

И.В. Гончаренко

**ГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ
в селекции животных**

Киев-2002

Издательство «Наукова думка»

И.В. Гончаренко

**Генетические маркеры в селекции животных
(монографический обзор)**

**Под редакцией
доктора сельскохозяйственных наук В.А. Пабата**

Киев-2002

Издательство «Наукова думка»

Гончаренко И.В.

Генетические маркеры в селекции животных

(монографический обзор) – Киев, Наукова думка, 2002.

В монографическом обзоре изложен системный анализ опубликованных материалов, посвященных изучению и практическому использованию в генетике, селекции и ветеринарной медицине сельскохозяйственных животных иммуногенетических, биохимических, цитологических, хромосомных и ДНК-маркеров для повышения результативности племенной работы в животноводстве, элиминации наследственных дефектов, маркирования линий и семейств, отбора животных на ранних этапах онтогенеза, генной терапии наследственных заболеваний, сохранения генофонда ценных, малочисленных, исчезающих пород.

Предназначается для студентов университетов, аспирантов, научных работников и селекционеров, работающих со стадами сельскохозяйственных животных.

Рецензенты: доктор сельскохозяйственных наук, профессор Пабат В.А.,

доктор биологических наук, профессор Трофименко А.Л.

Содержание

Предисловие

Введение

ДНК-маркеры

Биохимические маркеры

Иммунологические маркеры

Цитологические и хромосомные маркеры

Физиологические маркеры в селекции

Заключение

Литература

Предисловие

В молочном стаде одновременно функционирует три основных поколения животных: бабушки-матери-дочери. Анализ передачи наследственности от родителей потомству с учетом генетических законов комбинирования генов в ооцитах и спермиях и вероятностных процессов при формировании зиготы всегда было основной задачей селекционеров и генетиков в поэтапной оценке генотипа животных в процессе их онтогенеза. При использовании метода искусственного осеменения сельскохозяйственных животных стала актуальной проблема экспертизы родословных животных с учетом возможных ошибок маркировки замороженной спермы и записей в племенных документах. Анализ родословных – один из самых древних методов оценки генотипа животных и передачи наследственных факторов в ряде поколений. В этом отношении весьма удачным оказалось использование групп крови животных, которые наследуются по кодоминантному типу. Тестирование животных в ряде поколений позволило не только подтверждать правильность записей происхождения животных, но и выявлять взаимосвязи между антигенами эритроцитов и хозяйственно-полезными признаками (удой, содержание жира и белка в молоке, резистентность животных и т.п.). Однако, не следует абсолютизировать эти связи, т.к. они чаще всего результативны в пределах одного поколения животных и весьма изменчивы при экстраполяции на последующие поколения.

Весьма результативным оказалось использование факторов групп крупного рогатого скота для оценки семейств породного значения и правильного отбора продолжателей линейного родоначальника на основе наследования характерных комплексов антигенов эритроцитов, что позволяет объективно дифференцировать линии в генетической структуре породы, как самостоятельные, в известной мере изолированные субъединицы генома.

Украинские ученые оказались пионерами в оценке экстерьерно-конституциональных особенностей дочерей одного и того же родоначальника линии (Апельсина 3500), которые унаследовали разные аллели системы В групп крови (Мисостова Н.В., Д.Т.Винничук, Подоба Б.Е., 1974). Это направление исследований оказалось весьма результативным при оценке генотипических особенностей определенных групп родственных животных по их фенотипу, с учетом наследования комплекса аллелей.

Следующим важным этапом в изучении генетики животных было открытие явления полиморфизма длины рестриктных фрагментов ДНК (RFLP) и методов полимеразной цепной реакции (PCR), случайно амплифицированной полиморфной ДНК (RAPD) и другие. На этой основе развилось картирование генов животных и разработка методов генной инженерии, в т.ч. в области ветеринарной медицины – профилактика инфекционных заболеваний на основе ДНК-иммунизации животных. Активно изучаются возможности использования ДНК-технологий в диагностике генетически обусловленных заболеваний животных, например, BLAD, DUMPS, Mulefoot (MF) и другие.

Мониторинг процесса наследования генетических маркеров в ряде последующих поколений животных дает возможность проследить последствия мейоза при формировании гамет и генома зигот, оценить уровень генетического разнообразия на уровне особи и популяции в целом.

ДНК-технологии весьма результативны и при анализе структуры генофонда стад аборигенных пород и популяций животных с целью сохранения биоразнообразия с использованием молекулярно-генетических маркеров методом направленных подборов родительских пар при длительном разведении «в себе» ограниченного количества особей в замкнутом стаде, без нарастания явлений инбредной депрессии.

ДНК-технологии используют также для молекулярных методов контроля качества продуктов животноводства и продуктов питания, создания генетических паспортов пород, линий, выдающихся семейств и т.п.

Продолжающееся увеличение численности поголовья голштинского скота и помесей по голштинину, сопровождается не столько повышением удоев, сколько резким снижением содержания сухих веществ в молоке и ухудшением пригодности молока для производства твердых сыров, типа «швейцарский», дефицит которых наблюдается даже в странах, имеющих высокопродуктивное животноводство. Оказалось, что сыродельческое качество молока определяющим образом зависит от аллельных вариантов к-казеина, локус которого находится в хромосоме 6. Наивысшее качество молока у животных, имеющих ВВ-генотип. Наибольшая частота встречаемости ВВ-гомозигот – у серой украинской, лебединской, белоголовой украинской пород. Голштинская порода скота в этом отношении – одна из худших. Селекцию коров и быков-производителей по генотипам ВВ, СС ведут в Германии, используя генотипирование скота по локусу гена каппа-казеина методом ПЦР.

Следовательно, ДНК-технологии, молекулярно-генетические маркеры стали неотъемлемой частью современной селекционной работы в животноводстве. В предлагаемом обзоре эта проблема раскрыта с достаточной полнотой.

Д.Т.Винничук, чл.-корр. УААН

ВВЕДЕНИЕ

Длительное время селекция животных велась, в основном, по признакам фенотипа, на основе количественной оценки: удой, содержание жира, живая масса, выход съестных частей из туши и т.п.

Селекционер анализирует, как правило, признаки с непрерывной изменчивостью, где проявляется действие многих генов, реализация которых сильно зависит от условий среды. Проявление количественных признаков обусловлено взаимодействием генетических и негенетических факторов. Распределение численных значений признаков часто приближается к кривым нормального распределения, поэтому невозможно воспользоваться частотами генов и генотипов.

Менделевские закономерности наследования количественных признаков доказали Нильсон-Эле и Ист, скрещивая краснозерную и белозерные линии пшеницы и анализируя варьирование по интенсивности окраски зерен. Фенотипическое развитие признака зависит от числа аддитивных генов. Чем больше пар генов кодируют количественный признак, тем реже встречаются генотипы с максимальным числом полимерных генов, тем меньше во втором поколении при обратных скрещиваниях число особей фенотипически сходных с исходными родительскими парами.

Группы полигенов, размещенных на одной хромосоме, могут наследоваться как один ген. В результате кроссинговера полигены могут отделяться друг от друга. Полигены могут быть сцеплены не только между собой, но и с главными генами. Целью картирования генов на хромосомах сельскохозяйственных животных является поиск молекулярно-генетических маркеров, тесно сцепленных с главными генами хозяйственно-полезных признаков. Полиморфизм генетических маркеров может быть использован для «маркирования» определенных количественных признаков. Это направление исследований называют «селекция с помощью маркеров» - MAS

(Marker Assisted Selection), позволяющее выявлять генные комплексы, влияющие на формирование желательных признаков.

Однако, количество генетических маркеров у домашних животных невелико. Поэтому ведутся интенсивные поиски по составлению генетических карт сцепления для крупного рогатого скота, в частности, специалисты американского центра исследований выделяют 1200 микросателлитассоциированных маркеров.

В историческом аспекте поиск генетических маркеров начался давно, еще в 30-е годы XX столетия.

А.С.Серебровский (1926) предложил использовать фенотипические признаки с моногенным типом наследования в качестве «сигналиев» - генетических маркеров – для контроля передачи определенного генетического материала в поколениях сельскохозяйственных животных с целью повышения эффективности отбора и подбора. А.А.Созинов (1996) полагает, что суть этого направления исследований принципиально не изменилась со времен работ А.С.Серебровского и заключается в попытках выявления генетических маркеров – генов или последовательностей ДНК – генетически тесно сцепленных с «главными» генами хозяйственно-ценных признаков, а также в прямом маркировании генов, влияющих на развитие врожденных патологий или резистентности к различным заболеваниям, например, стрессоустойчивости у свиней, плодовитости (многоплодие) у овец, «двойной мускулатуры» у мясного скота, картирование генов с помощью микросателлитных генов в пяти хромосомах из 29 аутосом у крупного рогатого скота и т.п.

Русским ученым принадлежит приоритет в картировании генов сельскохозяйственных животных. А.С.Серебровский и Е.Т.Васина-Попова (1926) описали расположение генов в половой хромосоме курицы. До 1990-х годов для подавляющего большинства видов лабораторных и домашних животных были установлены лишь группы сцепления (группы генов, связанных с отдельными хромосомами), но не были известны порядок и

локализация генов в хромосомах, т.е. собственно генетических карт не существовало (Захаров И.А., 1996). В 1994 году были опубликованы весьма подробные карты с точной локализацией более чем 200 маркеров для нескольких видов животных. В Институте общей генетики РАН создана оригинальная компьютерная база данных ZBASE3 о генетических картах сельскохозяйственных животных по материалам, опубликованным в зарубежных изданиях в 1993-1995 гг. (крупный рогатый скот, овцы, свиньи, лошади, кролики, собаки, норки, лисицы, куры, а также для сравнения, человека и мыши).

Генетические карты составлены почти для 30 различных видов (O'Brien et al., 1993). Среди домашних животных наиболее подробная генетическая карта создана для крупного рогатого скота. Она насчитывает 877 маркеров, из которых 314 являются генами и псевдогенами, а 63 представлены анонимными ДНК-локусами (в основном, это микросателлиты). Однако, невысокая плотность расположения маркеров на отдельных участках генетической карты не позволяет широко использовать полиморфные маркеры для картирования хозяйственно полезных признаков (Корохов Н.П., 1996).

ДНК-ТЕХНОЛОГИИ

В наследственности голштинского молочного скота США, Канады, Германии, Украины и других стран, которые импортировали этих животных, обнаружен ген BLAD, получивший название от сокращенного термина «Bovine Leukocyte Adhesion Deficiency». Этот мутантный ген нарушает нормальную защитную функцию лейкоцитов, вследствие точечной мутации в гене CD 16, кодирующий поверхностный гликопротеин нейтрофилов. Животные-гомозиготы по данному гену погибают вскоре после рождения из-за потери резистентности к болезням. Картина крови таких животных по лейкоцитарному составу напоминает лейкоз.

Процесс наследования гена BLAD четко подчиняется закону Менделя: если подбор осуществляют на гетерозиготных родителях (Aa x Aa), то 25% потомства – свободны от этого гена, 50% - носители гена в гетерозиготном состоянии и 25% - дефектные (гомозиготы aa). Если только один из родителей несет в своей наследственности ген BLAD в гетерозиготном состоянии, а другой родитель – свободный от этого гена, то среди их потомства – 50% будут «чистыми» (AA – AA), а 50% - носителями генов в гетерозиготном состоянии, т.е. без явных фенотипических проявлений заболевания.

Для выявления быков-производителей, носителей указанного мутантного гена, в США, в европейских государствах (Словакия, Голландия и др.) созданы (в 1980-х годах) специальные генетические лаборатории. Этот ген передавался по следующим генеалогическим поколениям быков: Осборндейл Иванхое → Пенстайт Иванхое → Стар → Карлин М Иванхое Белл → Риппваллей NA Белл Трой.

В голштинской породе выявлены следующие линии, производители которых являются носителями дефектного гена «BLAD»: Харрисбург Ней Идеал, Иванхое Стар Белл, Белл Трой, Джессе, Хенри, Секрет, Юлиус, Берт, Белл Райс, Пеппи, Ванквард, Стардом и другие, в т.ч. среди производителей

племпредприятий Украины (Лагун 864, Фриленд 279, Тонима Сикрет 1856904, Голдспринг Осада 1961234, Н.Дейтлинг 1922085 и другие.

Код отсутствия дефектных генов у проверенных (тестированных) быков имеет следующие международно-принятые символы: TL (отсутствие BLAD), TD (отсутствие DUMPS), TM – отсутствие MF – Mulefoot «ослиное копыто» (Винничук Д.Т., 1994).

Диагностика BLAD у крупного рогатого скота на основании подобранных праймеров для аппликации мутантного участка гена разработана в Институте агроэкологии и биотехнологии УААН Костецким И.Е. (1996). Мутация в гене CD 18 нарушает нормальную функцию нейтрофилов, дефектные нейтрофилы теряют способность мигрировать через эпителий капилляров и субэпителиальные мембраны и как следствие у животных развивается заболевание, известное как дефицит адгезивности лейкоцитов (BLAD).

Во Всероссийском НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных выполнены исследования с использованием метода полимеразной цепной реакции для определения пола и генотипирования типов каппа-казеина с целью отбора эмбрионов на стадиях 4-16 бластомеров. Казеины составляют около 80% общего содержания белка в молоке, где они присутствуют в форме кальцийфосфатных мицелл, в стабилизации которых решающее влияние принадлежит каппа-казеину. Твердые сыры производят только из молока, полученного от коров, имеющих ВВ-генотипы.

Интерес селекционеров к полиморфизму гена каппа-казеина обусловлен его значимостью для повышения выхода твердых сыров из молока коров. В Германии селекция на к-СпВ включена в программу разведения скота (Бадагуева Ю.Н., 1996). Выявлены такие аллели каппа-казеина: к-СпА, к-СпВ, к-СпF.

Исследования Хаертдинова Р.А. (1996) молока коров-помесей холмогорская х голштинская венгерской селекции показали значительное ухудшение сыродельческого качества вследствие преобладания генотипа АА

каппа-казеина. Из молока коров с таким генотипом получен казеиновый сгусток рыхлого, дряблого состояния. Доля молока с отличными свойствами свертывания у гомозиготных коров ВВ составила 100%, гетерозигот АВ – 82,2%, АА – лишь 59,4%. Для образования сгустка казеина в образцах молока с типом ВВ требовалось 15,8 минут, АВ – 25,8; АА – 28,1 мин.

В институте физиологии, биохимии и питания сельскохозяйственных животных (Россия, 249010, г. Боровск-3, Калужской обл.) разработали простой, но достаточно эффективный метод ПЦР при исследовании молока, спермы быков, луковиц волос (Гобечия А.Б., 1994).

Б.А.Малярчук и О.А.Радченко (1993,1996) изучили маркеры митохондриальной ДНК в связи с проблемой управлением генетическим разнообразием. Анализ полиморфизма митохондриальной ДНК (мтДНК) позволяет проводить тонкую дифференциацию популяций, учитывая быстрые темпы накопления мутаций и наследование мтДНК по материнской линии и без рекомбинаций значительно упрощают генетический анализ и позволяет учитывать вклад каждой самки в популяционное разнообразие. Эти исследования весьма важны и для изучения семейств породного значения крупного рогатого скота.

У мясных пород свиней часто встречается стрессовый синдром. Одним из методов определения стрессчувствительных животных является галотановый тест, который имеет ряд лимитирующих факторов (определенный возраст животных, нечеткая реакция у определенной части поголовья животных и т.п.). Установлено, что реакция свиней на стресс-факторы является генетически обусловленной и имеет рецессивное наследование: установлена мутация RYR-гена, которая обуславливает возникновение данного синдрома. С помощью ПЦР-анализа можно выявить данную мутацию у свиней в любом возрасте, в т.ч. у новорожденных поросят. Рестрикция амплифицированного участка RYR-гена эндонуклеазой *Hin* 61 выявляет фрагменты длиной 50 и 84 п.н. (Калашникова Л.А., 1996).

В.Ю.Богатырев и Сердюк Г.Н. (1996) выявили связь H-локуса групп крови свиней с их устойчивостью у стрессу.

Методом ПЦР-ПДРФ и аллельспецифичной ПЦР изучено распределение аллелей BoLA-DRB3 у черно-пестрой и айрширской пород крупного рогатого скота. Айрширы имели обедненный спектр гена BoLA-DRB3 по сравнению с другими породами. Сравнительный анализ распределения аллелей BoLA-DRB3 у здоровых, вирусоносителей и больных лейкозом животных позволил выявить высокую встречаемость аллелей, ответственных за восприимчивость к лейкозу, и полное отсутствие аллелей, определяющих устойчивость к этому заболеванию. Подтвержден доминантный тип наследования устойчивости к лейкозам. Показано влияние уровня гетерозиготности как неспецифического фактора на устойчивость айрширского скота к лейкозу (Сулимова Г.Е. и соавт., 1999).

Методом электрофореза в ПААГ белковых макромолекул сыворотки крови трансферринов, постальбуминов, казеинов молока черно-пестрого скота было выявлено, что коровы имели лучшую воспроизводительную способность, если были гомозиготами AA и гетерозиготами АД₂ по Tf локусу (Чухрий Б.М., 1999).

Соматотропин (гормон роста) является одним из важнейших регуляторов соматического роста животных. Кроме этой главной функции он обладает лактогенным, инсулиноподобным, диабетогенным, жиромобилизующим и нейротропным действием. Известно также его прямое влияние на ряд реакций печеночного обмена.

Ген соматотропного гормона был одним из первых среди использованных для разработки методов увеличения продуктивности коров путем трансфекции генов. Однако, увеличение концентрации соматотропина в организме млекопитающих приводит к бесплодию путем влияния на уровни серотонина – дофамина в гипофизе (Балацкий В.Н., Лисовский И.Л., 1998).

На уровне ДНК аллельный полиморфизм соматотропина значительно выше и его изучение специфики влияния тех или иных вариантов гена

гормона роста на рост и развитие организма представляет несомненный интерес.

GH-локус (growth hormone locus) в геноме животных имеет целый ряд элементов регуляции экспрессии, обеспечивающих как тканеспецифичность транскрипции генов, так и ее контроль гормональными факторами. Изменения, которые могут в них происходить (делеции, инсерции, замены и т.п.), можно выявить многими способами: секвенирования интересующих участков гена и выявление полиморфизма длин рестриктных фрагментов (ПДРФ) путем гибридизации пробы с фракционированными по размеру рестриктами ДНК, а также локус-специфической амплификацией в полимеразной цепной реакции (ПЦР). Исследования ПДРФ гена гормона роста голштинского скота (Beckmann J.S. a.l., 1986) позволили выявить 8 генотипов по длине гибридо-зондов.

Таким образом, уровень генетического полиморфизма соматотропина (ДНК-аллелей) достаточно высок и полиморфная система может быть использована как маркерная (Lucy M.C. et al., 1993).

Генетические маркеры получили признание и в ветеринарной медицине. К примеру, классическая чума свиней (КЧС) является одним из наиболее опасных вирусных заболеваний свиней, которое ежегодно охватывает многие страны мира. Возбудитель КЧС относят к роду Pestivirus семейства Flaviviridae. Близкое родство вируса КЧС и перекрестные реакции с другими пестивирусами – вирусом вирусной диареи (ВВД) крупного рогатого скота и вирусом пограничной болезни (ПД) овец – создает большие проблемы в диагностике пестивирусных инфекций (Кириленко С.Д. и соавторы, 1996). Кроме того, появление латентных и атипичных форм инфекции делает актуальным поиск генетических отличий и разработку методов дифференциации вакцинных и вирулентных штаммов вируса КЧС (ВКЧС), создание коллекций моноклональных антител к структурным и неструктурным белкам ВКЧС.

Фрагмент гена, кодирующий белок E1 (др 51-55), был получен методом двухстадийной ПЦР со стадией обратной транскрипции. В качестве матрицы была использована вирионная РНК вирулентного штамма «Ши-Мынь» ВКЧС. Такие исследования позволят выявить штаммы ВКЧС различного происхождения.

Изучается роль BoLA-системы в генетическом контроле резистентности к гемабластозам (Павленко С.П. и соавт., 1996). Главный комплекс гистосовместимости (ГКГ) или МНС (Major histocompatibility complex) имеет ведущую роль во многих иммунологических реакциях регуляции иммунного ответа на чужеродные антигены. ГКГ крупного рогатого скота локализован на 23-й хромосоме и передается по наследству по типу кодоминирования. Международная классификация присвоена 56 антигенам класса I ГКГ, кодируемых A-локусом системы BoLA (Bovine leukocyte antigens).

Павленко С.П., Орлова А.Р., Романов В.И. (1996) после обработки информации, содержащейся в обучающей выборке (больные лейкозом и здоровые животные), и нахождения минимальных наборов информационных показателей с помощью программ статусметрии получили такую функциональную модель состояния: $Z=6,628-3,560W21-2,590W31-2,598W19+2,312W15+4,251A10-3,427A12-3,255A15-2,933A16-2,570A17++2,139A19-3,666A21-2,932A22$ и решающее правило: если $Z > 1,350$ – животное принадлежит к группе устойчивых к заболеваниям лейкозом, если $Z < -0,292$ – животное относится к восприимчивым, при $-0,292 < Z < 1,350$ – неопределенное решение. Информативными оказались следующие два ряда BoLA-антигенов: благоприятные – W15, A10, A19, неблагоприятные – A21, W21, A12, W16, A17.

Метод полимеразной цепной реакции (PCR) весьма эффективен и для выявления провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота. Используемые в Украине серологические методы диагностики вируса бычьего лейкоза (BLV) отличаются низкой специфичностью. Но и наличие

антител к BLV в крови животных не всегда обуславливает развитие заболевания. Р.В. Облап (1996) использовал PCR для выявления вирусной ДНК (провируса) BLV в геноме лейкоцитов периферической крови скота, инфицированного BLV, который является типичным представителем семейства Retroveride.

Трансформация клеток и развитие лейкоза происходит в том случае, если в геном клетки-хозяина встроены провирусы, т.е. животные, в геноме которых находится провирус, относят к группе с максимальным риском развития лейкоза. Р.В. Облап и соавт. (1996) подобрали олигонуклеотидные затравки к одному из вирусных генов – гену Env. Был создан банк ДНК РИД-положительных и РИД-отрицательных особей. Провирусная ДНК была выявлена у 4 из 15 серологически позитивных и 2 из 5 РИД отрицательных животных.

Туркова С.О., Сулимова Г.Е. (1996) исследовали метод определения аллельных вариантов гена BoLA-DRB3, ассоциирующихся с устойчивостью или чувствительностью к лейкозу, с помощью аллельспецифичной полимеразной цепной реакции. Разработан метод определения аллельных вариантов гена BoLA-DRB3 с помощью аллельспецифической ПЦР, который позволяет тестировать животных на основе электрофоретического анализа продуктов амплификации без использования рестрикции: используют три праймера – один прямой и два обратных – аллельспецифичных. Каждый из этих двух аллельспецифичных праймеров может отжигаться в процессе ПЦР только на определенных нуклеотидных последовательностях, присутствующих лишь в некоторых аллелях гена BoLA-DRB3. Праймер ER-17 взаимодействует со всеми устойчивыми аллелями, а VD-19 только с чувствительными. Предложенный метод удобен для быстрого тестирования животных по локусу BoLA-DRB3, позволяет избежать недостатков, которые присущи рестрикционному анализу (дополнительный электрофорез, недорестрикция), и может быть рекомендован как экспресс-метод для отбора быков с аллелями, обуславливающими устойчивость к лейкозу.

При инфицировании коров красной степной породы вирусом лейкоза в группе позитивных по гематологии и серологии животных увеличивается частота антигенов BoI w8, BoLA w10. У коров с антигеном BoLA w10 увеличена численность лимфоцитов и В-клеток в периферической крови (Ивашура А.А., 1996).

Циркуляция среди животных вирусных инфекций, вызываемых антигенноблизкородственными и зачастую серологически неразличимыми возбудителями, появление атипичных форм инфекций делает важным поиск молекулярно-генетических маркеров и разработку методов, с помощью которых возможно проведение дифференциальной диагностики. Использование полимеразной цепной реакции (ПЦР) и рестрикционного анализа фрагментов генома возбудителей дает возможность осуществить молекулярно-эпизоотический надзор и мониторинг их штаммов. Указанный принцип используют для выявления и дифференциации коронавируса трансмиссивного гастроэнтерита свиней, респираторного коронавируса свиней, вируса классической чумы свиней и вируса вирусной диареи (пестивирусы) крупного рогатого скота (Кириленко С.Д., 1996).

Особенность микросателлитных локусов – их высокий уровень полиморфизма, равномерное распределение по всему геному.

ДНК-маркеры имеют целый ряд преимуществ по сравнению с другими типами генетических маркеров: возможность использования для анализа любых тканей и органов на любой стадии развития, множественность аллелей, кодоминантность наследования, отсутствие плейотропного эффекта, возможность проведения ретроспектральных исследований и т.п.

Для определения полиморфизма ДНК используют два основных метода: анализ полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ) с применением блот-гибридизации и методы, в основе которых – полимеразная цепная реакция (ПЦР). Наибольшее применение получили ДНК-маркеры, созданные с использованием ПЦР на основе уникальных последовательностей генов (ген-специфические ДНК-маркеры) и на основе повторяющихся

последовательностей различных типов (Сулимова Г.Е., 1996). Существенным источником ген-специфических маркеров являются кластерные гены, информативность которых повышается за счет тесного сцепления отдельных генов, входящих в состав кластера. Г.Е. Сулимова (1996) исследовала полиморфизм генов казеинов и генов главного комплекса гистосовместимости у крупного рогатого скота и на основе этих генов были созданы генетические маркеры некоторых хозяйственно-полезных признаков (качество молока – ген каппа-казеина и устойчивость к лейкозу – ген BoLA-DRB3).

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

Полиморфизм генетико-биохимических систем у разных видов сельскохозяйственных животных используется для характеристики изменчивости в пределах вида на основе уровня средней гетерозиготности на локус и доли полиморфных локусов, а для сравнения генетических структур различных групп животных – значениями генетических дистанций (Глазко В.И., 1996). Согласно опубликованным материалам наименьшее значение уровня средней гетерозиготности наблюдается у видов, которые представлены малой численностью пород (козы= $n=20$, гетерозиготность на локус – 0,001-0,05) и наоборот, виды животных с большим количеством пород имеют и наибольшие показатели гетерозиготности (крупный рогатый скот, $n=1100$; 0,069-0,260; свиньи – $n=203$; 0,028-0,066; лошади – $n=400$; 0,030-0,160). Чем больше пород у вида, тем чаще встречаются высокие показатели величины генетических дистанций (по М. Нею, 1972).

Исследования активности АС АЛТ, щелочной фосфатазы, ЛДГ, γ -GT сыворотки крови черно-пестрого скота показали генотипическую и возрастную изменчивость ферментов, выявлены корреляционные зависимости отдельных из них с уровнем молочной продуктивности.

На овцах доказана зависимость между лактатдегидрогеназой, фосфолипидами, интенсивностью эндогенного дыхания кожи с настригами шерсти.

Полиморфные системы эстеразы Д, аденозиндеаминазы, фосфоглюкомутаза также используются как молекулярно-генетические маркеры в свиноводстве.

Tf-локус типа АД и ДД у молочного скота достаточно тесно сопряжен с активностью обменных процессов и молочной продуктивностью коров.

В амилазном локусе джерсейская порода отличается высокой частотой аллеля A_mB (0,792) по сравнению с симментальским скотом (0,766).

Изоферментный полиморфизм глюкозофосфатизомеразы (ГФИ) обуславливает ее использование как маркера для идентификации линий и видов животных в популяции. Для разделения изоферментов ГФИ применяют электрофорез в крахмальном геле (Peterson et al., 1978) и на ацетате целлюлозы, но лучше всего на полиакриламидном геле (ПААГ).

Скрининг биохимических систем серого украинского скота выявил полиморфизм по 6 локусам: AM, CP, GC, NP, TF и pTF ($h=0,068$; Дымань Т.Н., 1999).

В мясном скотоводстве по локусу трансферрина породы можно разделить на две группы: с доминированием аллельного варианта TfA (ангусы американской и британской селекции) и доминирования аллельного варианта TfD2 (симменталы австрийской селекции (0,406)). Высокая частота обусловлена тем, что в данной группе (симменталы) преобладали генотипы TfD2 – 19%, TfD1D2 – 15%, TfD2D2 – 17%. Аллельный вариант A_m-1-B имеет частоту 0,940 у симменталов, в т.ч. повышена частота гомозигот A_m-1BB (Глазко В.И., 1999).

ИММУНОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

Исследован процесс передачи в поколениях животных наследственного материала родителей на основе мониторинга распространения в линиях и семействах аллелей В-системы групп крови. Теоретически можно рассчитать максимально возможное число поколений, особи которых могут обмениваться генами в процессе полового размножения: $1=At:Am$, где A_m –

возраст наступления половой зрелости; A_t – предельный возраст особей, участвующих в размножении (Мина М.В., 1971, цит. По Яблоков А.В., 1987). Для коров A_m – 18 месяцев, A_t = 12 лет. Следовательно, их генетический материал сохраняется в потомстве на протяжении 8 поколений. Теоретически это значит, что семейство реально существует для 8 поколений потомков данной родоначальницы (Иванова Н.В., 1994). Однако анализ 12 семейств черно-пестрого скота по 4-7 поколений каждое, выявил более длительное наследование в поколениях потомков материнских аллелей относительно отцовских. Последние большей частью элиминируются уже во втором поколении. Например, в семействе Мушки 982 аллель BGKYO' наследовался от родоначальницы до пятого поколения включительно. Отцовские фенотипы не получили распространения.

В Институте животноводства УААН Н.В.Иванова и В.И.Россоха (1996) исследовали избирательность при осеменении коров спермой разных быков. Наиболее плодовитыми были пары “корова-бык” с невысокой степенью антигенного сходства, в пределах 0,1-0,39. В группе антигенного сходства на уровне 0,40-0,69 было мало животных, что свидетельствует о действии генетических процессов, препятствующих увеличению численности гомозиготных особей, сходных по набору эритроцитарных антигенов.

Эти же авторы провели анализ спектра материнских аллелей: наибольшее распространение получили BGKYE'; BGKYD; BOYD'; G2; GYE'Q'; Y. В потомстве выявлено 30 различных генотипов из 435 теоретически возможных и 2/3 из них встречаются в единственном экземпляре. Е.Г.Федотова, Н.Г.Букаров (1996) считают, что генетическое маркирование по антигенам эритроцитов, антигенам гистосовместимости, ДНК-маркерам и др. является составной частью современной технологии разведения животных, позволяющий оптимизировать процесс на основе учета генетической индивидуальности каждого животного и генетической структуры всей популяции.

Берникова Н.Н. (1996) исследовала более 200 высокопродуктивных коров черно-пестрой породы с удоем выше 8000 кг молока за лактацию и установила повышенную частоту аллелей 01A2' и 01A2'J'K'O' ($P > 0,999$). В группе выбывших коров значительно больше животных с аллелями B2G2Y2O' и B2Y2G'P'Q'G". Большая часть высокопродуктивных коров получена от родительских пар с индексом сходства от 0,625 до 0,750. От родителей с индексом сходства менее 0,500 высокопродуктивных потомков не получено.

Подоба Б.Е. (1996) отмечает, что в ГПЗ «Тростянец» полукровный по голштинской породе бык Мрамор 9630 получил аллель GYD' от голштинского производителя Импровера, а OI'Q' – от симментальской коровы. От 22 дочерей Мрамора были получены внуки, из которых 5 имели аллель CYD' и 9 - OI'Q', у остальных внучатых потомков аллели Мрамора были элиминированы. В племзаводе «Белоречецкий» от голштинского быка Эклза 327, гомозиготного по аллелю GYE'Q', все его дочери получили данный маркер. От них было получено 42 внука, из которых 28, т.е. 2/3 унаследовали от своих матерей этот аллель.

А.П.Довганюк, В.И.Россоха (1994) провели анализ 12 заводских семейств и 5 линий симментальского скота племзавода «Червоний Велетень» по В-системе групп крови в ряде поколений коров. Отмечено, что в течение 5 последовательных поколений сохранялись феногруппы маркеров родоначальниц семейств, что доказывает на существование процессов, благоприятствующих сохранению материнского генетического материала.

У черно-пестрого скота исследовали эритроцитарный полиморфизм и устойчивость к болезням копыт по 7 генетическим системам, включающим 58 антигенных факторов (Петухов В.Л., 1996). Доказано влияние генотипа быка-производителя на частоту заболевания дистального отдела конечностей дочерей: от 0,0 до 23,4%. По данным некоторых авторов (F.Nogreve, 1979) существует различная восприимчивость к заболеванию копыт в области

межпальцевого свода с некоторыми антигенами F-V и S-U-генетических систем групп крови.

Специфические аллели, характерные для отдельных пород, встречаются редко. Фактическое различие между породами характеризуется неодинаковой частотой совокупности определенных аллелей. Для оценки генетического сходства пород предложены разные способы, но чаще используют формулу Rogers (1972), по которой вычисляют коэффициент различия d_3 , где X и Y – частоты одноименных аллелей в сравниваемых популяциях. Чем больше d_3 , тем больше степень генетического сходства.

Результат исследований антигенного состава и аллелофонда систем групп крови быков-производителей позволили выявить их связь с количественными и качественными показателями спермы (Чухрий Б.М. и соавт., 1998). На племпредприятиях используют быков с высокой оплодотворяемостью спермы – больше 70% после первого осеменения (их численность – 30-45%), средней – 50-60% ($n=50-60\%$) и низкой – меньше 50% (численность – до 12%) плодотворных осеменений.

В ряде работ (Peter W., 1982; Максимова Т.М., 1980; Новоставский В.Н., 1984; Вагонис З., Виникас А., 1981, и др.) доказано прямое влияние быков на плодовитость их дочерей. Аллель G" маркирует большой объем эякулята, выживаемости и числа живых спермиев; $O_2Y_2I_2'K'O'$ – высокую концентрацию (1,3-2,0 млрд/мл), выживаемость (120-160 мин.), активность; G_3 – концентрацию, количество живых спермиев; $Y_2G'G''$ – концентрации, активности сукцинатдегидрогеназы. Аллель $C_{12}Y_2E_2'Q'$ – индифферентна ко всем исследуемым показателям качества спермы, однако в генотипе с I_2' , B_2O' , G", D', D'O'G', $O_2Y_2J_2K'O'$ - маркер высокой активности СДГ.

Генотип $G_2Y_2E_2'Q'$ с аллелями B_2O' , $O_2Y_2J_2K'O'$ и G" есть маркерами высоких показателей объема эякулята, концентрации и выживаемости спермиев.

Аллели G-системы также связаны с показателями спермы. У быков чернопестрой породы местной селекции аллели X_2R_2 и C_1 являются

маркерами высокой концентрации спермиев и активности СДГ. В S-системе аллели, имеющие наибольшую частоту встречаемости (H', S₁H', H'U' и "S") индифферентны ко всем исследуемым показателям.

Таким образом, в В- и С-системах групп крови идентифицировано наибольшее количество аллелей и генотипов, из которых 23-76% есть маркерами высоких значений показателей спермы. Быки-производители принадлежали к следующим породам: местная черно-пестрая, голландская, голштинская, британо-фризская и помеси между ними.

В Институте разведения и генетики сельскохозяйственных животных использовали генотипические маркеры для контроля происхождения телят-трансплантантов, полученных от гетероспермного осеменения коров-доноров эмбрионов. Оттаянные эякуляты спермы двух-трех быков холмогорской породы смешивали равными частями со сходными показателями активности и концентрации сперматозоидов и приводили осеменение коров-доноров. Подбирались быки, имеющие достоверные различия по антигенному составу параллельных В и С локусов групп крови между коровой и быком и между быками.

В результате гетероспермного осеменения 82 коров-доноров получено 459 эмбрионов. При пересадке эмбрионов, полученных от гетероспермного осеменения спермой двух быков, получено 59% телят от разных отцов, спермой трех быков – наблюдали следующее соотношение телят (в среднем, на донора): 35 % телят от одного отца, 35% – от двух отцов и 30% – от трех отцов, что подтверждает вероятностный процесс оплодотворения (Завертяев Б.П., Ялуга В.Л., 1999).

ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ И ХРОМОСОМНЫЕ МАРКЕРЫ

Метод трансплантации эмбрионов требует учета не только показателей продуктивности коров-доноров, но и их цитогенетических характеристик клеток крови коров – и количеством получаемых от них эмбрионов. У коров красной горбатовской породы выявлена коррелятивная

связь ($r=0,66$) между числом клеточных делений на 100 клеток и количеством двухъядерных лимфоцитов. Частота встречаемости метафаз коррелировала $r=-0,53$ с митотическим индексом. Хромосомные aberrации в клетках периферической крови коррелировали с количеством получаемых эмбрионов ($r=0,58$). Известно, что высокая частота встречаемости в клетках крови метафаз с хромосомными aberrациями у родителей, особенно у матерей, ассоциирована с высоким процентом генетических и цитогенетических дефектов эмбрионов. Выявленная связь между митотическим индексом (МИ=число клеточных делений на 1000 клеток) и частотой встречаемости метафаз с хромосомными aberrациями существенно упрощает процесс отбора доноров, так как вместо трудоемкого цитогенетического анализа проводят простой подсчет делящихся клеток в клеточных популяциях периферической крови (Глазко Т.Т. и соавт., 1996).

В Институте разведения и генетики животных УААН проведены исследования генетических дефектов в сперме быков при использовании интерференционной микроскопии абсолютного количества ДНК индивидуальных спермиев. Проводили измерение количества сухого вещества и ДНК в клетках 14 быков-производителей. Цитогенетический анализ клеток крови и интерференционно-микроскопические спермы позволили выявить трех быков с синдромом Клейнфельтера. Потомки быков с лишней X-хромосомой отличались скороспелостью, однако телочки имели, как правило, недоразвитые генитальные органы (Васильев В.С. и соавт., 1994).

В.Ю.Лобков и Н.Г.Букаров (1999) отмечают, что профилактика распространения аномалий развития у крупного рогатого скота осложняется широким использованием в селекционной работе импортных производителей, зачастую не прошедших генетическую аттестацию на хромосомные и молекулярно-генетические (BLAD, DUMPS) аномалии. Отмечаются уродства следующих видов: длинные уши, удлиненное туловище, укороченные ноги, раздвоенный круп, пучеглазие, рождение жизнеспособных телят с 6-ю

конечностями (отец – голштинский бык Легенд 225 НГФ 387), потомки быка Консул 207 (голштин) родились с двумя хвостами.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ

Для оценки резистентности животных используют иммуногенетическую реактивность, как формы естественной резистентности, по результатам клеточного и гуморального иммунитета. Клеточный иммунитет оценивают по специфической внутрикожной пробе на фитогемаагглютинин (ФГА), гуморальный – по выработке антител на эритроциты барана. Исследования черно-пестрого скота показали (Сердбк Г.Н., 1996), что в низкорезистивной группе коров (113 голов) было 61% животных, инфицированных лейкозом, а у высокорезистивной – 4,3%. Этот метод позволяет отбирать для последующего воспроизводства животных с высокой иммунологической реактивностью, более устойчивых к лейкозным заболеваниям.

Полиморфные белковые системы, как и группы крови, являются генетическими маркерами. В производственных условиях наиболее доступные для анализа – это трансферрины и посттрансферрины. У больных бруцеллезом коров красной степной, черно-пестрой и холмогорской пород с наибольшей частотой встречаются гетерозиготы TfAD, у здоровых – гомозиготы TfAA. Риск заболеваемости существенно возрастает по посттрансферринам с увеличением концентрации генотипов ВВ (Семендеева Л.А., 1996).

Я.З.Лебенгарц (1996) выявил высокую корреляцию ($r=0,8$) между показателем бактерицидной активности сыворотки крови (БАСК) и удоем первотелок: $y=79,77+65,99 \times \text{БАСК}, \%$

В институте физиологии им. И.П.Павлова (Санкт-Петербург) провели поиск экспресс-метода оценки и прогнозирования индивидуальных особенностей реагирования организма на изменения факторов внешней среды и способности адаптации к ним.

Использован тест чувствительности животных к фенилтиокарбамиду (ФТК). Доказано, что животные, ощущающие ФТК, более резистентны к аноксии по сравнению с неощущающими, что связано с активностью Ca^{++} (Павлова М.б., 1996).

Ген DUMPS – рецессивный ген в наследственности голштинского молочного скота. Это – наследственно-обусловленное заболевание, обусловленное нарушением обмена веществ и проявляется дефицитом фермента уридинмонофосфатсинтетазы (УМФС). Этот фермент имеет связь с воспроизводительной функцией животных и влияет, в частности, на выживаемость потомства. Этот признак контролирует рецессивный ген. Если оба родителя являются носителями этого гена, то, в среднем, 25% эмбрионов погибает на ранней стадии развития (до 40 дней). Однако, это не происходит, если лишь один из родителей является носителем DUMPS-фактора. Для предотвращения ущерба от этого заболевания целесообразно тестировать всех племенных животных, и в первую очередь быков-производителей, на наличие фермента УМФС в крови животных. Животных, имеющих дефицит указанного фермента, метят кодом DP и выбраковывают.

Наиболее детально это заболевание исследовано учеными Рейнского сельскохозяйственного объединения (ФРГ) и университета г.Неймвегина (Нидерланды). Стоимость услуги тестирования животных на наличие УМФС-фермента составляет в ФРГ 60 марок (до введения Евро в обращение).

Анализ родословных импортных коров и быков из США и Канады свидетельствует, что в Украину завезены племенные животные, пораженные этим рецессивным геном. Носителями гена DUMPS являются следующие голштинские производители: HURTGEN-VUE MARATHON 362017C, TO MAR WAYNE HAY 9804790, SWEET-HAVEN TRADITION 1682485, GREENLEDGE SEGIS CHIEF NED 1720087, SIEWERT VOLNT CHRISATION-ET 1844328 и другие (Винничук Д.Т., 1999).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, молекулярно-генетические маркеры животных и ДНК-технологии широко используются в селекции животных на основе принципов MAS (Marker Assisted Selection), особенно в связи с полиморфизмом каппа-казеина, соматотропного гормона, движения генетической информации от родоначальников к потомству в течение ряда поколений животных, ранней оценки генотипа животных на основе комплексного анализа аллелей групп крови, маркирования линий и семейств и т.п.

Второе важное направление – использование MAS и ДНК-технологий для диагностики инфицированности крупного рогатого скота на лейкоз, устойчивости к маститным заболеваниям, уровня резистентности организма, использование системы BoLA, особенно аллельных вариантов гена BoLA-DRB3, ассоциирующихся с устойчивостью к лейкозу и т.п.

Третье направление - диагностика и нивелирование животных, несущих генетически обусловленные заболевания, например, BLAD, Mulefoot, DUMPS, BD, PG, особенно те, которые наследуются по рецессивному типу.

Четвертое направление – мониторинг накопленной информации для решения ряда общебиологических задач – повышение точности отбора животных на ранних этапах их филогенеза, исследования гетерогенности стад, поиск породоспецифических маркеров, составление генетических карт, QTL, повышение воспроизводительных качеств животных, длительности их хозяйственного использования и т.п.

Пятое направление – использование генетических маркеров позволяет вести длительную селекцию ограниченного поголовья животных без завоза производителей из других популяций, следовательно, является эффективным методом сохранения генофонда ценных, малочисленных, исчезающих пород.

Шестое направление – учитывая ухудшение экологии, нарастания стрессовых ситуаций, распространение вирусных заболеваний представляется перспективными исследования по ДНК-иммунизации

животных в профилактике инфекционных заболеваний, конструирование и использование ДНК-вакцин.

Седьмое направление – генная терапия наследственных заболеваний, типа гемофилия, различных синдромов.

ЛИТЕРАТУРА

Бадагуева Ю.Н., Сулимова Г.Е., Удина И.Г. Исследование полиморфизма гена каппа-казеина у крупного рогатого скота // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С.5.

Балацкий В.Н., Лисовский И.Л. Генетический полиморфизм соматотропина // Цитология и генетика. - К., 1998. - Т. 32. - № 2. - С. 92-104.

Баранова Н. Генетическая оценка многоплодных коров // Молочное и мясное скотоводство. – М., 2002. - № 3. – С. 24-26.

Берникова Н.Н., Сердюк Г.Н., Силин Ю.В. Повышение эффективности селекции крупного рогатого скота с использованием генетических маркеров групп крови // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Аграрна наука, 1996. - С.46-47.

Вагонис З., Виникас А. Изучение зависимости между группами крови и репродуктивными качествами у крупного рогатого скота // Генетические основы селекции крупного рогатого скота. – К.: Наукова думка, 1981. - С. 91-93.

Васильев В.С., Раковский Я.П., Бегма А.А., Бегма Л.А. Выявление генетических дефектов в сперме // Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1994. - С.112-113.

Винничук Д.Т., Созинов А.А. Ген “BLAD” в наследственности голштинского скота // Вісник аграрної науки – К., 1994. - № 6. - С. 44-45.

Винничук Д.Т. Ген DUMPS в молочном скотоводстве // Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Нора-Принт, 1999. - С. 47-48.

Вінничук Д.Т. Елімінація дефектних генів у спадковості голштинської породи // Науковий вісник НАУ. – К., 1998. - Вип. 3. - С. 65-68.

Винничук Д.Т. Дефектные гены голштинского скота // Сб. Конкурентноспособное производство продукции животноводства в республике Беларусь. – Жодино, 1998. - С. 16-18.

Винничук Д.Т. Селекція корів за локусами QTL // Вісник аграрної науки. - К., 2001. - № 3. - С. 48-50.

Глазко Т.Т., Винничук Д.Т., Созинов А.А. Гематологический химеризм у близнецов крупного рогатого скота // Цитология и генетика. - К., 1992. - Т. 26. - № 5. - С. 6-11.

Глазко Т.Т., Сафонова Н.А., Глазко Г.В. и др. Цитогенетическая изменчивость клеток крови и количество эмбрионов у коров-доноров // Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Аграрна наука, 1996. - С.81.

Глазко В.И. Використання методів ДНК-технологій у селекційному процесі // Вісник аграрної науки. - К., 1999. - № 1. - С. 45-50.

Глазко В.И. ДНК-технологии животных. К.: Нора-Принт, 1997. – 173 с.

Глазко В.И., Доманский Н.Н., Созинов А.А. Современные направления использования ДНК-технологий // Цитология и генетика. - К., 1998. - Т. 32. - С. 80-93.

Глазко В.И. Сохранение биоразнообразия с использованием молекулярно-генетических маркеров. – К.: Аграрна наука, 2000. - № 8. – С. 13-14.

Глазко В.И., Шульга Е.В., Дымань Т.Н., Глазко Г.В. ДНК-технологии и биоинформатика в решении проблем биотехнологий млекопитающих. - Б.Церковь, 2001. – 488 с.

Гобечия А.Б., Езерский В.А., Шевченко В.Г. Генотипирование крупного рогатого скота по аллельным вариантам генов белков молока // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1994. - С.12-13.

Горелин О. Изменчивость белкового состава молока // Молочное и мясное скотоводство. – М., 2002. - № 5. – С. 29-30.

Довганюк А.П., Россоха В.И. Некоторые биологические закономерности формирования генетической структуры генеалогических субъединиц стада // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1994. - С. 78.

Димань Т.М., Ланін Е.В. Поліморфізм капа-казеїну і сиропридатність молока корів лебединської породи // Агроекологія і біотехнологія. Зб. наук. праць. - К.: Нора-принт, 2000. - Вип. 4. - С. 187-191.

Дымань Т.Н., Глазко В.И. Полиморфизм гена каппа-казеина, его связь с хозяйственно-ценными признаками у крупного рогатого скота // Цитология и генетика –1997. - Т. 31. – № 4. - С. 114-118.

Завертяев Б.П., Ялуга В.Л. Использование генетических маркеров для контроля происхождения телят-трансплантантов, полученных от гетероспермного осеменения коров-доноров эмбрионов // Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Нора-принт, 1999. - С. 54-55.

Захаров И.А. Генетическое картирование генома крупного рогатого скота // Цитология и генетика. – 1992. - Т. 26. - № 5. - С. 67-72.

Злыднев Н.З. Програма совершенствования айрширов в Финляндии – ASMO // Зоотехния. – М., 1999. - № 10. – С. 31.

Иванова Н.В., Россоха В.И. К вопросу о новом критерии понятия “линия” и “семейство” на основании использования генетических маркеров //

Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1994. - С. 84.

Иванова Н.В., Россоха В.И. К вопросу о методах повышения воспроизводительных качеств коров и продуктивных характеристик их потомков // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Аграрна наука, 1996. - С. 55.

Иванова Н.В., Россоха В.И. К вопросу о методах изучения комбинаторики наследственной информации крупного рогатого скота // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Аграрна наука, 1996. - С. 56.

Иващура А.А., Розсоха В.І., Орлова А.Р. Резистентність до хронічного лімфолейкозу великої рогатої худоби // Зб. Молекулярно-генетичні маркери тварин. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 56-57.

Иолчиев Б., Еремина М. Использование полиморфных систем белков молока в селекции // Молочное и мясное скотоводство. - 1996. - № 2. - С. 20-22.

Калашникова Л.А. Генотипирование тканей химерных животных // Вестник РАСХН. - М., 1998. - № 1. – С. 72-73.

Калиевская Г. Влияние некоторых причин на продуктивное долголетие коров // Молочное и мясное скотоводство. – М., 2002. - № 5. – С. 21-23.

Комаров А.А. и соавт. Определение видовой принадлежности тканей жвачных животных // Ветеринария – 2000. - № 3. - С. 59-63.

Корохов Н.П., Логинова Ю.А., Симоненко В.Н. Физическое картирование и секвенирование микросателлитсодержащих последовательностей ДНК *Bos taurus* L. // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 12-13.

Костецкий И.Е., Кириленко С.Д., Глазко В.И. Диагностика VLAD у крупного рогатого скота // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 14.

Лобков В.Ю., Букаров Н.Г. Генетическое маркирование и профилактика распространений аномалий развития у крупного рогатого скота // Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Нора-принт, 1999. - С. 96-97.

Малярчук Б.А., Радченко О.А. Маркеры митохондриальной ДНК // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 16.

Маниатис Т. и соавт. Молекулярное клонирование. – М.: Мир, 1984. – 399 с.

Манк М. Биология развития млекопитающих. Методы. – М.: Мир, 1990. – 406 с.

Мисостова Н.В., Винничук В.Т., Подоба Б.Е. Аллели системы В групп крови как маркеры при изучении генотипа быка-производителя // Сельскохозяйственная биология. - М., 1974. – Т. 9. - № 5. - С. 733-735.

Максимова Т.М. Оценка быков-производителей по репродуктивным качествам дочерей // Зоотехническая наука Белоруссии. – Мн., Ураджай, 1980, 21, с. 10-13.

Маринчук Г.Е. Сопряженность молочной продуктивности крупного рогатого скота с комплексом локусов сцепленного блока казеина и β -лактоглобулина // Цитология и генетика. - 1992. - Т. 26. - № 5. - С. 48-52.

Никитин А., Никитина З., Васильев И. О применении иммунобиотехнологической технологии в воспроизводстве // Молочное и мясное скотоводство. – М., 2000. - № 3. – С. 28-30.

Новоставский В.Н. Влияние антигенных факторов групп крови быков на показатели их спермопродукции // Молочно-мясное скотоводство. – 1984. - Вып. 65. - С. 40-42.

Облап Р.В., Зеленый С.Б. Выявление провирусной ДНК вируса лейкоза крупного рогатого скота методом PCR // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 17-18.

Орлова А.Р., Сулимова Г.Е., Удина И.Г. Молекулярные аспекты резистентности и восприимчивости к гемобластам крупного рогатого скота //

Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996 - С. 66.

Пабат В.А., Винничук Д.Т. Теоретические и практические аспекты молочной продуктивности коров. – К.: АТЗТ «Друк», 1999. – 184 с.

Пабат В.О., Вінничук Д.Т. Основи генетики і тваринництва. - К.: Аграрна наука, 1997. – 184 с.

Пабат В.А., Трофименко А.Л., Винничук Д.Т. Генетика иммунитета животных. – К.: Наукова думка, 2002. – 23 с.

Пабат В.О., Трофименко О.Л., Вінничук Д.Т. Генетика великої рогатої худоби. – К.: ТОВ «Оріон», 2000. – 105 с.

Павленко С.П., Орлова А.Р., Романов В.И. Роль ВоLA-системы в генетическом контроле резистентности к гемобластозам // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 67.

Павлова М.Б., Болехан Е.А., Самойлов М.О. Вкусочувствительность к ФТК как генетический маркер // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 96.

Петухов В.Л., Косолапиков А.В., Желтиков А.И. Эритроцитарный полиморфизм и устойчивость крупного рогатого скота к болезням копыт // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 67-68.

Подоба Б.Е., Винничук Д.Т., Ефименко М.Я. Применение генетических маркеров при ведении селекционной работы в заводском стаде крупного рогатого скота // Цитология и генетика. - 1992. - Т. 26. - № 5. - С. 41-48.

Подоба Б.Е. Иммуногенетический анализ // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Аграрна наука, 1996. – С. 49.

Рысков А.П. Геномная дактилоскопия // Геном человека. Инф. бюл. - М.: ВИНТИ, 1990. - № 3. - С. 1-40.

Свердлов Е.Д. Очерки современной молекулярной генетики. Очерк 6. Генная терапия // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 1997. - № 2. - С. 3-28.

Сердюк Г.Н., Силин Ю.В., Сторожилова Т.П. Иммуногенетическая реактивность и возможности ее использования для оценки резистентности животных // В сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 73.

Семендеева Л.А., Бороздин Э.К., Джахаев С.Д. Генетические маркеры устойчивости к бруцеллезу крупного рогатого скота // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Аграрна наука, 1996. - С. 72-73.

Созинов А.А., Винничук Д.Т., Гавриленко Н.С. Экспертиза родословных импортного скота США и Канады. – К.: Нора-принт, 1999. – 23 с.

Сопотницкий М.В. ДНК–иммунизация в профилактике инфекционных болезней сельскохозяйственных животных // Ветеринария. - М., 1998. - № 5. - С. 18-24.

Сулисова Г.Е. ДНК-маркеры и возможности их использования в генетико-селекционных исследованиях // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Аграрна наука, 1996. - С. 20.

Уотерман М. Поиск консенсусов // Математические методы для анализа последовательностей ДНК. Перев. с англ. - М.: Мир, 1999. - С. 41-117.

Туркова С.О., Сулимова Г.Е. Метод определения аллельных вариантов гена *BoLA-DRB3* // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Аграрна наука, 1996. - С. 21-22.

Хаертдинов Р.А., Афанасьев М.П., Ахметов Т.М. Изменение генетической структуры и технологических свойств молока холмогорского скота // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. - К.: Аграрна наука, 1996. - С. 42-43.

Хаертдинов Р.А., Афанасьев М.П., Ахметов Т.М., Верещагин В.Ф. Генетическая изменчивость молочных белков у помесей холмогорская х венгерская голштинская // Зоотехния. - 1998. - № 3. - С. 5-6.

Хаертдинов Р.А. Содержание белков в молоке коров бестужевской породы с различными генотипами по α_{31} - , β - , χ - казеинам и β - лактоглобулину // Сельскохозяйственная биология. - 1998. - № 5. - С. 71-75.

Чухрій Б.М., Клевець Л.О., Чайковська О.І. Групи крові бугаїв як генетичні маркери якості сперми // Цитология и генетика. - К., 1998. – Т. 32. - № 2. - С. 74-79.

Чухрій Б.М., Клевець Л.О. Імуногенетичні системи крові бугаїв і якість сперми // Сб. Молекулярно-генетические маркеры животных. – К.: Нора-принт, 1999. - С. 117.

Эрнст Л.К. Состояние и перспективы генной инженерии сельскохозяйственных животных // Аграрная наука. - М., 1996. - № 1. - С. 8-9.

Юров Г.К. и соавт. Конструирование и использование ДНК-вакцин // Ветеринария. - М., 1998. - № 12. - С. 25-27.

Ajmone-Marsan P., Valentini A., Cassandro M. et al. AFLP markers for DNA fingerprinting in cattle // Animal Genetics. – 1997. - Vol. 28. - P. 418-426.

Avise J.C. Molecular Markers, natural history and evolution. – Chapman Hall. Inc. New York-London., 1994. – 511 p.

Banyko J., Borse Z. Detection of kappa-casein genotypes in bulls of cattle breeds // Vet. Med. – 1995. - Vol. 40. - P. 165-169.

Berezney R., Coffey D.S. Identification of a nuclear protein matrix // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1974. - Vol. 60. - P. 1410-1417.

Beckmann J.S., Kashi Y., Hallerman E.M. et al. Restriction fragment length polymorphism among israeli Holstein-Friesian dairy bulls // Anim. Genet. – 1986. – Vol. 17. – P. 25-38.

Besenfelder U., Muller M., Brem G. Transgenics and modern reproductive technologies // The Genetics of the Pig. – 1998. – P.345-374.

Biochard D. et al. Effect of bovine leucocyte adhesion deficiency genetic defect in Holstein cattle under farm conditions // 46th Ann. Meet. Eur. Assoc. Animal Prod. – Prague. - 1995. - P. 114-115.

Bondioli K.R. Nuclear transfer in cattle // Proc. Inter. Simp. Anim. Biotech. Kyoto. Japan. 1991. - P. 117-119.

Bosze Z., Dony J. Improvement of the quality of milk protein by new biotechnological methods // Hungarian Agricultural Research. 1993, Vol. 2, p. 26-29.

- Brem G. Transgenic animals // In: Biotechnology, VCH. – 1992, p.745-832.
- Brown D.R. et al. Mitochondrial respiratory metabolism and performance of cattle // *Anim. Sci.* – 1998. - Vol. 66. - P. 1347-1350.
- Campbell K.H.S. et al. Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line // *Nature.* – 1996. - Vol. 380. - P.64-66.
- Chen E.Y. et al. The human growth hormone locus: nucleotide sequence, biology and evolution // *Genomics.* – 1989. - Vol. 4. - P. 479-497.
- Chikuni K., Manatsuma T. The genetic variants of growth hormone for the Japanese cattle // *Animal Sci. and Technol.* – 1994. - Vol. 65. - P. 340-346.
- Collas P., Barnes T.L. Nuclear transplantation by microinjection of inner cell mass and granulosa cell nuclei // *Met. Reprod. Dev.* – 1994. - Vol. 38. - P.264-267.
- Dwarki V.J. Gene therapy for hemophilia A: Production of therapeutic levels of human factor VIII in vivo in mice // *Sci.* – 1995. - Vol. 92. - P. 1023-1027.
- Erhardt G. Kappa-casein in bovine milk // *T. Animal Breeding and Genetics.* – 1989. - Vol. 106. - P. 225-231.
- Erhardt G., Brew C. Genetische charakterisierung von experimentale erstellten Rinder chimaren // *Z. Tierzucht. und Zuchtungsbiol.* – 1989. - Vol. 106. - S.67-76.
- Fritz H., Bach M. Xenotransplantation: problems and prospects // *Animal Reviews Med.* – 1998. - Vol. 49. - P.301-310.
- Taenish R. Transgenic animals // *Science.* – 1989. - Vol. 240. - P.1468-1474.
- Kay M.A., Woo S.L.C. Gene therapy for methabolic disorders // *TIG.* - 1994. - Vol. 10. - P.253-257.
- Kimura M. Population genetics, molecular evolution and the neutral theory // *The University of Chicago Press. Chicago and London.* - 1994. - 686 p.
- Kraemer D.C., Minhas B., Loskutoff N. Strategien für einen Einsatz des Gentransfers in der Rinderproduction // *Züchtungskunde.* – 1986. - S. 32-37.

Lactoferrin Structure and Function // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 1994. - Vol. 357. - 158 p.

Lobo C. Et al. Inhibition of glutaminase expression by antisense mRNA // *Biochem. J.* – 2000. - Vol. 348(2). - P. 257-261.

Lucy M.C., Yauser S.D., Eppard P.J. et al. Variants of somatotropin in cattle: gene frequencies in major dairy breeds and associated milk production // *Domestic Anim. Endocrinol.* – 1993. – Vol. 10, 4. - P. 325-333.

Ma R.Z. et al. A made linkage map of the cattle genome // *Heredity.* – 1996. - Vol. 87. - P. 261-271.

Miranda G. et al. Biochemical characterization of the bovine genetic kappa-casein C and E variants // *Animal Genetics.* – 1993. – Vol. 24. - P. 27-31.

Myllys V. et al. Persistence in bovine mastitis of *Staphylococcus* // *Veter. Microbiol.* – 1997. - Vol. 57. - P. 245-251.

Naj S. et al. Growth hormone gene polymorphism // *Anim. Gen.* – 1993. – Vol. 24. - P.91-96.

Nei M., Takezaki N. Estimation of genetic distances and phylogenetic trees from DNA analysis // In: *Proc. 5th World Congress on Genetic. Canada.* – 1994. - Vol. 21. – P . 405-412.

Ozil J.P. Production of identical twins by bisection of blastocysts in the cow // *Reprod. Fertil.* - 1983, Vol. 69, p.463-468.

Parada R., Jaszcerak K. A cytogenetic study of cows from a highly industrial or an agricultural region // *Mut. Res.* - 1993, Vol. 300, p.259-263.

Parson Y.M., Cooper D.W., Piper L.R. RELPs at the bovine locus for growth hormone // *Animal Genetics*, 1992, Vol. 23, p.571.

Pascoe W.S., Kemler R., Wood S.A. Genes function // *Biochim. Biophys. Acta.* - 1992, Vol. 1114, p. 209-271.

Paul W.E., Seder R.A. Lymphocyte responses at cytokines // *Cell.*, 1994, V. 76, p. 241-251.

Peather R.S. Nuclear transplantation as a method for cloning embryos // *Peoc. Soc. Exp. Biol. a. Med*, 1990, V. 195, p. 7-12.

Phylactov L. Ribozyme and peptide-nucleic acid-based gene therapy // *Adv. Drug Deliv. Rev.* - 2000, V. 44(2-3), p. 97-108.

Piegorsch W.W., Bailer A.J. Statistical approaches for analyzing mutation spectra // *Genetics*, 1994, V. 136, p. 403-416.

Pinkert C., Kooyman D. et al. Enhanced growth performance in transgenic swine // *Biotechnology*, 1991, V. 16, p. 251-258.

Platt J., Parker W. Another step towards xenotransplantation // *Nature Medicine*, 1995, Vol. 1, p. 1248-1250.

Peter W. Fruchtbarkeitsleistung der Vartiere in der Rinderzucht // *Tierzucht.* - 1982, 4, s. 171-173.

Pratter R.S. Nuclear transfer in mammals and amphibious // *Schatten (Red.)*, 1989, p. 323-340.

Prehn R.T. Tumor immunogenicity // *Proc. natl. Acad. Sci. USA*, 1993, V. 90, p.4332-4333.

Prusiner S. Molecular biology of prion diseases // *Science*, 1991, V. 252, p.1515-1522.

Pursrl V., Rerod J. Status of research with transgenic farm animals // *Anim. Sci.*, 1993, V. 71, p.10.

Richardson J.H., Marasco W.A. Intracellular antibodies: development and therapeutic potential // *Infect. Immunol.*, 1995, V. 13, p. 306-310.

Robitaille G. Influence of k-casein and β -lactoglobulin genetic variations on the heat stability of milk // *Dairy Res.*, 1995, V. 62, p. 593-600.

Roemer K., Friedman T. Concepts and strategies for human gene therapy // *Eur. J. Biochem.*, 1992, 2, p. 211-225.

Santner T.J., Duffy D.E. The statistical analysis of discrete data // New York: Springer-Verlag, 1989. - 611 p.

Schaar J., Hansson B., Pettersson H. Effects of genetic variants of kappa-casein and beta-lactoglobulin on cheesemaking // *Dairy Res.*, 1985, V. 52, p. 429-437.

Schlee P. et al. Influence of growth-hormone genotypes on breeding values of Simmental Bulls // *Z. Tierzuch. und Zuchtungsbiol.*, 1994, V. 111, p. 253-256.

Shuster D.E. et al. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle // *Proc. Natl. acad. Sci. – USA*, 1992, Vol. 89, p. 9225-9229.

Simm S.M., first W.L. Production of calves by transfer of nuclei from cultured inner cell mass cells // *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1993, V. 90, p. 6143-6147.

Smith L.C., Wilmut I. Influence of nuclear and cytoplasmic activity on the development in vivo of sheep // *Biol. Reprod.*, 1989, V. 40, p.1027-1035.

Smithies O. Animal models of human genetic diseases // *Trends in Genet.*, 1993, V. 9, p.112-116.

Stice S.L., Kufer C.L., Matthews L. Bovine nuclear transfer embryos // *Molec. Reprod. Dev.*, 1994, V. 38, p. 61-68.

Stice S. Domestic animal embrionic cells. In: *Biotechnologys role in the genetic improvement of farm animals*, 1996, p. 189-202.

Varmus H, *Retroviruses* // *Science*, 1988, V. 240, p. 1427-1435.

Vogt P. Code domains in tandem repetitive DNA sequence structures // *Chromosoma*, 1992, V. 101, p.585-589.

Wall R., Kerr D., Bondioli K. Transgenic dairy cattle: genetic engineering on a large scale // *Dairy Sci.*, 1997, V. 80, p. 2213-2224.

Ward K., Nancarrow C. The genetic engineering of production traits in domestic animals // *Experientia*, 1991, V. 47, p. 913-922.

Wilson I.M. Round two for liver gene therapy // *Nature Genet.*, 1996, V. 12, p. 232-233.

Winkelman D.C. et al. RFLP for Somatotropic Genes identify Quantitative Trait Zoci for Growth in Mice // *Genetics*, 1992, V. 131, p. 929-937.

Yang N.S. In vivo and in vitro gene transfer to mammalian somatic cells // *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1990, V. 87, p .9568-9572.

Yom H., Bremel R. Genetic engineering of milk composition: Modification of milk components in lactating transgenic animals // Clin. Nutr., 1993, V.58, p.2995.

Генетические маркеры в селекции животных
Научное издание

Гончаренко Игорь Владимирович,
Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

Подп. К печати Формат Бумага
Офс. № 1. Офс. печать. Гарн. Таймс.
Усл. печ. лист. ... Усл. краско-из. стр. ... Тираж ... экз.
Зак. ...

Издательство «Наукова думка»