# ЗООТЕХНИЯ, БИОЛОГИЯ И ВЕТЕРИНАРНАЯ МЕДИЦИНА

УДК 619.9.097:575 DOI 10.34677/0021-342x-2019-6-49-61

Известия ТСХА, выпуск 6, 2019

# ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МОНО– И ДИЗИГОТНОСТИ У ПОТОМКОВ ЧЕТЫРЕХ ВИДОВ ЖВАЧНЫХ ЖИВОТНЫХ

Н.С. МАРЗАНОВ<sup>1\*</sup>, Е.А. КОРЕЦКАЯ<sup>2</sup>, С.Н. МАРЗАНОВА<sup>3</sup>, Е.Б. ШУКЮРОВА<sup>4</sup>, Л.К. МАРЗАНОВА<sup>1</sup>, Д.А. ДЕВРИШОВ<sup>3</sup>

(1 Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр животноводства-ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», 
2 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверская государственная сельскохозяйственная академия, 
3 Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина-МВА, 
4 Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научно-исследовательский институт сельского хозяйства»)

Впервые на большом материале проведены исследования по диагностике моно- и дизиготных ягнят, козлят и телят четырех видов жвачных животных (n=749): овец, коз, крупного рогатого скота и яков. Зиготность устанавливали с помощью 15-17 моноспецифических сывороток-реагентов у овец; 31 козьей сыворотки-реагента (C1-C31) и 10 овечьих реагентов у коз и от 20 до 60 реагентов у крупного рогатого скота и яков. Определение систем групп крови проводили с помощью двух классических иммунологических реакций: гемолиза и агглютинации.

Всего было исследовано 483 ягненка двойневого, тройневого и четвертневого происхождения. Из них 381 ягненок принадлежал к тонкорунным, полутонкорунным и грубошерстным породам овец. Полученные результаты сравнивали с результатами исследований 102 ягнят романовской породы. У овец наибольшее количество монозиготных ягнят было получено от овцематок романовской породы (7,9%). От маток других направлений продуктивности было получено 2,1% монозиготных ягнят. Встречаемость животных мозаиков составила у тонкорунных, полутонкорунных и грубошерстных пород 0,3%, у романовских овец — 2%. У коз все исследованные двойневые особи были дизиготными не мозаиками.

Одновременно проведен анализ по 188 двойням телят костромской, черно-пестрой и голитинской пород крупного рогатого скота, разводимых в Европейской и Дальневосточной части Российской Федерации и 10 ячатам. Независимо от породной принадлежности выявлены: 61 особь не мозаиков, 104—мозаиков и 23 монозиготы. Согласно полученным данным по якам, все ячата оказались двойнями не мозаиками.

Исходя из полученных материалов исследований четырех видов жвачных животных, чаще всего двойни не мозаики отмечались у всех трех исследованных пород коз, тонкорунных, полутонкорунных и грубошерстных пород овец. Монозиготные ягнята устанавливали у многоплодной романовской, затем остфризской и тексельской полутонкорунных породах овец. У костромской и черно-пестрой пород крупного рогатого скота, среди разнополых двоен чаще всего выявлялись мозаики, что характерно для данного вида жвачных животных.

Считаем, монозиготные особи являются клонированными животными в естественных условиях среды. В медицинской генетике широко применяется близнецовый метод,

в то время как в животноводстве Российской Федерации он не получил должного внимания. Создание коллекций двоен по жвачным животным позволит разработать близнецовый метод для проведения точных биологических исследований, используя их в качестве модельных животных.

**Ключевые слова:** овцы, козы, крупный рогатый скот, як, породы, двойни, моно- и дизиготы, группы крови.

### Введение

Известно, что одной из значимых форм повышения многоплодия животных является тип его рождения. Двойневость служит тем фактором, который способствует увеличению выхода приплода. Известно, что с возрастом у некоторых маток увеличивается плодовитость. Зачастую на многоплодие женских особей оказывает действие подбор производителя к маткам с учетом возраста животного. На повышение многоплодия маток оказывает влияние тип рождения потомства в первом ягнении, козлении или отеле, а также отбор двоен из однополых и разнополых помётов. В последние годы установлены гены-плодовитости, ответственные за данный признак. Например, у овец, благодаря гену бурула, в Австралии создана мериносовая порода с аналогичным названием. В ряде стран мира сформированы многоплодные популяции из малоплодных видов животных.

Различают монозиготные и дизиготные двойни. Монозиготные двойни — это индивиды, выросшие из одной зиготы, разделившейся на ранних стадиях дробления на две части. С генетической точки зрения они обладают идентичными генотипами. Такие ягнята (синонимы — близнецы, однояйцевые, идентичные) всегда однополы и внешне очень сходны. Все различия между ними связывают с влиянием условий жизни. Причина появления монозиготных двоен до сих пор неизвестна [1; 4].

И наоборот, дизиготные двойни (синонимы – двойни, двуяйцевые, неидентичные) возникают в результате оплодотворения двух яйцеклеток, развивающихся в течение одной беременности. С генетической точки зрения они сходны, имеют в среднем 50% идентичных генов, однако отличаются от обычных сибсов значительно большей общностью факторов среды (как пре-, так и постнатальных). Дизиготные двойни могут быть как однополыми, так и разнополыми. Обычно дизиготность обнаруживается сравнительно легко по различию антигенов групп крови у изучаемых двоен [1; 7].

Явление монозиготности определить сложней, поскольку у заведомо дизиготных двоен зачастую наблюдается сходство эритроцитарных антигенов. Данное явление получило название эритроцитарной мозаики. Подобное сходство связано с тем, что у дизиготных двоен антигенный состав крови одинаков. Причиной такого явления является формирование кровеносных анастомозов в период эмбрионального развития плодов в утробе матери. Различие типа крови у таких двоен проводят по учету интенсивности гемолитических реакций или путем цитогенетического анализа кариотипа животного, или с использованием сразу обоих методов. Сюда же привлекаются и характеристики морфологических признаков. Данное явление получило название генетического химеризма. Таким образом, генетический химеризм — это состояние, когда в одном организме могут находиться органы или клетки с различными ДНК и группами крови.

Цель и задачи исследований – диагностика моно- и дизиготных двоен с использованием групп крови, рожденных в многоплодных пометах овец, коз, крупного рогатого скота и яков.

#### Методика исследования

Образцы цельной крови брали у 749 потомков четырех видов жвачных животных: овец, коз, крупного рогатого скота и яков.

На долю овец приходилось 483 ягненка двойневого, тройневого и четвертневого происхождения, принадлежащих породам различной продуктивной направленности. Из них 102 потомка были романовской породы и 381 ягненок от тонкорунных, полутонкорунных и грубошерстных пород овец.

По козам исследованиями было охвачено 68 козлят. Из них 36 были однополыми и 32 разнополыми. Все исследованные потомки принадлежали зааненской, альпийской и нубийской породам коз.

Телята в количестве 188 голов принадлежали трем породам: костромской (n=88), черно-пестрой (n=86) и голштинской (n=14). По якам всего было исследовано 10 телят.

Диагностику моно- и дизиготности ягнят у овец проводили по 15–17 моноспецифическим сывороткам-реагентам, вскрывающим эритроцитарные антигены 7 систем групп крови (A, B, C, D, R, M, I).

У козлят анализ групп крови осуществляли по 31 козьей моноспецифической сыворотки-реагента ( $C_1$ - $C_{31}$ ) и 10 – овечьим (анти-Aa, – Bb, – Bd, – Be, – Bi, – Bg, – Ca, – Ma, – Mb, – R).

Цельную кровь у телят костромской, черно-пестрой и голштинской пород крупного рогатого скота и яков анализировали по 20–60 моноспецифическим сывороткам-реагентам, выявляющим эритроцитарные антигены 10 систем групп крови (4).

Определение антигенов систем групп крови проводили по общепринятым методикам с помощью реакций гемолиза и агглютинации у овец; реакции гемолиза у пород коз, крупного рогатого скота и яков. Для реакции гемолиза в качестве комплемента использовали свежую кроличью сыворотку. Перед постановкой реакции гемолиза у овец и коз используемая свежая кроличья сыворотка в качестве комплемента, абсорбировалась отмытыми эритроцитами от нескольких исследуемых животных каждого вида. Обычно соотношение отмытых эритроцитов и свежей кроличьей сыворотки составляло 1:4 [3].

# Результаты и их обсуждение

Для определения зиготности были установлены антигены 7 систем групп крови у 483 ягнят различного происхождения. Из 483 ягнят 102 были получены от овцематок романовской породы из Владимирской, Ивановской, Калужской и Ярославской областей. По своему происхождению они были из однополых и разнополых двоен, троен и четверень (табл. 1).

Из 483 ягнят 381 голова была двойневого и тройневого происхождения. Из них оказалось 196 голов однополых и 158 разнополых двоен, а также 27 ягнят тройневого происхождения. В сумме из 381 ягненка 372 потомка оказались дизиготными не мозаиками, один — мозаиком и 8 — монозиготными особями. Исследованные ягнята из этой группы представляли следующие породы Российской Федерации, Республики Казахстан и Республики Молдова: кавказская, каракульская, остфризская, североказахстанская полутонкорунная, тексель, финский ландрас, цигайская, а также помеси различного происхождения (остфриз х цигай и цигай х остфриз различного поколения). По происхождению все они принадлежали к тонкорунным, полутонкорунным и грубошерстным породам овец (табл. 1).

В результате проведенных исследований крови 102 ягнят романовской породы из различных пометов установлено наличие 8-ми потомков монозиготного происхождения, или у 7,9%. Что касается 8 монозигот (2,1%) из 381 ягненка, то они были получены от овцематок многоплодных полутонкорунных пород. Из тонкорунных, полутонкорунных и грубошерстных исследованных популяций фактор монозиготности больше всего встречался у многоплодных пород овец полутонкорунного направления продуктивности: текселей и остфризов. Что касается романовских маток, то они превосходили по рождаемости монозигот все исследованные породы овец.

Частота встречаемости химерных животных составила у всех тонкорунных, полутонкорунных и грубошерстных пород вместе взятых 0,3%, у романовских овец – 2%. Исходя из приведенных сведений, число ягнят-мозаиков больше среди представителей многоплодных пород.

Дизиготные близнецы-мозаики обладали одинаковыми типами крови, при этом степень гемолиза эритроцитов с некоторыми реагентами была различной. Моноспецифическая сыворотка-реагент лизировала то количество эритроцитов, у которых присутствовал соответствующий фактор крови химерного животного.

Таблица 1 Встречаемость моно- и дизиготных потомков у различных видов и пород жвачных животных

Исследовано ягнят		Из них					
	n	Дизиготных		Maurana			
		Не мозаиков	Мозаиков	Монозиготных			
1	2	3	4	5			
Ягнята романовской породы							
Однополых двоен	38	30	-	8			
Разнополых двоен	32	32	-	-			
Однополых троен	3	3	-	-			
Разнополых троен	25	23	2	-			
Разнополых четверень	4	4	-	-			
Итого	102	92	2	8			
Ягнята тонн	орунных, п	олутонкорунных и гр	убошерстных пород				
Однополых двоен	196	188		8			
Разнополых двоен	158	157	1	-			
Однополых троен	27	27	-	-			
Разнополых троен	-	-	-	-			
Итого	381	372	1	8			

1	2	3	4	5
Всего	483	464	3	16
	Кс	эзлята разных пород		
Однополых двоен	36	36	-	-
Разнополых двоен	32	32	-	-
Итого	68	68	-	-
	К	рупный рогатый скот		
Телята костр	омской пород	ы Европейской части	ı Российской Федера	ции
Однополых двоен	40	38	-	2
Разнополых двоен	48	3	45	-
Итого	88	41	45	2
Телята черно-	пестрой пород		и Российской Федера	ации
Однополых двоен	58	10	40	8
Итого	58	10	40	8
Телята черно-пестр	ой породы из	Дальневосточного р	егиона Российской Ф	едерации
Однополые двойни	21	6	9	6
Разнополые двойни	5	1	4	-
Однополые тройни	2	-	-	2
Итого:	28	7	13	8
Телята голштинско	ой породы из Д		гиона Российской Фе	едерации
Однополые двойни	10	3	2	5
Разнополые двойни	4	-	4	-
Итого	14	3	6	5
	1	Телята яков		
Однополых двоен	10	10	-	-
Итого	10	10	-	-
Всего	749	603	107	39

Таким образом, объясняется частичный лизис эритроцитов у дизиготных двоен-мозаиков в отличие от дизиготных не мозаиков, у которых отсутствует феномен мозаицизма. В отличие от дизиготных двоен, монозиготные ягнята имели одинаковый тип крови.

Из 483 двоен, только в трех случаях удалось нам диагностировать феномен мозаицизма крови. Полученные нами данные, а также анализ работ различных авторов, работающих с многоплодными потомками, говорят о редкой встречаемости такого биологического явления, как получение химерных овец. Возможно, это связано с особенностью строения провизорных органов у вида Ovis, формируемых между плодами в утробе матери. Было также отмечено, чем выше уровень многоплодия у той или иной породы овец, тем выше вероятность получения монозиготных ягнят, а также дизиготных потомков-мозаиков.

По материалам различных авторов, с помощью кариологического метода показано, что у разнополых двоен овец частота встречаемости химеризма колеблется от 4.8% [18] до 25,14% [10].

На основе исследований групп крови, частота встречаемости монозиготных двоен у овец колеблется от 0 до 10,4%. С учетом плодовитости пород овец, результаты выглядят следующим образом: у многоплодных -1:100, у малоплодных -1:1000, т.е. разница на порядок выше, десятикратная. Бесплодность вследствие фримартинизма у разнополых близнецов не превышает 0,8-1% и объясняется тем, что межэмбриональные анастомозы у овец при многоплодии - явление очень редкое. Однако оно является частым явлением у крупного рогатого скота [25; 17; 9].

Причиной фримартинизма служит раннее созревание половых органов у мужской половины двойни и поступление крови через анастомозы от мужского к женскому эмбриону. В результате комплексного действия полдетерминирующего белка, ген которого находится на Y хромосоме (SRY, sex-determining Region Y), антимюллерова гормона (Mullerian inhibiting substance, MIS) и тестостерона, происходит анормальное развитие половых органов у женской половины двойни [13; 14; 15; 26].

Среди исследованных козлят зааненской, альпийской, нубийской пород не были выявлены монозиготные и химерные потомки. Иммуногенетический анализ 68 однополых и разнополых козлят показал отсутствие явления мозаицизма в крови. Судя по полученным результатам, у коз явления мозаицизма, химеризма и монозиготности являются таким же редким биологическим явлением, как у овец. Данные материалы подтверждаются исследованиями различных авторов. По результатам индийских авторов встречаемость химеризма у коз составляет около 1% [27].

Польские ученые хоть и выявили мозаицизм у коз, однако не приводят частоту встречаемости среди разводимых пород в стране. Тем не менее, они констатируют, что наиболее эффективным способом диагностики химеризма у коз является как иммуногенетический, так и цитогенетические методы исследований [23].

Крупный рогатый скот относится к категории малоплодных животных. Работами Owen R.D. [20], Owen R.D. et al. [21] была показана одна особенность — частая встречаемость среди дизиготных телят мозаиков у крупного рогатого скота. Авторы были близки к раскрытию явления иммунной толерантности двоен при пересадке органов от одного животного к другому, как это показали П.Б. Медавар и М. Бернет, за что получили Нобелевскую премию в 1960 году. Однако нужно было еще 16 лет для данного открытия, авторы не пошли дальше характеристики моно — и дизиготных двоен.

Проведенный анализ 188 телят костромской, черно-пестрой и голштинской породы из различных пометов и регионов Российской Федерации показал, что среди разнополых двоен чаще всего выявлялись мозаики, а однополых – монозиготные

особи, что является видовой особенностью у крупного рогатого скота. Так, среди исследованных телят крупного рогатого скота, независимо от породы, была выявлена 61 особь не мозаиков, 104 – мозаиков и 23 монозиготы.

Конкретные исследования показали, что телята костромской породы из Европейской части Российской Федерации в количестве 38 голов оказались дизиготными не мозаиками, одна пара — близнецами, т.е. монозиготными особями. Что касается разнополых двоен, то из 48 телят три (6,3%) были дизиготными не мозаиками, 45 — мозаиками (93,8%). У черно-пестрой породы из Европейской части России 58 исследованных телят 10 (17,2%) оказались дизиготными не мозаиками, 40 (69%) — дизиготными мозаиками, 8 (13,8%) — монозиготными. По якам, все 5 пар ячат оказались двойнями не мозаиками (4).

Аналогичная ситуация обнаруживается у представителей черно-пестрой и голштинской популяций Дальнего Востока. Так, в отдельных хозяйствах Дальнего Востока [СПК (Агрофирма «Восточное») Хабаровского края] по черно-пестрой породе число многоплодных животных составило 83 или 2,8% коровы из 2964 голов. По голштинской породе (СПК «Заря» Хабаровского края) эти данные были равны 16 или 1,9% из 840 коров.

По частоте встречаемости, среди 28 телят черно-пестрой популяции, число не мозаиков составило 7 голов (25%), мозаиков 13 (46,4%) и 8 (28,6%) монозиготных особей. Из 14 телят голштинской породы оказалось: 3(21,4%) – не мозаиков; 6(42,9%) – мозаиков и 5(35,7%) монозиготных двоен.

По данным различных авторов, у мясных пород крупного рогатого скота встречаемость фактора многоплодия составляет около 1%, тогда как у молочных пород выше и равняется приблизительно 5% [12; 26]. Вместе с тем, с учетом влияния возраста животного, эти результаты выглядят следующим образом: от 1% для нетелей до 10% — у старых коров [16; 8]. Для сравнения, такие мясные породы, как абердин-ангусская приносят одну двойню телят на 100 отелов, герефордская — одну пару близнецов на 250 отелов [22].

В Российской Федерации возникает необходимость организации коллекций моно – и дизиготных двоен у различных видов сельскохозяйственных животных. Наличие таких уникальных животных позволит стандартизировать результаты проводимых экспериментов. Так, в селекционной работе значительный интерес представляют двойни для оценки сразу двух баранов по качеству ягнят, полученных от одной овцематки после осеменения ее смешанной спермой двух производителей. При данном методе увеличивается достоверность оценки баранов-производителей, уменьшается количество маток необходимых для проведения испытаний.

В экспериментах по оценке влияния различных факторов на величину удоя у крупного рогатого скота, одна пара монозигот может заменить 22 коровы, на содержание жира в молоке — 15 голов. В исследованиях по учету годовой продукции молочного жира или казеина, эффективность использования одной пары монозигот приравнивается к 54 и 50 животным соответственно; динамики живой массы — 26 и скорости роста — 13 головам [19; 2]. Следует отметить, монозиготные двойни являются клонированными животными, полученными в естественных условиях среды.

#### Заключение

В медицинской генетике широко применяется близнецовый метод. Разведением и изучением явления моно — и дизиготности у различных видов животных занимаются в ряде стран мира (США, Польша, Индия и многие другие) [2; 24; 27; 11; 4; 5; 6; 7]. Такой подход облегчает проведение многих, ставших классическими

экспериментов. Создание коллекций монозиготных и дизиготных двоен позволит разработать близнецовый метод для проведения точных биологических исследований в животноводстве, используя их в качестве модельных животных, связанных с кормлением, формированием шерстной и молочной продуктивности, становлением иммунитета организма, решением важных проблем по вопросам генной инженерии, получением трансгенных и клонированных животных. Наличие моно – и дизиготных потомков имеет важное значение для организации и проведения совместных биомедицинских работ, таких как пересадка органов, изучение явления дистоции (патологических родов), изучение формирования признаков продуктивности и осуществление ряда других технологических решений в животноводстве.

# Библиографический список

- 1. Бочков Н.П., Захаров А.Ф., Иванов В.И. Медицинская генетика. М.: Медицина, 1984. 366 с.
- 2. Ватти К.В. Некоторые проблемы генетики животных. Актуальные вопросы современной генетики: Под ред. С.И. Алиханяна. М.: Изд-во МГУ, 1966. С. 131–142.
- $3.\,Mарзанов\,H.C.\,$  Иммунология и иммуногенетика овец и коз. Кишинев. «Штиинца», 1991.-238 с.
- 4. Марзанов Н.С., Насибов М.Г., Марзанова Л.К., Букаров Н.Г., Кленовицкий П.М., Баранова Н.С., Канатбаев С.Г., Петров С.Н. Моно- и дизиготность у различных видов жвачных животных // Сельскохозяйственная биология. -2006. -№ 6. С. 15–20.
- 5. Марзанов Н.С., Лушников В.П., Марзанова Л.К., Комкова Е.А., Марзанова С.Н., Астафьева Е.Е. Классификатор для оценки аллелофонда овец романовской породы по различным типам генетических маркеров. Саратов. ИЦ «Наука», 2017. 35 с.
- 6. Марзанова Л.К., Насибов М.Г., Петров С.Н., Марзанов Н.С., Канатбаев С.Г., Баранова Н.С. Встречаемость однояйцовых и двуяйцовых близнецов у различных видов животных. Материалы XI междунар. научно-практ. конф. посвященной 75-летию каф. разведения и генетики с.-х. животных УО «БГСХА»: Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. Беларусь, Горки, 2008. С. 177–182.
- 7. Марзанова Л.К., Марзанов Н.С., Корецкая Е.А., Марзанова С.Н., Новикова Л.Ф., Малюченко О.П., Люцканов П.И. Диагностика моно- и дизиготных ягнят у различных пород овец. Материалы международной научно-практической конференции на тему: «Повышение конкурентоспособности животноводства и задачи кадрового обеспечения». Быково, 2018. С. 90–98.
- 8. Des Coteaux L., Gnemmi G., Colloton J. Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography. Blackwell Publishing. Ames. Iowa. USA, 2010. 244 p.
- 9. *Hojny J., Stratil A.* Report on the pig and sheep blood groups and polymorphic protein workshops. Libechov // Anim. Blood Groups Biochem. Genet. 1978. Vol. 9. N4. P. 245–251.
- 10. Keszka J., Jaszczak K., Klewiec J. High frequency of lymphocyte chimerism XX/XY and an analysis of hereditary occurrence of placental anastomoses in Booroola sheep // J. Anim. Breed. Genet. 2001. Vol. 118. P. 135–140.
- 11. *Kirkpatrick B.W.* Management of twinning cow herds // J. Anim. Sci. 2002. Vol. 80 (E. Suppl. 2). E14–E18.
- 12. *Komisarek J., Dorynek Z.* Genetic aspects of twinning in cattle. Review article // J. Appl. Genet. 2002. Vol. 43(1). P. 55–68.
- 13. *Kozubska-Sobocińska A., Słota E., Pieńkowska A.* The application of FISH technique fordiagnosing leukocytechimerism in sheep//Med. Weter. 2003. Vol. 59. P. 987–989.

- 14. *Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B., Slota E., Sysa P.S.* New aspects of degenerative changes in reproductive system of freemartin heifers // Ann. Anim. Sci. 2011. Vol. 11. P. 229–239.
- 15. Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B., Rejduch B. Cytogenetic and molecular diagnostics of XX/XY chimerism in cattle, sheep, and goats a review // Ann. Anim. Sci. 2016. DOI: 10.1515/aoas-2016–0028
- 16. *López-Gatius F., Hunter R.H.* Spontaneous reduction of advanced twin embryos: its occurrence and clinical relevance in dairy cattle // Theriogenology. 2005. Vol. 63. P. 118–125.
- 17. Makino S., Muramoto J., Ishikava T.S. Notes on XX/XY mosaicism in cells of various tissues of heterosexual twins of cattle // Proc. Japan. Acad. 1965. Vol. 41. N.5. P. 414–418.
- 18. Matejka M., Cribiu E.P., Ricordeau G., Chaffaux S. Frequence du freemartinisme chez des agnelles Romanov // Rec. Med. Vet. 1987. Vol. 163. P. 635–638.
- 19. Osterhoff D.R. Twins are ideal experimental animals // Farms in S. Afr. 1961. Vol. 37. P. 33–35; P. 37–39.
- 20. Owen R.D., Stormont C., Irwin M.R. Differences in frequency of cellular antigens in two breeds of dairy cattle // J. Animal Science. 1944. Vol. 3. P. 315–321.
- 21. Owen R.D. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins // Science. 1945. Vol. 102. N.102. P. 400–401.
- 22. Rutledge J.J. Twinning in cattle // J. Animal Science. 1975. Vol. 40. P. 803–815.
- 23. Rychlik T., Kozubska-Sobocinska A., Rejduch B., Sikora J. The phenomenon of cell chimerism in goats // Vet. Med. Czech. 2005. Vol. 50(7). P. 311–314.
- 24. *Slota E., Zur F., Duniec M.* Badania immunogenetyczne i cytogenetyczne owies pochodzacych c ciazy blizniaczych i mnogich // Rocz. Nauk. Zoot. 1985. T.12. Z.1. S. 23–28.
- 25. Stansfield W.D., Bradford G.E., Stormont C., Blaekwell R.L. Blood groups and their associations with production and reproduction in sheep // Genetics. Princeton. 1964. Vol. 50. P. 1357–1367.
- 26. Szczerbal I., Kociucka B., Nowacka-Woszuk J., Lach Z., Jaskowski J.M., Świtonski M. A high incidence of leukocyte chimerism (60, XX/60, XY) in single born heifers culled due to underdevelopment of internal reproductive tracts // Czech J. Anim. Sci. 2014. Vol. 59. P. 445–449.
- 27. Yadav B.R., Singh C., Kumar P., Tomer O.S., Yadav J.S. Morphological, anatomical and cytogenetical investigations in sexually anomalous goats // Small Ruminants Research. 1993. Vol. 11. P. 331–342.

# IMMUNOGENETIC DIAGNOSIS METHOD TO DETECT MONOZYGOSITY AND DIZYGOSITY IN PROGENY OF FOUR RUMINANT SPECIES

N.S. MARZANOV<sup>1</sup>, YE.A. KORETSKAYA<sup>2</sup>, S.N. MARZANOVA<sup>3</sup>, YE.B. SHUKUROVA<sup>4</sup>, L.K. MARZANOVA<sup>1</sup>, D.A. DEVRISHOV<sup>3</sup>

(<sup>1</sup> Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, <sup>2</sup> Tver State Agricultural Academy, <sup>3</sup> Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology – K.I. Skriabin MVA, <sup>4</sup> Far East Agriculture Research Institute

The diagnosis survey for monozygotic and dizygotic lambs, kids, and calves produced from the four ruminant species (n = 749) with the use of a bulk data collection has been carried out

for the first time. Zygosity was determined using 15–17 monospecific serum reagents in sheep, 31 goat serum reagents (C1–C31), 10 sheep reagents in goats, and the reagents of cattle and yaks in the range of 20 to 60. The test to determine the blood group systems was performed with the activation of two cllassical reactions of immune hemolysis and agglutination.

The authors analyzed 483 twins and triplet- and quadruplet-born lambs. Hence, 381 lambs were assigned to the fine-wool, semi-fine-wool, and coarse-wool sheep breeds. The results obtained were compared with the results for 102 lambs of the Romanov breed. In sheep, the largest proportion of the monozygotic lambs (7.9%) was produced from the Romanov ewes. The ewes categorized by other types of their productive performance produced 2.1% monozygotic lambs. The occurrence of the mosaic animals in the fine wool, semi-fine-wool, and coarse-wool sheep comprised 0.3%, while it achieved 2% in the Romanov sheep. In goats, all the analyzed twins were dizygotic non-mosaic twin pairs.

At the same time, the authors analyzed 188 twins of the Kostroma, Black-Motley and Holstein cattle breeds kept in the European and Far Eastern part of the Russian Federation and 10 yak calves. Regardless of the pedigree affiliation, 61 individuals were non-mosaics, 104 – mosaics and 23 – monozygotes. All the yak calf pairs were twins, non-mosaic specimens.

The data derived from the surveys of the four ruminant animal species showed that the non-mosaic twins occurred more often in all of the analyzed goat and sheep breeds producing fine wool, semi-fine wool, and coarse wool. The monozygotic lambs were recorded in the multiporous Romanov sheep, then, in the East Friesian sheep, and the Texel semi-fine wool sheep. Among the heterosexual twins produced by the Kostroma, Black-Motley and Holstein cattle breeds, the mosaics were mostly recorded; it is typical for these ruminant animal species.

The authors have concluded that the monozygotic specimens are clones developed under the natural effects of the environmental factors. The twin model is widely used in clinical genetics. However, little consideration has been given to the co-twin control method in the Russian Federation. Composing collections of twin ruminant animals can allow developing a twin-research model method to conduct accurate biological research, using the twins as model animals.

**Key words:** sheep, goat, cattle, yak, breeds, twins, mono- and dizigotes, blood groups.

#### References

- 1. *Bochkov N.P., Zakharov A.F., Ivanov V.I.* Meditsinskaya genetika [Medical genetics]. M.: Meditsina, 1984: 366. (In Russian)
- 2. *Vatti K.V.* Nekotoryye problemy genetiki zhivotnykh. Aktual'nyye voprosy sovremennoy genetiki [Some challenges of animal genetics] ed. by S.I. Alikhanyan. M.: Izd-vo MGU, 1966: 131–142. (In Russian)
- 3. *Marzanov N.S.* Immunologiya i immunogenetika ovets i koz [Immunology and immunogenetics of sheep and goats] Kishinev. "Shtiintsa", 1991: 238. (In Russian)
- 4. Marzanov N.S., Nasibov M.G., Marzanova L.K., Bukarov N.G., Klenovitskiy P.M., Baranova N.S., Kanatbayev S.G., Petrov S.N. Mono- i dizigotnost' u razlichnykh vidov zhvachnykh zhivotnykh [Monozygosity and dizygosity in different ruminant species] // Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. 2006; 6: 15–20. (In Russian)
- 5. Marzanov N.S., Lushnikov V.P., Marzanova L.K., Komkova Ye.A., Marzanova S.N., Astaf'yeva Ye.Ye. Klassifikator dlya otsenki allelofonda ovets romanovskoy porody po razlichnym tipam geneticheskikh markerov [Classifier for the estimation of the Romanov sheep allele pool by different types of genetic markers]. Saratov. ITS "Nauka", 2017: 35. (In Russian)
- 6. Marzanova L.K., Nasibov M.G., Petrov S.N., Marzanov N.S., Kanatbayev S.G., Baranova N.S. Vstrechayemost' odnoyaytsovykh i dvuyaytsovykh bliznetsov u razlichnykh vidov zhivotnykh [Incidence of monovular and binovular twins in different animal

- species]. // Materialy XI mezhdunar. nauchno-prakt. konf. posvyashchennoy 75-letiyu kaf. razvedeniya i genetiki s.-kh. zhivotnykh UO "BGSKHA": Aktual'nyye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva. Belarus', Gorki, 2008: 177–182. (In Russian)
- 7. Marzanova L.K., Marzanov N.S., Koretskaya Ye.A., Marzanova S.N., Novikova L.F., Malyuchenko O.P., Lyutskanov P.I. Diagnostika mono- i dizigotnykh yagnyat u razlichnykh porod ovets [Diagnostics of monozygous and dizygous lambs in different sheep breeds]. // Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii na temu: "Povysheniye konkurentosposobnosti zhivotnovodstva i zadachi kadrovogo obespecheniya". Bykovo, 2018: 90–98. (In Russian)
- 8. Des Coteaux L., Gnemmi G., Colloton J. Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography. Blackwell Publishing. Ames. Iowa. USA, 2010: 244. (In English)
- 9. *Hojny J., Stratil A.* Report on the pig and sheep blood groups and polymorphic protein workshops. Libechov // Anim. Blood Groups Biochem. Genet. 1978; 9; 4: 245–251. (In English)
- 10. Keszka J., Jaszczak K., Klewiec J. High frequency of lymphocyte chimerism XX/XY and an analysis of hereditary occurrence of placental anastomoses in Booroola sheep // J. Anim. Breed. Genet. 2001; 118: 135–140. (In English)
- 11. *Kirkpatrick B.W.* Management of twinning cow herds // J. Anim. Sci. 2002; 80 (E. Suppl. 2). E14–E18. (In English)
- 12. Komisarek J., Dorynek Z. Genetic aspects of twinning in cattle. Review article // J. Appl. Genet. 2002; 43(1): 55–68. (In English)
- 13. *Kozubska-Sobocińska A., Slota E., Pieńkowska A.* The application of FISH technique for diagnosing leukocyte chimerism in sheep // Med. Weter. 2003; 59: 987–989. (In English)
- 14. *Kozubska-Sobocińska A., Rejduch B., Slota E., Sysa P.S.* New aspects of degenerative changes in reproductive system of freemartin heifers // Ann. Anim. Sci. 2011; 11: 229–239. (In English)
- 15. Kozubska-Sobocińska A., Danielak-Czech B., Rejduch B. Cytogenetic and molecular diagnostics of XX/XY chimerism in cattle, sheep, and goats a review // Ann. Anim. Sci. 2016. DOI: 10.1515/aoas-2016–0028 (In English)
- 16. *López-Gatius F., Hunter R.H.* Spontaneous reduction of advanced twin embryos: its occurrence and clinical relevance in dairy cattle // Theriogenology. 2005; 63: 118–125. (In English)
- 17. Makino S., Muramoto J., Ishikava T.S. Notes on XX/XY mosaicism in cells of various tissues of heterosexual twins of cattle // Proc. Japan. Acad. 1965; 41; 5: 414–418. (In English)
- 18. Matejka M., Cribiu E.P., Ricordeau G., Chaffaux S. Frequence du freemartinisme chez des agnelles Romanov // Rec. Med. Vet. 1987; 163: 635–638. (In English)
- 19. Osterhoff D.R. Twins are ideal experimental animals // Farms in S. Afr. 1961; 37: 33–35; 37–39. (In English)
- 20. Owen R.D., Stormont C., Irwin M.R. Differences in frequency of cellular antigens in two breeds of dairy cattle // J. Animal Science. 1944; 3: 315–321. (In English)
- 21. Owen R.D. Immunogenetic consequences of vascular anastomoses between bovine twins // Science. 1945; 102; 102: 400–401. (In English)
  - 22. Rutledge J.J. Twinning in cattle // J. Animal Science. 1975; 40: 803–815. (In English)
- 23. Rychlik T., Kozubska-Sobocinska A., Rejduch B., Sikora J. The phenomenon of cell chimerism in goats // Vet. Med. Czech. 2005; 50(7): 311–314. (In English)
- 24. *Slota E., Zur F., Duniec M.* Badania immunogenetyczne i cytogenetyczne owies pochodzacych c ciazy blizniaczych i mnogich // Rocz. Nauk. Zoot. 1985; 12; 1: 23–28. (In English)

- 25. Stansfield W.D., Bradford G.E., Stormont C., Blaekwell R.L. Blood groups and their associations with production and reproduction in sheep // Genetics. Princeton. 1964; 50: 1357–1367. (In English)
- 26. Szczerbal I., Kociucka B., Nowacka-Woszuk J., Lach Z., Jaskowski J.M. Świtonski M. A high incidence of leukocyte chimerism (60, XX / 60, XY) in single born heifers culled due to underdevelopment of internal reproductive tracts // Czech J. Anim. Sci. 2014; 59: 445–449. (In English)
- 27. Yadav B.R., Singh C., Kumar P., Tomer O.S., Yadav J.S. Morphological, anatomical and cytogenetical investigations in sexually anomalous goats // Small Ruminants Research. 1993; 11: 331–342. (In English)

**Марзанов Нурбий Сафарбиевич**, главный научный сотрудник лаборатории молекулярных основ селекции, доктор биологических наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр животноводства-ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», 142132, Московская область, городской отдел Подольск, пос. Дубровицы, дом 60. Электронный адрес: nmarzanov@yandex.ru. Моб. тел.: +7-915-353-45-72.\*

**Корецкая Елена Алексеевна**, доцент кафедры биологии животных, зоотехнии и основ ветеринарии, кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тверская государственная сельскохозяйственная академия»; 170904, Россия, г. Тверь, пос. Сахарово, ул. Маршала Василевского, 7. Электронный адрес: elenakoreckaya8@mail.ru. Моб.тел.: +7-910-631-51-79.

Марзанова Саида Нурбиевна, доцент кафедры иммунологии и биотехнологии, кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина-МВА», 109472, Россия, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23. Электронный адрес: s.marzanova@mail.ru. Моб.тел.: +7-926-813-71-47.

**Шукюрова Елена Борисовна**, заведующая лабораторией иммуногенетической экспертизы, кандидат биологических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Дальневосточный научно-исследовательский институт сельского хозяйства». 680521, Россия, Хабаровский край, Хабаровский район, с. Восточное, ул. Клубная, 13. Электронный адрес: dvniishimgen@mail.ru. Моб. тел.: +7-914-379-65-55.

Марзанова Лидия Каплановна, ведущий специалист лаборатории молекулярных основ селекции, кандидат биологических наук, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр животноводства-ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», 142132, Россия, Московская область, городской отдел Подольск, пос. Дубровицы, дом 60. Электронный адрес: nmarzanov@yandex.ru. Моб. тел.: +7-916-794-87-56.

Девришов Давуд Абдулсемедович, заведующий кафедрой иммунологии и биотехнологии, доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени К.И. Скрябина-МВА», 109472, Россия, г. Москва, ул. Академика Скрябина, д. 23. Электронный адрес: davud@agrovet.ru. Моб. тел.: 8-925-740-24-09.

- **Nurbiy S. Marzanov**, DSc (Bio), Professor, Chief Research Associate, the Laboratory for Molecular Fundamentals of Selection, Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry; Dubrovitsy, 60, Podolsk, Moscow region, 142132, Russia. E-mail: nmarzanov@yandex.ru. Phone: +7-915-353-45-72.
- **Yelena A. Koretskaya**, PhD (Bio), Associate Professor, the Department of Animal Biology, Zootechny, and Veterinary, Tver State Agricultural Academy; Marshala Vasilevskogo Str., 7, Sakharovo, Tver, 170904 Russia. E-mail: elenakoreckaya8@mail.ru. Phone: +7-910-631-51-79.
- **Saida N. Marzanova**, PhD (Bio), Associate Professor, the Department of Immunology and Biotechnology, Skriabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology; Akademika Skriabina Str., 23, Moscow, 109472 Russia. E-mail: s.marzanova@mail.ru. Phone: +7-926-813-71-47.
- Yelena B. Shukyurova, PhD (Bio), Associate Professor, Head of the Laboratory for Immunogenetic Expertise, Far East Research Institute of Agriculture; Klubnaya Str., 13, Vostochnoye, Khabarovsk district, Khabarovsk region, 680521 Russia. E-mail: dvniishimgen@mail.ru. Phone: +7-914-379-65-55.
- **Lidia K. Marzanova**, PhD (Bio), Key Expert, the Laboratory for Molecular Fundamentals of Selection, Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry; Dubrovitsy, 60, Podolsk, Moscow region, 142132, Russia. E-mail: nmarzanov@yandex.ru. Phone: +7-915-353-45-7256.
- **Davud A. Devrishov**, Corresponding Member, the Russian Academy of Sciences, DSc (Bio), Professor, Head, the Department of Immunology and Biotechnology, Skriabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology; Akademika Skriabina Str., 23, Moscow, 109472 Russia. E-mail: davud@agrovet.ru. Phone: +7-925-740-24-09.