать до різних підгруп вірусів лейкозо-саркомної групи (Бріан, RAV-2), вірус еритроїдного лейкозу штаму R, вірус хвороби Марек (штам ЗК). Матеріалом для зараження служив вірус в розведенні $10^{-1.5}$, $10^{-2.5}$, $10^{-4.5}$, $10^{-5.5}$ (за вихідний матеріал брали пухлинну тканину. 30 % суспензія відповідала розведення $10^{-0.5}$). Кожним розведенням вірусу в об'ємі 0.1 мл заражали в перетинку крила чотирьох курчат. Перший облік реакції проводили на 10 день після інфікування, а наступні - через 2 дні протягом двох тижнів. За позитивну реакцію на введення вірусу вважали утворення пухлини на місці ін'єкції пухлинного матеріалу.

Ембріони 11-денної інкубації заражали вірусом Рауса на хоріо-аллантоїсну оболонку. З цієї метою робили штучну повітряну камеру з боку поверхні яйця. Ця операція проводилася наступним чином. Під контролем овоскопа визначали місце розташування природної пуги і робили прокол шкаралупи на середині повітряної камери. Далі на бічній поверхні пропилювали шкаралупу, розривали підшкаралупну оболонку і під контролем овоскопа з допомогою пастерівської піпетки і надітої на неї гумової трубочки відсмоктували повітря. Хоріо-аллантоїсна оболонка відділялася від підшкаралупної, утворюючи повітряну камеру. Ембріони клали на спеціальні лоточки в горизонтальному положенні штучно утвореним отвором вгору і поміщали в термостат на 1,5–2 години для фіксації пуги. Потім на оболонку наносили вірус в об'ємі 0.1 мл.

Результати та їх обговорення

Згідно з літературними даними встановлений зв'язок між наявністю певних еритроцитарних антигенів та захворюваністю птиці на неопластичні хвороби. Дослідження проводилися з сироватками, що не пройшли міжнародної атестації на здатність диференціювати певні локуси. Це ускладнювало виявлення серед них тих сироваток, які, згідно з літературними

даними, виявляють серед птиці стійкі особини до неоплазм. Виходячи з цього, нами проведено дослідження багатьох антигенних факторів еритроцитів у птиці, що різнилися по чутливості до ВСР, здатності до регресії пухлин і стійкості до хвороби Марека.

На рисунку 1 представлені дані про стійкості до ВСР птиці з різною частотою певних антигенних факторів еритроцитів.

Рис. 1. Вплив еритроцитарних антигенів на стійкість птиці до ВСР

Згідно з даними рисунка 1 стійкість до ВСР мала вірогідно протилежну кореляцію тільки з наявністю антигену B₁₆ і відсутністю X₃₁. Повторні дослідження, проведені на птиці лінії Д-4, не підтвердили такого зв'язку з зазначеними антигенами.

Нами досліджувався зв'язок між наявністю певних еритроцитарних антигенів та стійкістю до ВСР птиці різних генотипів (рис. 2).

Рис. 2. Частота еритроцитарних антигенів у птиці лінії Д4 до ВСР

У курей лінії П-37 нами відзначена вірогідна різниця в кількості птиці різних генетичних груп по локусам B_{18} і E_8 . Серед птиці цієї лінії генотипів rs і ss не встановлено особин, що мають локус E_8 , в той час як серед курей з генотипом gg вірогідно рідше виявляли птицю з локусом B_{18} . У курей лінії Д-4 з генотипом gg частота локусу A_{12} установлювали частіше, ніж у генотипів rs і ss . Що стосується частоти локусу B_{33} , то спостерігали зворотну закономірність.

Повторні дослідження частоти антигенних факторів не виявлено закономірності повторення даних про наявність чи відсутність раніше названих чинників.

Ймовірно, немає зв'язку між наявністю визначених чинників еритроцитів у досліджуваних генотипів птиці по стійкості до інфікування ВСР або в нашому банку сироваток були відсутні такі, які виявляли б цей зв'язок.

Регресія пухлин вірогідно частіше відбувалася у птиці, що мала антигенний фактор B_1 і при відсутності B_{33} (рис. 3).

Рис. 3. Частота еритроцитарних антигенів у птиці лінії П37 до ВСР

Встановлена підвищена чутливість до непластичних захворювань курей носіїв антигенів B_2 , B_{21} , B_{29} , X_{50} .

Payne L. N. співавтори висловлювали припущення, що ген забарвлення оперення (i), якщо він є в гомозиготній формі, являється інгібітором чутливості (Payne & Venugopal, 2000; Payne & Nair, 2012). Для перевірки цієї гіпотези в досліді використовувалися ембріони і курчата з різним забарвленням оперення: червоні, чорні, білі з жовтим відтінком, чисто білі. Оскільки у зародків важко розрізнити відтінки, всі білі з різними

відтінками були віднесені до групи “білі”. З 74 досліджених ембріонів червоних було 36 шт., Чорних 17, білих – 21, тобто співвідношення їх приблизно 2:1:1 або 3 частини “забарвлених” і 1 частина білих.

При зараженні ембріонів відповідно до схеми дігібридного схрещування передбачалося, що співвідношення стійких і чутливих зародків серед “забарвлених” і “незабарвлених” має бути однаковим (1:1), адже схрещували генотипи. Насправді вийшло, що серед “забарвлених” ембріонів стійких було більше, ніж чутливі (табл. 1).

Таблиця 1

Зв'язок гена забарвлення оперення з геном чутливості до онкарновірусів

Забарвлення ембріонів	Досліджено ембріонів, штук	Співвідношення стійких до чутливих			Критерії Хі-квадрат	
		фактичне	теоретично очікуємо		1–2	1–3
			Без дії інгібітору	При дії інгібітору		
Червоні	36	27–9	18–18	27–9	8,6	0,00
Чорні	17	13–4	8–9	17–0	6,2	1,88
Білі	21	15–6	11–10	–	3,0	–

Фактично отримане розщеплення виявилось близьким до очікуваного, якщо допустити, що діє інгібітор. Але оскільки була проведена тільки одна серія дослідів, остаточний висновок зробити неможливо.

Можна лише зробити висновок, що ген забарвлення оперення все-таки якимось чином пов'язаний з геном чутливості.

Висновки

Птиця фенотипу К-А має менше поширення серед птиці з забарвленим оперенням (полтавська глиниста, род-айленд). Леггорни всіх популяцій (за винятком канадського леггорну лінії В-7) відрізняються високою наявністю названого фенотипу. Характер успадкування ознаки клітинної сприйнятливості неоднаковий у генетично різних груп курей: у леггорнів він успадковується за типом неповного домінування, у полтавських глинистих також геном забарвлення оперення. Ген забарвлення оперення має певний зв'язок з геном чутливості до онкарновірусів.

Перспективи подальших досліджень. На підставі отриманих результатів досліджень в подальшому планується показники антигенів еритроцитів і генів забарвлення оперення птиці використовувати для визначення стійкості до непластичних захворювань.

References

- Bhutia, L. D., & Damodar, S. Y. (2017). Occurrence of lymphoid leukosis in poultry population of Mizoram. *Indian Journal of Veterinary Pathology*, 41(3), 228–231. doi: 10.5958/0973-970X.2017.00056.6.
- Payne, L. N., & Venugopal, K. (2000). Neoplastic diseases: Marek's disease, avian leukosis and reticuloendotheliosis. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 19(2), 544–564. doi: 10.20506/rst.19.2.1226.
- Payne, L., & Nair, V. (2012). The long view: 40 years of avian leukosis research. *Avian Pathology*, 41(1), 11–19. doi: 10.1080/03079457.2011.646237.
- Plachý, J., Reinišová, M., Kučerová, D. et al. (2017). Identification of New World Quails Susceptible to Infection with Avian Leukosis Virus Subgroup J. *J. Virol*, 91(3), e02002-16. doi: 10.1128/JVI.02002-16.
- Plotnikov, V. A., Grebennikova, T. V., Dudnikova, E. K. et al. (2013). O rasprostraneni virusa lejkoza ptic v pticevodcheskih hozjajstvah Rossijskoj Federacii. *Sel'skohochozjajstvennaja biologija*, 6, 36–42. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/o-rasprostraneni-virusa-leykoza-ptits-v-ptitsevodcheskih-hozyaystvah-na-territorii-rossii/viewer> (in Russian).
- Rubin, H. (2011). The early history of tumor virology: Rous, RIF, and RAV. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(35), 14389–14396. doi: 10.1073/pnas.1108655108.
- Soujanya, S, Lakshman, M., & Madhuri, D. (2019). Occurrence of lymphoid leukosis in chicken. *The Pharma Innovation Journal*, 8(1), 159–162. URL: <https://www.thepharmajournal.com/archives/2019/vol8issue1/PartC/7-12-87-759.pdf>.
- Tsang, S. X., Switzer, W.M., Shanmugam, V. et al. (1999). Evidence of avian leukosis virus subgroup E and endogenous avian virus in measles and mumps vaccines derived from chicken cells: investigation of transmission to vaccine recipients. *J Virol*, 73(7), 5843–5851. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC112645>.
- Vahrusheva, T. I. (2020). Osobennosti patomorfologicheskikh projavlenij hronicheskogo mieloidnogo lejkoza u kur. *Vestnik KrasGAU*, 1(154), 62–75. doi: 10.36718/1819-4036-2020-1-62-75 (in Russian).