

5. Влияние отдельных факторов на воспроизводительную способность и молочную продуктивность коров ярославской породы / О.К. Гогаев [и др.] // Известия Горского государственного аграрного университета. 2019. Т. 56. № 3. С. 58-63.

УДК 636.12

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ПРОИСХОЖДЕНИЯ ЛОШАДЕЙ

*Гладких Марианна Юрьевна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева E-mail: marianna@timacad.ru*

*Альрафи Рим - аспирант, факультет зоотехнии и биологии
ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева.
E-mail: reem.alrafi@mail.ru*

Аннотация: произведен анализ исследований, связанных с использованием молекулярных маркеров в генетическом анализе животных. Показано, что они обладают очевидным преимуществом перед обычными фенотипическими маркерами, так как они высоко полиморфны, более многочисленны, нейтральны к отбору, более стабильны и воспроизводимы и наименее подвержены влиянию факторов окружающей среды. Приведены данные об эффективности использования микросателлитов для характеристики генетического разнообразия и генетической структуры разных пород лошадей.

Ключевые слова: простые последовательные повторы, разработка и применение маркеров, коневодство, микросателлит, ПЦР.

Один из основных постулатов природоохранной генетики указывает, что сохранение и поддержание генетического разнообразия имеет ключевое значение для развития видов диких и домашних животных. При этом в настоящее время для оценки генетического разнообразия популяции начинают широко использовать различные генетические индексы, включая микросателлиты и митохондриальную ДНК [1].

За последние несколько десятилетий использование молекулярных маркеров играет все большую роль в генетике и в коневодстве. Термин микросателлиты, также короткие tandemные повторы (SSR или STRs), относится к классу кодоминантных ДНК-маркеров, которые наследуются по менделевской схеме. Термин микроспутник был впервые введен Литтом и Люти [2]. Микросателлиты являются высоко полиморфными и обильными последовательностями, рассеянными по большинству эукариотических ядерных геномов [2, 3]. Микросателлиты – это простые повторяющиеся последовательности ДНК, состоящие из 1-6 пар оснований, и их можно найти

как в кодирующих, так и в некодирующих областях, которые характеризуются высокой частотой мутаций [4]. По оценкам, частота мутаций этого типа генетического маркера составляет от 10^{-2} до 10^{-4} в каждом поколении. Основное преимущество микросателлитов как генетических маркеров состоит в том, что они наследуются менделевским способом как кодоминантные маркеры. Кроме того, высокие показатели полиморфизма, высокая численность и широкое распространение по всему геному сделали микросателлиты одним из самых популярных генетических маркеров для использования в селекционных программах и в характеристике разнообразия генетических ресурсов животных, что имеет важное значение для оптимизации стратегий сохранения и использования разных видов и пород. Микросателлиты могут быть использованы для определения генетической структуры популяции и взаимоотношений между особями [5], поскольку для сохранения популяций редких животных необходимо определение популяционных характеристик [1].

Микроспутники также используются для проверки происхождения и могут помочь сформировать научно обоснованные методики. Однако существуют значительные недостатки в использовании методов на основе микроспутников, включая относительно высокие затраты на разработку и технические проблемы при создании обогащенных библиотек и видоспецифичных праймеров. Метод *Inter simple sequence repeat (ISSR)* - это метод на основе ПЦР, описанный в работе Zietkiewicz, E. и других, который включает амплификацию сегментов ДНК между двумя идентичными областями повторения микросателлитов, ориентированными в противоположном направлении, с использованием праймеров, разработанных из областей ядра микросателлитов. Этот метод использует микросателлитные праймеры, обычно длиной 16-25 п.н., из динуклеотидных, тринуклеотидных, тетрануклеотидных или пентануклеотидных повторов для таргетирования нескольких геномных локусов.

Маркеры ISSR обеспечивают большой полиморфизм из-за отсутствия мутационных ограничений в межвидовых последовательностях повторов, поскольку они в значительной степени являются частью некодирующих областей генома. Благодаря этим свойствам ISSR маркеры в последнее время широко используются для дактилоскопии, филогенетического анализа, анализа структуры популяции, генетического картирования, поскольку они могут быть легко амплифицированы с помощью ПЦР и большого количества аллельных вариаций в каждом локусе.

Согласно рекомендациям FAO, определение классических генетических расстояний с использованием нейтральных, высокополиморфных микросателлитных маркеров является одним из основных методов для исследования генетических связей и дифференциации пород. Эта методология также дает информацию для установления приоритетов сохранения пород скота.

Митохондриальная ДНК наследуется от матери и также подвержена мутациям, поэтому полиморфизмы митохондриальной ДНК широко используются в филогенетическом и генетическом анализе разнообразия, а

также для идентификации материнских линий пород. Кроме того, митохондриальная ДНК является материнским наследственным маркером, который широко используется для оценки межвидовых и внутривидовых материнских отношений, поскольку митохондриальная ДНК подвержена мутациям и ее скорость эволюции в 5-10 раз превышает скорость эволюции ядерной ДНК.

Если проанализировать способы и методы, используемые в коневодстве для оценки происхождения животных, то в течение последних трех десятилетий регистрация и оценка происхождения лошадей основывались на проверке родословных записей и тестов на группу крови и белковый полиморфизм (типирование крови). Преимуществом использования данных тестов являлось быстрое получение надежных и достоверных результатов, а недостатком – необходимость предоставления для анализа только свежих образцов крови.

Новые, основанные на анализе ДНК, методики генетического маркерного тестирования с использованием технологии полимеразной цепной реакции (ПЦР) обеспечивают очевидную альтернативу типированию крови, в частности анализ коротких tandemных повторных локусов (STRs или микросателлитов).

Тесты STR требуют относительно небольшое количество биологического материала, не ограничиваются одним источником ткани и с помощью одного метода могут определять фенотипы в сотнях локусов. Использование иных биологических материалов, кроме крови, открывает новые потенциальные возможности в случаях, когда доступны только образцы замороженной ткани (мясо или спермы), мягких тканей, костей и зубов, а также позволяет проводить тестирование при редких заболеваниях крови или химеризме. Эффективность использования микросателлитных маркеров была задокументирована по результатам многих предыдущих популяционных генетических исследованиях лошадей. Так, например, сравнение четырех пород лошадей, каждая из которых была представлена пятью животными, показал, что ДНК-дактилоскопия может быть использована для определения различий между породами лошадей.

Микросателлиты у лошадей были впервые охарактеризованы Эллегреном и Кауркером и Марклундом и Кауркером, которые выделили набор (CA)N повторов и продемонстрировали, что у лошадей они отличаются высоким полиморфизмом. На сайте Международного общества генетики животных ISAG (International Society for Animal Genetics) представлено 9 микросателлитных маркеров (ANT04, HMS03, HMS06, HTG06, HTG07, LEX33, ASB2, HTG10, и VHL20) в качестве системы международных минимальных стандартных микросателлитных маркеров, а также в работах Lee SY показано, что для определения происхождения лошадей, в частности, чистокровной верховой породы могут быть использованы дополнительные маркеры (ASB17, ASB23, CA425, HMS1, LEX3, LEX33, и TKY321).

Многие микросателлиты информативны из-за их высокого полиморфизма, что позволяет их использовать при приведении теста на отцовство, особенно в популяциях аборигенных пород. Эффективность

использования микросателлитных маркеров была задокументирована во многих предыдущих популяционных генетических исследованиях лошадей.

Таким образом, генетическая характеристика является первым шагом в сохранении пород лошадей и может стать основанием для разработки будущих стратегий разведения. Получение генетической информации о породе на основе микросателлитов и митохондриальной ДНК позволит создать в коневодстве систему регистрации родословных и племенных книг, которая позволит осуществлять селекционную работу на современном уровне.

Библиографический список

1. Frankham, R., Ballou, J. D. and Briscoe, D. A. 2009. Genetic diversity. pp. 41–65. In: Introduction to Conservation Genetics, 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge.

2. Litt, M.; Luty, J.A. A hypervariable microsatellite revealed by in vitro amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. Am. J. Hum. Genet. 1989, 44, 397–401.

3. Weber JL, May PE. Abundant class of human DNA polymorphisms which can be typed using the polymerase chain reaction. Am J. Hum Genet 1989, 44, 388–396.

4. Luikart, G., Sherwin, W. B., Steele, B. M. and Allendorf, F. W. 1998. Usefulness of molecular markers for detecting population bottlenecks via monitoring genetic change. Mol. Ecol. 7: 963–974.

5. Fernández, J., Villanueva, B., Pong-Wong, R. and Toro, M. Á. 2005. Efficiency of the use of pedigree and molecular marker information in conservation programs. Genetics 170: 1313–1321.

УДК 636.52/.58:591.11

СТАНДАРТИЗИРОВАННАЯ ИЛЕАЛЬНАЯ УСВОЯЕМОСТЬ АМИНОКИСЛОТ (SID) БЕЛКОВОГО КОНЦЕНТРАТА ИЗ ЛИЧИНОК МУХ РОДА *LUCILIA* У БРОЙЛЕРОВ

*Журавлев Михаил Сергеевич, аспирант кафедры кормления животных
ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, mikhail.sterh@gmail.com*

Аннотация: Личинки мух рода *Lucilia* являются перспективным источником белка в кормах для животных. Сухая обезжиренная биомасса этих личинок содержит не менее 62% сырого протеина, 10% жира, мин. 4,0 лизина и 2,0% метионина + цистина, что делает этот продукт перспективным в рационах с/х птиц. Илеальную усвояемость личинок определяли на бройлерах с фистулой подвздошной кишки с помощью специализированного монобелкового рациона состоящего из белкового концентрата из личинок мух рода *Lucilia*, декстрозы, клетчатки и витаминно-минерального премикса. Значения SID были рассчитаны с использованием эндогенных потерь аминокислот. В результате эксперимента определены