

ниже, чем в контроле, что указывает на более эффективное использование Показатель остаточного азота на протяжении всего опыта находился в физиологической норме и четко выраженных различий между группами животных не было обнаружено.

Понизилась активность АЛТ и АСТ у свиноматок обеих групп животных, что свидетельствует о корригирующем действии витамина А на функциональное состояние печени.

Таким образом, можно сделать вывод, что препарат микробиологический витамина А благоприятно влияет на обмен веществ, физиологическое состояние животных.

Литература:

1. Душейко, А.А. Витамин А, обмен и функции./ А.А. Душейко// Киев. Наукова Думка, 1989.-279с.
2. Кондрахин, И.П. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики/ И.П. Кондрахин, А.В. Архипов, В.И. Левченко// Справочник. М., 2004.
3. Ниязов, Н.С. – А., Еримбетов К.Т. Метаболизм азотсодержащих веществ и отложение белка у молодняка свиней при разном количестве протеина и аминокислот в рационе// Сельскохозяйственная биология №6, 2004г., с.3-7.
4. Холод, В.М. Справочник по ветеринарной биохимии/ В.М. Холод, Г.Ф. Ермолаев// Минск, «Ураджай», 1988.
5. Хенниг, А. Минеральные вещества, витамины, биостимуляторы в кормлении сельскохозяйственных животных / А. Хенниг// М.: Колос, 1976.-560с.

УДК 575.174.015.3:636.934.55

ОЦЕНКА УРОВНЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ КЛЕТОЧНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ СОБОЛЯ *MARTES ZIBELLINA* L. ESTIMATION OF GENETIC VARIABILITY OF CAPTIVE POPULATIONS OF SABLE *MARTES ZIBELLINA* L.

Лазебная И.В.¹, Лазебный О.Е.², Каштанов С.Н.¹
Lazebnaya I.V.¹, Lazebny O.E.², Kashtanov S.N.¹

¹*Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова РАН*

²*Учреждение Российской академии наук Институт
биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН
Vavilov institute of general genetics
Kol'tsov institute of developmental biology*

A study of two sable captive populations was carried out with the aim to estimate the level of their genetic variability by means of ISSR-fingerprinting. An

ISSR-PCR marker is a nuclear multilocus marker widely dispersed over genome. Different parameters of phenotypic and genetic polymorphism are presented. The overall level of genetic variability is low enough but not too low comparing to other agricultural animals like Tuvinian sheep and Holstein cattle.

Соболь является ценным пушным зверем, распространенным в природе в основном в России: от Уральских гор до Камчатки, а за ее пределами - в Китае, Корее, Монголии и Казахстане - соболиные угодья составляют не более 5% площади ареала вида. В неволе, с целью получения высококачественного меха, его содержат в нескольких племенных хозяйствах России. Наиболее известными из них являются “Пушкинское” и “Салтыковское” Московской области, родоначальники селекционной работы с данным видом.

Известно, что интенсивный искусственный отбор, широко применяющийся в селекционной практике, может иметь и нежелательные эффекты. В частности, происходит снижение общего уровня изменчивости, зачастую приводящее к инбридингу. Поэтому актуальной задачей является адекватная оценка общего уровня генетической изменчивости с использованием надежных маркеров. Поскольку ДНК-маркеры, дают стабильный результат, не зависящий от возраста животного, используемого биологического материала исследований, им отдают предпочтение уже в течение ряда десятилетий. Причем, для оценки общего уровня изменчивости генома, наилучшими являются ядерные полилокусные ДНК-маркеры, равномерно распределенные по геному, такие как: RAPD-маркеры (Random Amplified Polymorphic DNA – случайным образом амплифицированная ДНК), AFLP-маркеры (Amplified Fragment Length Polymorphism – полиморфизм длины амплифицированных фрагментов), микросателлитные маркеры (SSR - Simple Sequence Repeats). К ним относятся и межмикросателлитные маркеры (Inter Simple Sequence Repeat – ISSR-маркеры). Последние стабильно воспроизводятся и дают однозначные результаты, что позволяет их использовать для оценки общего уровня изменчивости как у диких, так и домашних видов [1-4]. Однако для оценки генетического разнообразия соболя данный полиморфизм практически не использовался, как и другие молекулярные маркеры.

Перед нами стояла задача апробировать ISSR-PCR праймер 5’-(AG)8T-3’ для проведения межмикросателлитного анализа и получения маркеров генетической изменчивости у соболя.

Материалы и методы.

Методом ISSR-PCR (PCR – Polymerase Chain Reaction) исследовали клеточные популяции соболя *M. zibellina* из племенных звероводческих хозяйств «Салтыковский» (n=32) и “Пушкинский” (n=33) Московской области. Выделение ДНК из цельной крови и реакцию амплификации осуществляли, как описано Кол и Лазебным [3], с использованием следующих наборов реагентов для выделения ДНК и амплификации, соответственно, D1AtomTM DNA Prep (“Лаборатория Изоген”, Россия) и GenPakR PCR Core (“Лаборатория Изоген”, Россия). В качестве праймеров в полимеразной цепной реакции использовали следующую последовательность олигонуклеотидов – 5’-(AG)8T-3’. ПЦР осуществляли с использованием программируемого термоциклера “Терцик” (“ДНК-Технология”, Россия) при соблюдении оптимального режима амплификации: x1: 95°C – 5 мин; x35: 95°C – 40 с; 55°C – 40 с; 72°C – 40 с; x1: 72°C – 10 мин. Разделение продуктов амплификации осуществляли методом электрофореза (2%

агарозный гель, 1-кратный ТБЕ буфер), после чего детектировали полученные результаты с использованием геля документирующей системы. Полученные электрофореграммы анализировали с применением программы OneDScan (Stratagene, США) и подготовленные с ее помощью бинарные матрицы использовали для расчета популяционных статистик в программах Gelstats [5].

Результаты и выводы.

ISSR-PCR анализ с использованием данного праймера выявил суммарно 22 фрагмента (локуса) в интервале длин от 225 до 1165 п.о., по 20 для з/х «Салтыковский» и «Пушкинский», что демонстрируют электрофореграммы продуктов амплификации (рисунок 1а, б) и отражено в таблице 1.

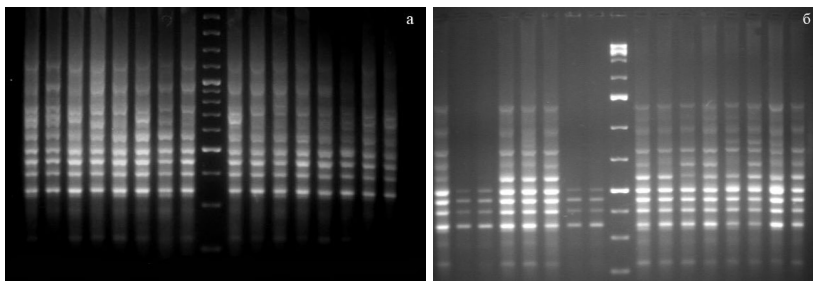


Рис.1.-Электрофореграммы разделения продуктов ампликации в 2% агарозном геле. Рисунок 1 а – «Пушкинская» популяция, б – «Салтыковская».

Таблица 1. Частоты ISSR-PCR фрагментов в исследованных выборках соболя.

№ п/п	з/х Пушкинский	з/х Салтыковский	№ п/п	з/х Пушкинский	з/х Салтыковский
1	1.000	0.813 ^{n.s.}	12	0.000	0.125 ^{n.s.}
2	0.000	0.594 ^{***}	13	0.758	0.813 ^{n.s.}
3	0.152	0.719 ^{**}	14	0.788	0.063 ^{***}
4	0.667	0.750 ^{n.s.}	15	1.000	1.000 ^{n.s.}
5	0.424	0.063 ^{**}	16	0.091	0.063 ^{n.s.}
6	0.091	0.313 ^{n.s.}	17	1.000	1.000 ^{n.s.}
7	0.849	0.813 ^{n.s.}	18	1.000	1.000 ^{n.s.}
8	0.394	0.000 ^{***}	19	1.000	1.000 ^{n.s.}

9	0.394	0.250 ^{n.s.}	20	0.333	0.438 ^{n.s.}
10	0.394	0.000***	21	0.939	0.875 ^{n.s.}
11	0.606	0.813 ^{n.s.}	22	0.939	0.875 ^{n.s.}

Верхний индекс значения частоты фрагмента в популяции з/х «Салтыковский» обозначает уровень достоверности отличия частоты этого фрагмента в двух исследуемых популяциях: n.s. – отличие недостоверно; ** – и $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$.

Каждая популяция имеет по два специфичных фрагмента: 2 и 12 – в з/х «Салтыковский» и 8 и 10 – в з/х «Пушкинский». Кроме того, популяции достоверно отличаются по частотам фрагментов 2, 3, 5, 8, 10 и 14. Фрагменты 15, 17, 18 и 19 присутствуют у всех особей в обеих популяциях, т.е. являются мономорфными.

Проверка распределений частот фрагментов в исследуемых популяциях показала, что они достоверно отличаются друг от друга ($G^2=49.93$, d.f.=21, $p=0.0004$).

Значения основных популяционных параметров, приведенных в таблице 2, свидетельствуют о невысоком уровне генетической изменчивости в исследованных клеточных популяциях соболя. Так, коэффициент среднего внутригруппового попарного генетического сходства особей (APS-Average Pairwise Similarity) имеет высокое значение в обеих выборках, он составляет 0.796 в Пушкинском зверохозяйстве и 0.773 – в Салтыковском. Исследованные популяции не отличаются друг от друга по данному показателю ($p=0.273$), как не отличаются они и по среднему числу фрагментов на особь ($p=0.272$) (таблица 2). Отличия касаются общего уровня генетической изменчивости, оцененного значениями коэффициента гетерозиготности (по Стефенсу, H_s): в Салтыковской популяции она составляет 0.288, что достоверно выше ($p=0.0000$), чем в Пушкинской – 0.254. Несмотря на достоверное отличие двух исследованных популяций по коэффициенту гетерозиготности, в целом, они характеризуются достаточно низкой генетической изменчивостью – 0.299. Значение коэффициента подразделенности свидетельствует о том, что на долю межпопуляционной изменчивости приходится до 8% общей генетической изменчивости. Это одновременно свидетельствует об общности происхождения популяций з/х «Пушкинское» и «Салтыковское» и намечающемся расхождении их генофондов. Сравнение уровня генетической изменчивости исследованных клеточных популяций соболя с другими видами сельскохозяйственных животных свидетельствует о том, что у тувинской короткожирнохвостой овцы значение индекса генетического разнообразия существенно ниже, чем у соболя – 0.125 [2], а голштинской породы крупного рогатого скота еще меньше – 0.07 [4]. Однако в популяции одомашненного северного оленя республики Тува наблюдался необычно высокий уровень генетического разнообразия по сравнению с другими сельскохозяйственными животными – 0.73.

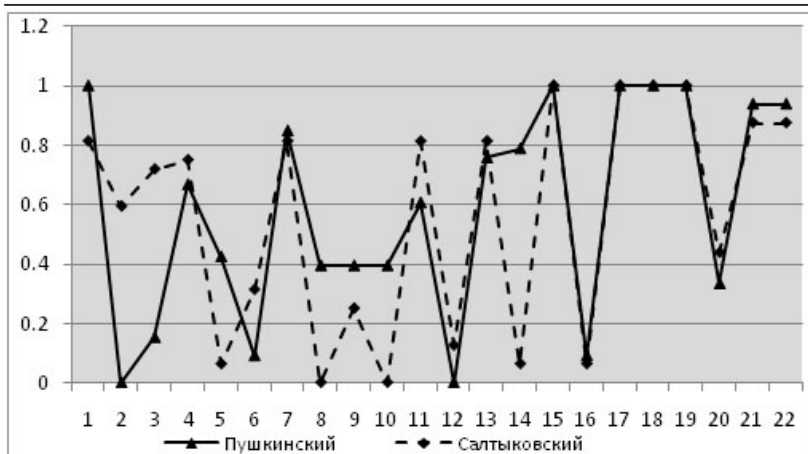


Рис. 2. -Профили частот фрагментов 5'-(AG)₈T-3'-маркера в исследованных популяциях. На оси абсцисс указаны порядковые номера выявленных фрагментов, на оси ординат – частоты фрагментов. Сплошной линией объединены значения частот фрагментов в популяции з/х «Пушкинский», пунктирной – в з/х «Салтыковский».

Таблица 2. Показатели генетической изменчивости исследованных популяциях.

Популяции	n	N	S	P	H _s	F _{ST}
Пушкинский	33	12.82±0.24	0.796	0.511	0.254	0.081
Салтыковский	32	12.38±0.66	0.773	0.584	0.288	
		p = 0.272	p = 0.273		p = 0.000	

n - размер выборки, N – среднее число фрагментов на особь, S – среднегрупповое попарное генетическое сходство, P – доля полиморфных локусов (по Стефенсу [6]), H_s – гетерозиготность (по Стефенсу), F_{ST} – индекс подразделенности популяций по Нею [7].

Литература:

1. Генджиева О.Б., Сулимова Г.Е. Изучение генетического разнообразия калмыцкого скота с использованием ISSR-фингерпринтинга // Зоотехния. 2009. № 3. С. 4-5.
2. Столповский Ю.А., Шимиит Л.В., Кол Н.В., Евсюков А.Н., Рузина М.Н., Чургуй-Оол О.И., Сулимова Г.Е. Анализ генетической изменчивости и филогенетических связей у популяций тувинской короткожирнохвостой овцы с использованием ISSR-маркеров // Сельскохозяйственная биология. 2009. № 6. С. 34-43.
3. Кол Н.В., Лазебный О.Е. Полиморфизм ISSR-PCR-маркеров в Тувинской популяции северного оленя *Rangifer tarandus* L. // Генетика. 2006. Т.

42. № 12. С. 1731-1734.

4. Pashaei S., Azari M.A., Hasani S., Khanahmadi A., Rostamzadeh J. Genetic diversity in Mazandaranian native cattle: A comparison with Holstein cattle using ISSR marker // Pakistan J. Biol. Sci. 2009. V. 12. № 9. P. 717-721.

5. Rogstad S.H., Pelikan S. GELSTATS: a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data // Biotechniques. 1996. V. 21. № 6. P. 1128-31.

6. Stephens J.C., Gilbert D.A., Yuhki N., O'Brien S.J. Estimation of heterozygosity for single-probe multilocus DNA fingerprints // Mol. Biol. Evol. 1992. V. 9. № 4. P. 729-743.

7. Nei M. F-statistics and analysis of gene diversity in subdivided populations // Ann. Hum. Genet. 1977. V. 41. P. 225-233.

УДК 575.174.015.3:636.271

ДНК-МАРКЕРЫ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ У КОСТРОМСКОЙ ПОРОДЫ КРС

*Лазебная И.В.¹, Лазебный О.Е.²,
Сулимова Г.Е.¹*

Lazebnaya I.V.¹, Lazebny O.E.², Sulimova G.E.¹

*¹Учреждение Российской академии наук Институт общей генетики
им. Н.И. Вавилова РАН*

*²Учреждение Российской академии наук Институт
биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН*

*Vavilov institute of general genetics
Kol'tsov institute of developmental biology*

Polimorphisms of the GH and PRL genes were investigated in three thoroughbred herds of Kostroma breed.

Признаки молочной продуктивности являются количественными и определяются целым рядом факторов, среди которых как генетические, так и факторы внешней среды. Поскольку проявляются названные признаки только во взрослом состоянии, в период лактации, то актуальной задачей является выявление генетической составляющей параметров молочной продуктивности и поиск способов ранней оценки молочных качеств животных. Наиболее подходящими для этой задачи является анализ полиморфизма генов, потенциально способных быть маркерами молочной продуктивности в силу участия их продуктов в обменных процессах, росте и развитии организма. С этой целью уже в течение нескольких десятилетий проводятся исследования полиморфизма генов гормона роста *bGH* и пролактина *bPRL* для выявления ассоциаций с признаками молочной продуктивности.

Имеются обширные данные о разнообразных, локализованных в этих генах, однонуклеотидных заменах SNP (Single Nucleotide Polymorphism), ассоциированных с признаками качества молока. Так, известно о связи