

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ГЕНЕТИКИ  
И РАЗВЕДЕНИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ – ФИЛИАЛ ФГБНУ  
«ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ЖИВОТНОВОДСТВА – ВИЖ  
ИМЕНИ АКАДЕМИКА Л. К. ЭРНСТА»**

## **МАТЕРИАЛЫ**

**Материалы Всероссийской школы-конференции**

**«Клеточные и геномные технологии  
для совершенствования  
сельскохозяйственных животных»**

**21-24 июня 2022 г.**

**Пушкин**

УДК 636.082

П 78

**«Клеточные и геномные технологии для совершенствования сельскохозяйственных животных» //**

Материалы Всероссийской школы-конференции. – Пушкин: ВНИИГРЖ, 2022. – 49 с.

*Технический редактор: Ширяев Г. В.*

**СОДЕРЖАНИЕ:**

ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА D-ПЕТЛИ мтДНК МЕСТНЫХ ПОРОД ЛОШАДЕЙ РОССИИ	
Н. В. Блохина, Л. А. Храброва.....	5
РЕДКИЕ МУТАЦИИ КУР В «ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ПОРОД КУР» ВНИИГРЖ	
А. Б. Вахрамеев . .....	7
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СКОРОСПЕЛОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ ПРИ ВВОДНОМ СКРЕЩИВАНИИ	
Н. А. Гарская, А. В. Ткачёв.....	9
ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ПРОТЕИНАЗИ С НА АКРОСОМНУЮ РЕАКЦИЮ ЗАМОРОЖЕННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ	
В. Ю. Денисенко, Т. И. Кузьмина.....	11
ВЛИЯНИЕ IBMX И ПРОЛАКТИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ЗАМОРОЖЕННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ	
В. Ю. Денисенко.....	13
ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА ТЕЛОЧЕК АБЕРДИН АНГУССКОЙ ПОРОДЫ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО ГЕНУ КАЛЬПАСТАТИНА	
Л. В. Евстафьева, М. И. Селионова, Д. М. Евстафьев.....	15
УМЕНЬШЕНИЕ РИСКОВ ЖИВОТНОВОДСТВА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНОМИКИ	
А. Е. Калашников, Е. Р. Гостева.....	18
ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕЗЕРВАТОВ ТЕМНОЙ ЛЕСНОЙ ПЧЕЛЫ ( <i>APIS MELLIFERA MELLIFERA</i> ) НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ	
М. Д. Каскинова, Л. Р. Гайфуллина, Е. С. Салтыкова.....	20
БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ <i>BOS TAURUS</i> И <i>BOS GRUNNIENS</i> ДЛЯ ПОИСКА SNP С ВЫСОКИМ ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИМ ПОТЕНЦИАЛОМ	
В. Н. Кипень, Ж. Т. Исакова.....	22
SNP НА CHR.8 С ВЫСОКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ <i>SUS SCROFA SCROFA</i> И <i>SUS SCROFA DOMESTICUS</i>	
В. Н. Кипень.....	24

ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОМА РУБЦА КОРОВ С КЕТОЗОМ	
Г. Ю. Лаптев, Е. А. Ёылдырым, А. В. Дубровин, Л. А. Ильина, В. А. Филиппова, Е. С. Пономарева.....	26
ОСВОЕНИЕ МЕТОДА ОРУ НА ЛОШАДЯХ В РОССИИ	
Л. Ф. Лебедева, Е. В. Солодова, А. Б. Дубровская.....	28
ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ И АПОПТОЗ КЛЕТОК ЖЕЛТОГО ТЕЛА КОРОВ IN VITRO ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ	
Е. К. Монтвила, О. С. Митяшова, О. В. Алейникова, И. Ю. Лебедева.....	30
ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОГРАММИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ФЕНОТИПОВ ЖИВОТНЫХ	
М. П. Мошкин, Ю. М. Мошкин, Л. А. Герлинская.....	32
ВЛИЯНИЯ ИНБРИДИНГА И УРОВНЯ ГОМОЗИГОТНОСТИ ГОЛШТИНСКИХ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ НА ОЦЕНКУ ТИПА ТЕЛОСЛОЖЕНИЯ ДОЧЕРЕЙ В ПОДМОСКОВЬЕ	
И. С. Недашковский.....	33
ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ «ВОЛГОГРАД/D(1L-5-6L) MGF110» IN VITRO	
М. В. Нефедьева, А. С. Малоголовкин, И. А. Титов.....	35
КОМПЛЕКСНЫЕ ГЕНОТИПЫ ГЕНА ЛЕПТИНА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА КОСТРОМСКОЙ ПОРОДЫ	
К. Д. Сабетова, С. Г. Белокуров, П. О. Щеголев, А. А. Чацкий, А. Н. Тяжченко, А. Д. Лемякин.....	37
БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ДОМАШНИХ СВИНЕЙ – ПОРОДОСПЕЦИФИЧНЫЕ SNP ДЛЯ ПОРОДЫ ЙОРКШИР	
Е. В. Снытков, В. Н. Кипень, М. Е. Михайлова, О. А. Бемяк, Е. Л. Романишко.....	40
РАЗВИТИЕ ЗАКОНОДАТЕЛЬНОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ЗООИНЖЕНЕРИИ	
А. А. Хигерович.....	42
ВЛИЯНИЕ СУБКЛИНИЧЕСКОГО КЕТОЗА НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ	
Г. В. Ширяев.....	44

**CONTENT:**

FEATURES OF mtDNA D-LOOP POLYMORPHISM OF LOCAL HORSE BREEDS IN RUSSIA	
N. Blohina, L. Khrabrova .....	6
RARE MUTATIONS OF CHICKENS IN THE "GENETIC COLLECTION OF RARE AND ENDANGERED BREEDS OF CHICKENS" RRIFAGB	
A. Vakhrameev.....	8
THE USE OF PIGS THE EARLY-MATURING MEAT BREED IN INTRODUCTORY CROSSBREEDING	
N. Garskaya, A. Tkachev.....	10
INFLUENCE OF PROTEIN KINASE C INHIBITOR ON THE ACROSOMAL REACTION OF FROZEN BULL SPERMATOZOA	
V. Denisenko, T. Kuzmina.....	12
INFLUENCE OF IBMX AND PROLACTIN ON THE FUNCTIONAL STATUS OF FROZEN BULL SPERMATOZOA	
V. Denisenko.....	14
PRODUCTIVE QUALITIES OF ABERDEEN ANGUS HEIFERS OF DIFFERENT GENOTYPES FOR THE CALPASTATIN GENE	
L. Evstafieva, M. Selionova, D. Evstafiev.....	16
REDUCING LIVESTOCK RISKS BY APPLYING ECOLOGICAL GENOMICS	
A. Kalashnikov, E. Gosteva.....	19
SEARCH FOR GENETIC RESERVES OF THE DARK FOREST BEE ( <i>APIS MELLIFERA MELLIFERA</i> ) IN RUSSIA	
M. Kaskinova, L. Gaigullina, E. Saltykova.....	21
BIOINFORMATIC ANALYSIS OF BOS TAURUS AND BOS GRUNNIENS GENOMES TO SEARCH FOR SNPS WITH HIGH DIFFERENTIATING POTENTIAL	
V. Kipen, Zh. Isakova.....	23
SNP ON CHR.8 WITH HIGH POTENTIAL FOR DIFFERENTIATING BETWEEN <i>SUS SCROFA SCROFA</i> AND <i>SUS SCROFA DOMESTICUS</i>	
V. Kipen.....	25

FUNCTIONAL FEATURES OF THE RUMEN MICROBIOME OF COWS WITH KETOSIS	
G. Laptev, E. Yildirim, A. Dubrovin, L. Ilina, V. Filippova, E. Ponomareva.....	27
THE DEVELOPING OF OPU METHOD IN HORSES IN RUSSIA	
L. Lebedeva, E. Solodova, A. Dubrovskaya.....	29
PROLIFERATIVE ACTIVITY AND APOPTOSIS OF BOVINE CORPUS LUTEUM CELLS IN VITRO UNDER THE INFLUENCE OF THYROID HORMONES	
E. Montvila, O. Mityashova, O. Aleynikova, I. Lebedeva.....	31
EPIGENETIC PROGRAMMING OF INDIVIDUAL DEVELOPMENT TO OBTAIN ECONOMICALLY SIGNIFICANT ANIMAL PHENOTYPES	
M. Moshkin, Yu. Moshkin, L. Gerlinskaya.....	32
INBREEDING AND THE LEVEL OF HOMOZYGOSTITY INFLUENCES OF HOLSTINE SIRES ON DAUGHTERS BODY TYPE ESTIMATES IN THE MOSCOW REGION	
I. Nedashkovsky.....	34
CHARACTERISTICS OF THE AFRICAN SWINE FEVER VIRUS "VOLGOGRAD/D(1L-5-6L) MGF110" IN VITRO	
M. Nefedeva, A. Malogolovkin, I. Titov.....	36
COMPLEX GENOTYPES OF THE LEPTIN GENE IN KOSTROMA CATTLE	
K. Sabetova, S. Belokurov, P. Schiogolev, A. Chaitkiy, A. Tyazhchenko, A. Lemyakin...	38
BIOINFORMATICS ANALYSIS OF DOMESTIC PIG GENOMES – BREED SPECIFIC SNPS FOR THE YORKSHIRE BREED	
E. Snytkov, V. Kipen, M. Mikhailova, O. Belyak, E. Romanishko.....	41
DEVELOPMENT OF LEGISLATIVE REGULATION OF ZOOENGINEERING	
A. Higerovich.....	43
THE EFFECT OF SUBCLINICAL KETOSIS ON BLOOD HEMATOLOGICAL INDICATORS	
G. Shiryaev.....	45

## **ОСОБЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА D-ПЕТЛИ мтДНК МЕСТНЫХ ПОРОД ЛОШАДЕЙ РОССИИ**

**Н. В. Блохина, Л. А. Храброва**

**Авторы:** Блохина Н. В., канд. с.-х. наук, старший научный сотрудник лаборатории генетики; nbloh16@yandex.ru; ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-7406-6385>; Храброва Л. А. док. с.-х. наук, профессор, главный научный сотрудник; l.khrabrova@yandex.ru; ORCID ID <https://orcid.org/0000-0003-2590-8472>; ФГБНУ «ВНИИ коневодства»; Россия, 391105, Рязанская область, Рыбновский район, п. Дивово.

МтДНК используется для изучения эволюционных процессов и оценки филогенетических связей между видами и породами. Данные о строении митохондриального генома все шире применяются для характеристики внутривидовой изменчивости и матрилинейной структуры пород лошадей [1]. Целью наших исследований являлось изучение вариабельности мтДНК у лошадей 4 северных лесных пород и анализ их филогенетических связей. Материалом для исследований послужили пробы волос 53 лошадей местных пород, включая 22 вятских, 16 приобских, 5 мезенских и 10 якутских. Анализ последовательности D-петли мтДНК с 15471- 1600 п.н. проводили с учетом референсного генома X79547 [2] и базы данных GenBank о гаплотипах 20 якутских (DQ32280-DQ328057), 18 мезенских (DQ327968-DQ327985) и 18 вятских лошадей (DQ328020- DQ328037). Для филогенетического анализа связи пород использовали модель максимального правдоподобия (MCL) в сочетании с бутстреп анализом (60%). Полученные данные обрабатывали с использованием программы MEGA7. У лошадей местных северных пород было выявлено 106 гаплотипов мтДНК, относящихся к 16 из 18 известных гаплогрупп и дополнительно 3 новых гаплогруппы X, Y и Z. При этом во всех породах лошадей была отмечена высокая индивидуальная вариабельность гаплотипов мтДНК. Варианты гаплогрупп A и L встречались у лошадей всех исследуемых пород. Местные породы лошадей северного ареала заметно различались между собой по своей матрилинейной структуре. Установлены существенные различия в матрилинейной структуре северных местных пород лошадей, подтверждающие уникальность их генофондов.

Исследования проводились при поддержке Российского научного фонда (проект №. 19-7620058)

### Литература:

1. Cothran E.G., Juras R., Macijauskiene V. Mitochondrial DNA D-loop sequence variations among 5 maternal lines of the Zemaitukai horse breed. *Genet. Mol. Biol.* (2005); 28(4): 677-681.
2. Xu, X., Arnason U. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of control region. *Gene.* (1994); 148(2):357-362.

## **FEATURES OF mtDNA D-LOOP POLYMORPHISM OF LOCAL HORSE BREEDS IN RUSSIA**

**N. Blohina, L. Khrabrova**

**Authors:** Blohina N., Candidate of Agricultural Sciences, Senior Researcher at the Genetics Laboratory; nbloh16@yandex.ru ; ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-7406-6385>; Khrabrova L., Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Chief Researcher; l.khrabrova@yandex.ru ; ORCID ID <https://orcid.org/0000-0003-2590-8472>; Research Institute of Horse Breeding; Russia, 391105 Ryazan region, Rybnoe district, p. Divovo.

MtDNA is used to study evolutionary processes and assess phylogenetic relationships between species and breeds. Data on the structure of the mitochondrial genome are increasingly being used to characterize intrabreed variability and matrilineal structure of horse breeds [1]. The aim of our research was to study mtDNA variability in horses of 4 northern forest breeds and to analyze their phylogenetic relationships. Hair samples of 53 horses of local breeds, including 22 Vyatskaya horses, 16 Priobskaya horses, 5 Mezenskaya horses and 10 Yakutskaya horses, served as the material for research. The sequence analysis of the mtDNA D-loop from 15471-1600 bp was carried out taking into account the reference genome X79547 [2] and the GenBank database on haplotypes of 20 Yakut (DQ32280-DQ328057), 18 Mezen (DQ327968-DQ327985) and 18 Vyatka horses (DQ328020- DQ328037). The maximum likelihood model (MCL) in combination with bootstrap analysis (60%) was used for the phylogenetic analysis of the breed relationship. The obtained data were processed using the MEGA 7 program. 106 mtDNA haplotypes belonging to 16 out of 18 known haplogroups and additionally 3 new haplogroups X, Y and Z were identified in horses of local northern breeds. At the same time, high individual variability of mtDNA haplotypes was noted in all horse breeds. Variants of haplogroups A and L were found in horses of all the studied breeds. The local horse breeds of the northern area differed markedly in their matrilineal structure. Significant differences in the matrilineal structure of the northern local horse breeds have been established, confirming the uniqueness of their gene pools.

The research was carried out with the support of the Russian Science Foundation (project No. 19-7620058).

### References:

1. Cothran E.G., Juras R., Macijauskiene V. Mitochondrial DNA D-loop sequence variations among 5 maternal lines of the Zemaitukai horse breed. *Genet. Mol. Biol.* (2005); 28(4): 677-681.
2. Xu, X., Arnason U. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse, *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of control region. *Gene.* (1994); 148(2):357-362.



## **РЕДКИЕ МУТАЦИИ КУР В «ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ РЕДКИХ И ИСЧЕЗАЮЩИХ ПОРОД КУР» ВНИИГРЖ**

**А. Б. Вахрамеев**

**Автор:**

Вахрамеев А. Б., старший научный сотрудник отдела генетики, разведения и сохранения генетических ресурсов с.-х. птиц, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», 196601, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, Московское шоссе, д. 55а, ab\_poultry@mail.ru.

С 2003 года в БРК ВНИИГРЖ появились куры Пушкинской породы с отсутствием одного или нескольких маховых перьев. Первоначально предполагалось, что это следствие действия рецессивного аллеля «выщербленные – ragged wing». Однако в 2006 году из потомства таких кур были получены особи с полностью отсутствующими маховыми перьями. Анализ потомства показал, что в отличие от «выщербленных» особи F1 имели различную экспрессивность признака от нехватки 1-2 маховых перьев до полного их отсутствия. Также значительно колеблется пенетрантность. У первых поколений пенетрантность признака была 25% [1]. В настоящее время она превышает 80%.

Отмечены мутации со сверхвысокой экспрессией признаков [2].

В потомстве Голошейных кур «Naked neck» появился почти голый цыплёнок с оперением лишь на крыльях и голених.

В потомстве пятипалых кур «Polydactyli» выявлен цыплёнок с расщеплением не только заднего пальца, а всей ноги начиная с тиббиотарзального сустава.

Работа выполнена по теме ГЗ НИР № 121052600357-8

**Литература:**

[1] Вахрамеев А. Б., Юрченко О. П. (2010) Отсутствие маховых перьев кур как экспрессивность мутации ragged wing, Повышение продуктивных качеств сельскохозяйственных животных. Сборник межвузовских научных трудов С-Пб ГАУ, С-Пб, 2010, 24-29.

[2] Вахрамеев А. Б., Макарова А. В. Экстерьерная оценка кур, (Электронный ресурс) – Дубровицы, Изд-во ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. ак. Л.К. Эрнста, 2021, 227с.

**RARE MUTATIONS OF CHICKENS IN THE "GENETIC COLLECTION OF  
RARE AND ENDANGERED BREEDS OF CHICKENS" RRIFAGB**

**A. Vakhrameev**

**Author:**

Vakhrameev A., senior researcher of Department of Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding – Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, 196601, St. Petersburg, Pushkin, Moscow highway, 55-a. ab\_poultry@mail.ru.

Since 2003, chickens of the Pushkin breed with the absence of one or more flight feathers have appeared in the RRIFAGB. Initially, it was assumed that this is a consequence of the recessive allele "ragged wing". However, in 2006, individuals with completely missing flight feathers were obtained from the offspring of such chickens. The analysis of the offspring showed that, unlike the "ragged wing" F1 individuals had different expressiveness of the trait from a lack of 1-2 flight feathers to their complete absence. Penetrance also fluctuates significantly. In the first generations, the penetrance of the trait was 25% [1]. Currently it exceeds 80%.

Mutations with ultrahigh expression of signs were noted [2].

In the offspring of Naked neck chickens, an almost naked chicken appeared with plumage only on the wings and shins.

In the offspring of five-toed "Polydactyli" chickens, a chicken with splitting of not only the hind toe, but the entire leg, starting from the tibiotarsal joint, was identified.

The work was carried out on the topic of the State Task of Research No. 121052600357-8.

**References:**

[1] Vakhrameev A. B., Yurchenko O. P. (2010) Otsutstvie mahovyh per'ev kur kak ekspressivnost' mutacii ragged wing, Povyshenie produktivnyh kachestv sel'skokozyajstvennyh zhivotnyh. Sbornik mezhvuzovskih nauchnyh trudov S-Pb GAU, S-Pb, 2010, 24-29.

[2] Vakhrameev A.B., Makarova A.V. Ekster'ernaya ocenka kur, (Elektronnyj resurs) – Dubrovicy, Izd-vo FGBNU FIC VIZH im. ak. L.K. Ernsta, 2021, 227s.

## **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СКОРОСПЕЛОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ ПРИ ВВОДНОМ СКРЕЩИВАНИИ**

Н. А. Гарская, А. В. Ткачѳв

**Авторы:** Гарская Н. А., канд. биол. наук, доцент кафедры лабораторной диагностики, анатомии и физиологии Государственного образовательного учреждения высшего образования Луганской Народной Республики «Луганский государственный педагогический университет», г. Луганск, ЛНР, 91011, ЛНР, г. Луганск, ул. Оборонная, 2; Natalya\_G@bk.ru; Ткачѳв А. В., доктор с/х наук, профессор кафедры микробиологии Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет», г. Белгород, Российская Федерация, 308015, г. Белгород, ул. Победы, 85; tkachev\_av@bsaa.edu.ru.

Цель наших исследований - установить эффективность использования свиней скороспелой мясной породы в процессе селекции свиноматок полтавской мясной породы.

Экспериментальная часть исследований была проведена на чистопородном поголовье свиней полтавской мясной породы, содержащихся в условиях ООО «Племзавод «Беловодский»», Луганской области Украины. С целью повышения адаптационных возможностей животных полтавской мясной породы к природно-климатическим условиям Донбасса (природно-климатическая зона - степь) и крепости конституции для создания новых линий и семейств в хозяйстве было применено вводное скрещивание с использованием степного типа скороспелой мясной породы.

Использование вводного скрещивания свиней полтавской мясной породы со скороспелой мясной породой, у животных-потомков новых семейств привело к достоверному повышению биологических возможностей жизнедеятельности в данных природно-климатических и технологических условиях. «Прилитие крови» приводило к увеличению количества гемоглобина, лейкоцитов, нейтрофилов и некоторому снижению моноцитов и лимфоцитов в крови свиноматок. При этом наблюдалось достоверное увеличение эритроцитарных индексов, соотношения фагоцитирующих клеток, что может являться показателем повышения адаптивности животных. При исследовании биохимических показателей крови было установлено, что данная группа показателей у животных с кровью скороспелой мясной породы отличалась однородностью и наименьшей изменчивостью.

Использование скороспелой мясной породы, в качестве улучшающей, позволяет повышать адаптивные особенности полтавской мясной породы, что проявляется в улучшении продуктивных качеств. Исследованиями установлено, что свиноматки с прилитием крови скороспелой мясной породы не отличаясь по многоплодию, по массе гнезда в 45 дней достоверно превосходили свиноматок «чистых» семейств на 13,89 кг или 10,68%. При этом у свиноматок новых семейств отмечена наименьшая вариабельность по показателю количества поросят при отѳеме и возрасту первого опороса, при высокой вариабельности показателя многоплодия.

## **THE USE OF PIGS THE EARLY-MATURING MEAT BREED IN INTRODUCTORY CROSSBREEDING**

**N. Garskaya, A. Tkachev**

**Authors:** Garskaya N., Cand. Sc. Biolog., Associate Professor, Department of Laboratory Diagnostics, Anatomy and Physiology of the State Educational Institution of Lugansk People's Republic "Lugansk State Pedagogical University", Lugansk city, LPR, 91011, LPR, Lugansk city, Oboronnaya str., 2; Natalya\_G@bk.ru; Aleksandr Vladimirovich Tkachev, Doctor of Agricultural Science, Professor of the Department of Microbiology in the Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Belgorod State National Research University", Belgorod city, Russian Federation, 308015, Belgorod city, Pobeda str., 85; tkachev\_av@bsaa.edu.ru.

The goal of our research is to define the efficiency of using Early-Maturing Meat Breed pigs in the process of selection of Poltava Meat Breed sows.

The experimental part of our research was conducted on the purebred population of Poltava Meat Breed pigs, kept at the Belovodsky stud farm of Lugansk region, Ukraine. In order to increase the adaptation capacity of Poltava Meat Breed animals to the natural and climatic conditions of Donbass (natural and climatic zone of the region is steppe), and to improve the constitution robustness of the animals for the creation of new lines and families, the farm has made use of the introductory crossing with the steppe type of Early-Maturing Meat Breed.

The introductory crossing of Poltava Meat Breed pigs with the Early-Maturing Meat Breed led to a significant increase in the biological capabilities of life in these climatic and technological conditions in animal descendants of the new families. The admixture of new blood led to an increase in the numbers of hemoglobin, leukocytes and neutrophils, and a certain decrease in the numbers of monocytes and lymphocytes in the blood of breeding sows. At the same time, a certain increase in erythrocytic indices and phagocytal cells ratio was also detected, which can be a marker of the animals' increasing adaptability. During the research of biochemical indices of the blood it was found that this group of indices in the animals with the blood share of Early-Maturing Meat Breed was distinguished by uniformity and the least variability.

The use of the Early-Maturing Meat Breed as the upgrading one allows to increase the adaptation capabilities of Poltava Meat Breed, which is manifested in the improvement of productive qualities. The research shows that the breeding sows with the blood share of Early-Maturing Meat Breed, not differing in the percentage of multiple pregnancies, significantly exceeded the sows of purebred families by 13.89 kg or 10.68% in litter weight at 45 days. At the same time, the sows of new families showed the least variability in terms of the number of piglets at weaning and the age of the first farrowing, with a high variability in the multiple pregnancy rate.

## **ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРА ПРОТЕИНКИНАЗЫ С НА АКРОСОМНУЮ РЕАКЦИЮ ЗАМОРОЖЕННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ**

**В. Ю. Денисенко, Т. И. Кузьмина**

**Авторы:** Денисенко В. Ю., д.б.н., Кузьмина Т. И., профессор, заведующий лабораторией; prof.kouzmina@mail.ru; Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста", Московское шоссе, 55а, Санкт-Петербург, 196601, Россия, 8-921-392-19-47,

Протеинкиназа С в основном активна на стадии акросомной реакции, во время капацитации ее активность отмечается только на начальной стадии этого процесса, затем протеинкиназа С подвергается деградации и дефосфорилированию [1]. Целью работы явилось изучение влияния ингибитора протеинкиназы С (соединения Ro 31-8220) на акросомную реакцию в криоконсервированных сперматозоидах быков. Использование при инкубации заморожено/оттаянных сперматозоидов быков изобутилметилксантина (ИБМХ) показало, что в различных концентрациях (100, 50, 10 и 1 мкМ) это соединение оказывает неоднозначный эффект на акросомную реакцию. При высоких концентрациях ИБМХ (100 и 50 мкМ) отмечали увеличение количества капацитированных сперматозоидов и снижение числа акросома-реактивных клеток, тогда как низкие концентрации ИБМХ (10 и 1 мкМ) не изменяли соотношение числа капацитированных и акросома-реактивных клеток. В присутствии ингибитора протеинкиназы С (10 нг/мл соединения Ro 31-8220) отмечали снижение количества акросома-реактивных и увеличение капацитированных сперматозоидов после обработки пролактином (в контроле без ингибитора противоположный эффект). В то же время ИБМХ в концентрации 100 мкМ в присутствии Ro 31-8220 стимулировал увеличение количества акросома-реактивных и уменьшение капацитированных сперматозоидов. На воздействие ИБМХ в концентрации 10 мкМ ингибитор протеинкиназы С не оказывал влияние. Таким образом, в криоконсервированных сперматозоидах быков ИБМХ и ПРЛ оказывают разнонаправленный эффект на акросомную реакцию/ Протеинкиназа С вовлечена в реализацию эффектов этих соединений.

### Литература:

[1] Ickowicz D, Finkelstein M, Breitbart H. (2012) Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: role of protein kinases, Asian J. Androl., 14(6), 816-821.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобразования (Госзадание №АААА-А18-118021590132-9).

## **INFLUENCE OF PROTEIN KINASE C INHIBITOR ON THE ACROSOMAL REACTION OF FROZEN BULL SPERMATOZOA**

**V. Denisenko, T. Kuzmina**

**Authors:** Denisenko V, Dr. Sc. Biol., Kuzmina T., Dr. Sc. Biol., professor, head of the laboratory; prof.kouzmina@mail.ru; All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals, branch of Federal Scientific Center of Animal Husbandry – Ernst All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, Moskovskoe sh., 55a, Sankt-Petersburg, 196601, Russian Federation.

Protein kinase C is mainly active at the stage of the acrosomal reaction; during capacitation, the activity of this enzyme is noted only at the initial stage of this process; then, protein kinase C undergoes degradation and dephosphorylation [1]. The aim of the work was to study the effect of the protein kinase C inhibitor (compound Ro 31-8220) on the acrosomal reaction in cryopreserved bovine spermatozoa. The use of isobutylmethylxanthine (IBMX) at the incubation of frozen/thawed bovine spermatozoa showed that at different concentrations (100, 50, 10, and 1  $\mu\text{M}$ ) this compound has a different effect on the acrosomal reaction. At high concentrations of IBMX (100 and 50  $\mu\text{M}$ ), an increase in the number of capacitated spermatozoa and a decrease in the number of acrosome-reactive cells were noted, while low concentrations of IBMX (10 and 1  $\mu\text{M}$ ) did not change the ratio of the number of capacitated and acrosome-reactive cells. In the presence of the protein kinase C inhibitor (10 ng/ml compound Ro 31-8220), a decrease in the number of acrosome-reactive and an increase in capacitated spermatozoa was noted after treatment with prolactin (in the control without an inhibitor we have registered the opposite effect). While IBMX at a concentration of 100  $\mu\text{M}$  in the presence of Ro 31-8220 stimulated an increase in the number of acrosome-reactive and a decrease in capacitated spermatozoa. The protein kinase C inhibitor had no influence on the effects of 10  $\mu\text{M}$  IBMX. Thus, in cryopreserved bovine spermatozoa, IBMX and PRL have a multidirectional effect on the acrosomal reaction. Protein kinase C is involved in the realization of the effects of these compounds.

This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant number No. 121052600350-9).

### References

[1] Ickowicz D, Finkelstein M, Breitbart H. (2012) Mechanism of sperm capacitation and the acrosome reaction: role of protein kinases, *Asian J. Androl.*, 14(6), 816-821.

## ВЛИЯНИЕ ИВМХ И ПРОЛАКТИНА НА ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ СТАТУС ЗАМОРОЖЕННЫХ СПЕРМАТОЗОИДОВ БЫКОВ

В. Ю. Денисенко

**Автор.** Денисенко В. Ю, д.б.н., в.н.с.; den.vitaly2016@yandex.ru; Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста", С-Петербург, Россия, Московское шоссе.

Повышение активности фосфорилирования внутриклеточных белков приводит к росту оплодотворяющей способности сперматозоидов. Действие изобутилметилксантина (ИВМХ) на регуляцию реакции фосфорилирования белков в клетках связано с активацией протеинкиназы А [1]. В то же время пролактин в сперматозоидах быков активирует фермент протеинкиназу С [2]. Цель работы — изучение действия ИВМХ и пролактина на функциональное состояние криоконсервированных сперматозоидов быков. Использование для инкубации криоконсервированных сперматозоидов быков ИВМХ (1-100 мкМ) или ПРЛ (1-100 нг/мл) показало, что все применяемые концентрации ИВМХ не изменяли соотношение числа клеток с различным функциональным статусом, тогда как добавление ПРЛ приводило к снижению капцитированных и увеличению количества акросома-реактивных клеток. В присутствии ингибитора протеинкиназы А соединения Н-89 в концентрации 10 мкМ отмечали снижение капцитированных и увеличение акросома-реактивных клеток после обработки ИВМХ, в то же время ингибитор протеинкиназы С соединение Ro 31-8220 не оказывало влияние на этот процесс. Использование ингибитора протеинкиназы С в концентрации 10 нг/мл приводило к увеличению числа капцитированных и снижению акросома-реактивных клеток после воздействия ПРЛ, соединение Н-89 не влияло на оказываемое ПРЛ действие на клетки. Таким образом, в криоконсервированных сперматозоидах быков во время капцитации ИВМХ и ПРЛ оказывают различное влияние на функциональное состояние клеток и протеинкиназы А и С участвуют в регуляции этого процесса.

Работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки (Госзадание №АААА-А18-118021590132-9).

### Литература:

1. Itzhakov D., Nitzan Y., Breitbart H. (2019) Protein kinase A inhibition induces EPAC-dependent acrosomal exocytosis in human sperm, *Asian. J. Androl.*, 21(4), 337-344.
2. Бойцева Е. Н., Денисенко В. Ю., Кузьмина Т. И. (2015) Оценка показателей постэякуляционного созревания сперматозоидов *Bos Taurus* хлортетрациклиновым тестом, *Онтогенез*, 46(6), 409-415.

## **INFLUENCE OF IBMX AND PROLACTIN ON THE FUNCTIONAL STATUS OF FROZEN BULL SPERMATOZOA**

**V. Denisenko**

**Author.** Denisenko V., Dr. Sc. Biol.; den.vitaly2016@yandex.ru; All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals, branch of Federal Scientific Center of Animal Husbandry – Ernst All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, Moskovskoe sh., 55a, Sankt-Petersburg, 196601, Russian Federation.

An increase in the activity of intracellular proteins phosphorylation leads to an increase in the fertilizing ability of spermatozoa. The effect of isobutylmethylxanthine (IBMX) on the regulation of protein phosphorylation in cells is associated with the activation of protein kinase A [1]. At the same time, prolactin in bovine spermatozoa activates the enzyme protein kinase C [2]. The aim of the work is to study the effect of IBMX and prolactin on the functional state of cryopreserved bull spermatozoa. The use of IBMX (1-100  $\mu$ M) or PRL (1-100 ng/ml) for incubation of cryopreserved bovine spermatozoa showed that all used of IBMX concentrations did not change the ratio of the number of cells with different functional status, while the addition of PRL led to a decrease in capacitated and an increase in number of acrosome-reactive cells. In the presence of the protein kinase A inhibitor (10  $\mu$ M of compound H-89) a decrease in capacitated and an increase in acrosome-reactive cells was noted after treatment with IBMX, while the protein kinase C inhibitor (compound Ro 31-8220) had no effect on this process. The use of 10 ng/ml protein kinase C inhibitor led to an increase in the number of capacitated and a decrease in acrosome-reactive cells after impact of PRL, compound H-89 did not influence on the effect, caused by PRL on cells. Thus, in cryopreserved bovine spermatozoa during capacitation, IBMX and PRL have different effects on the functional state of cells, and protein kinases A and C are involved in the regulation of this process.

This work was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant number No. 121052600350-9).

### References:

1. Itzhakov D., Nitzan Y., Breitbart H. (2019) Protein kinase A inhibition induces EPAC-dependent acrosomal exocytosis in human sperm, *Asian. J. Androl.*, 21(4), 337-344.
2. Boytseva E.N., Denisenko V.Yu., Kuzmina T.I. (2015) Evaluation of indicators of post-ejaculatory maturation of *Bos Taurus* spermatozoa by the chlortetracycline test, *Ontogenesis*, 46(6), 409-415.



## ПРОДУКТИВНЫЕ КАЧЕСТВА ТЕЛОЧЕК АБЕРДИН АНГУССКОЙ ПОРОДЫ РАЗНЫХ ГЕНОТИПОВ ПО ГЕНУ КАЛЬПАСТАТИНА

Л. В. Евстафьева, М. И. Селионова, Д. М. Евстафьев

### Авторы:

Евстафьева Л. В., аспирант кафедры разведения, генетики и биотехнологии животных; lilm0@inbox.ru; Селионова М. И., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой разведения, генетики и биотехнологии животных; m\_selin@mail.ru; ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева; 127434, Россия, Москва, ул. Тимирязевская; Евстафьев Д. М., к.б.н., доцент кафедры ветеринарии и физиологии животных; evstafevdm@gmail.com; Калужский филиал ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева; 248007, Россия, Калужская обл., Калуга, ул. Вишневого, 27.

Абердин ангусская порода одна из ведущих пород в структуре поголовья мясного крупного рогатого скота разводимых в Российской Федерации. В перечень молекулярно-генетических исследований скота мясного направления, помимо групп маркёров продуктивных и племенных качеств животных, включают гены-маркёры признаков, которые ассоциируются с показателями качества мяса. Это позволяет отбирать носителей желательных аллелей и прогнозировать выраженность качественных параметров мышечной ткани [1]. Нежность является одним из самых важных потребительских качеств мяса. Было доказано, что три мутации в гене *CAST* (*CAST\_282*, *CAST\_2870*, *CAST\_2959*) ассоциируются с более нежным мясом [2,3]. Целью исследования явилось изучение продуктивных качеств телочек абердин ангусской породы разных генотипов по гену кальпастатина (*CAST\_282*, *CAST\_2870*, *CAST\_2959*). Работа проводилась на ремонтных телочках (n=67) в АО «АПФ «Наша Житница» Смоленской области. Генотипирование осуществлялось в геномном центре ООО «Мираторг-Генетика» (г. Домодедово Московской области) с использованием ДНК-чипа. Установлено, что полиморфизм гена кальпастатина (*CAST\_282*, *CAST\_2870* и *CAST\_2959*) в каждом SNP представлен двумя аллелями С, G; G, А и А, G и соответственно тремя генотипами – СС, СG, GГ; GГ, GА, АА в *CAST\_282*, *CAST\_2870*, и двумя – АА и АG, в *CAST\_2959*. Процент животных с гомозиготными генотипами – СС в *CAST\_282* составил 31,3%, GГ в *CAST\_2870* – 43,3%, АА в *CAST\_2959* – 85,1%, которые, согласно литературным данным, являются желательными. Анализ показателя живой массы в 6, 8, 12, 15, 18 месяцев носителей разных генотипов выявил, что гетерозиготные генотипы во всех SNP *CAST* имели преимущество. Однако значимое превосходство во все исследованные периоды было за телочками *CAST\_282* СG, которые имели превосходство над сверстницами *CAST\_282* GГ и *CAST\_2870* АА на 7,4-19,5 кг или 5,3-5,2%. Для прижизненного изучения качества мышечной ткани телочек будет проведено УЗИ исследование, которое позволит выявить возможную связь с энергией роста, которая отмечалась в ряде исследований [4, 5]. Полученные данные позволяют заключить, что большей живой массой в 6-18 месяцев обладали телочки носители СG *CAST\_282*, GА *CAST\_2870* и АG *CAST\_2959* генотипов.

Литература:

[1] Лысенко Н. Г., Колесник А. И. и др. Ассоциация генов кальпаин-кальпастатиновой системы и параметров экстерьера животных абердин-ангусской породы // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2016. – Т. 18. – С. 111–116.

[2] Scheffler T. L., Park S., Gerrard D. E. Lessons to learn about postmortem metabolism using the AMPK $\gamma$ 3 R200Q mutation in the pig // Meat Science. – 2011. – Т. 89. – №. 3. – С. 244-250.

[3] McClure M. C. et al. Genome-wide association analysis for quantitative trait loci influencing Warner–Bratzler shear force in five taurine cattle breeds // Animal genetics. – 2012. – Т. 43. – №. 6. – С. 662-673.

[4] Селионова М.И., Чижова Л.Н., Бобрышова Г.Т. [и др.] Перспективные генетические маркеры крупного рогатого скота // Вестник АПК Ставрополя. – 2018. – № 3. – С. 44-51.

[5] Chung H. Y., Davis M. E., Hines H. C. A DNA polymorphism of the bovine calpastatin gene detected by SSCP analysis // Anim. Genet., 1999, 30(1): 80–81

**PRODUCTIVE QUALITIES OF ABERDEEN ANGUS HEIFERS OF DIFFERENT  
GENOTYPES FOR THE CALPASTATIN GENE**

**L. Evstafieva, M. Selionova, D. Evstafiev**

**Authors:**

Evstafieva L., Postgraduate Student, Department of Breeding, Genetics and Biotechnology of Animals; lilmo@inbox.ru; Selionova M., Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Department of Animal Breeding, Genetics and Biotechnology; m\_selin@mail.ru; Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy (RSAU – MTAA named after K.A. Timiryazev), 127550 Moscow, st. Timiryazevskaya, 49; Evstafiev D., Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor; evstafevdm@gmail.com; Russian State Agrarian University - Moscow Timiryazev Agricultural Academy (RSAU – MTAA named after K.A. Timiryazev), Kaluga branch, 248007, Kaluga Region, Kaluga, st. Vishnevsky, 27.

The Aberdeen Angus breed is one of the leading breeds in the structure of the beef cattle population bred in the Russian Federation. The list of molecular genetic studies of beef cattle, in addition to groups of markers of productive and breeding qualities of animals, includes trait marker genes that are associated with meat quality indicators. This allows selecting carriers of desirable alleles and predicting the severity of qualitative parameters of muscle tissue [1]. Tenderness is one of the most important consumer qualities of meat. Three mutations in the *CAST* gene (*CAST\_282*, *CAST\_2870*, *CAST\_2959*) have been shown to be associated with more tender meat [2, 3]. The aim of the study was to study the productive qualities of Aberdeen Angus heifers of different genotypes for the calpastatin gene (*CAST\_282*, *CAST\_2870*, *CAST\_2959*).

The work was carried out on replacement heifers (n=67) in JSC "APF "Nasha Zhitnitsa" of the Smolensk region. Genotyping was carried out at the genomic center of Miratorg-Genetika LLC (Domodedovo, Moscow Region) using a DNA chip. It was found that the polymorphism of the calpastatin gene (*CAST\_282*, *CAST\_2870* and *CAST\_2959*) in each SNP is represented by two alleles C, G; G, A and A, G and, respectively, three genotypes -CC, CG, GG; GG, GA, AA *CAST\_282*, *CAST\_2870*, and two - AA and AG in *CAST\_2959*.

The percentage of animals with homozygous genotypes - CC in *CAST\_282* was 31.3%, GG in *CAST\_2870* - 43.3%, AA in *CAST\_2959* - 85.1%, which according to the literature are desirable. Analysis of the live weight index at 6, 8, 12, 15, 18 months of carriers of different genotypes revealed that heterozygous genotypes in all SNPs *CAST* had an advantage. However, a significant superiority in all the studied periods was for heifers. *CAST\_282* CG, which had superiority over their peers *CAST\_282* GG and *CAST\_2870* AA by 7.4-19.5 kg or 5.3-5.2%. For lifelong study of the quality of heifer muscle tissue, an ultrasound study will be carried out, which will reveal a possible relationship with growth energy, which has been noted in a number of studies [4, 5]. The data obtained allow us to conclude that carrier heifers had a greater live weight at 6-18 months of age. CG *CAST\_282*, GA *CAST\_2870* and AG *CAST\_2959* genotypes.

#### References:

[1] Lysenko N. G., Kolesnik A.I., Gorajchuk I.V., Ruban S. YU., Fedota A. M. Associaciya genov kal'pain-kal'pastatinovoj sistemy i parametrov ekster'era zhivotnyh aberdin-angusskoj porody // Faktori eksperimental'noï evolyucii organizmiv. – 2016. – V. 18. – P. 111-116.

[2] Scheffler TL, Park S., Gerrard DE Lessons to learn about postmortem metabolism using the AMPK $\gamma$ 3 R200Q mutation in the pig // Meat Science. – 2011. – V. 89. – №. 3. – P. 244-250.

[3] McClure M. C. et al. Genome-wide association analysis for quantitative trait loci influencing Warner–Bratzler shear force in five taurine cattle breeds // Animal genetics. – 2012. – V. 43. – № 6. – P. 662-673.

[4] Selionova M. I., CHizhova L. N., Bobryshova G. T. [i dr.] Perspektivnye geneticheskie markery krupnogo rogatogo skota // Vestnik APK Stavropol'ya. – 2018. – № 3. – P. 44-51.

[5] Chung H. Y., Davis M. E., Hines H. C. A DNA polymorphism of the bovine calpastatin gene detected by SSCP analysis // Anim. Genet., 1999, 30(1): 80–81.

## **УМЕНЬШЕНИЕ РИСКОВ ЖИВОТНОВОДСТВА ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ГЕНОМИКИ**

**А. Е. Калашников, Е. Р. Гостева**

### **Авторы:**

Калашников А. Е., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ФГБНУ Всероссийский НИИ племенного дела МСХ РФ; 141212, Россия, Московская обл., Пушкинский р-он, п. Лесные Поляны, ул. Ленина, 13; Архангельский НИИ сельского хозяйства приморского филиала ФИЦКИА РАН; 163000, Россия, г. Архангельск, ул. Набережная Северной Двины, 23; [aekalashnikov@yandex.ru](mailto:aekalashnikov@yandex.ru);

Гостева Е. Р., доктор с.-х. наук, ведущий научный сотрудник, ФГБНУ научный центр Юго-Востока; 410010, Россия, г. Саратов, ул. им. Тулайкова Н. М., д.; [ekagosteva@yandex.ru](mailto:ekagosteva@yandex.ru).

В области нормативно-правового регулирования сельского хозяйства Россия внедряет опыт Европейского союза и следует рекомендациям Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН, чтобы вводить подобные ограничения и требования (ФЗ №296 от 2 июня 2021 г.). Первым направлением НИР и проектных работ должна стать реализация менеджмента подразделения скота по типу продуктивности, т. к. эмиссия связана с технологиями содержания и кормления, жизненным циклом животных и реализацией генетического потенциала, определенного методом геномной оценки. Второе направление исследований – разработка комплекса услуг сервисных компаний по улучшению качества заготовления кормов, изменению базисных перечней растений, методологий заготовки комбикормов, микробиологических заквасок, формирования основ и изменения технологий заготовки силоса и комбикормов. Третьим направлением исследований должно стать создание продуктов биотехнологии, состоящих из лиофилизированной культуры микроорганизмов молочнокислых и целлюлозо-лизирующих бактерий, бактериофагов, эфирных масел, нитратов в виде солонца, использования структурированных наполнителей. В результате принятого законодательства в настоящее время происходит перестройка системы управления в агрохолдингах и со стороны крупных коммерческих компаний.

## **REDUCING LIVESTOCK RISKS BY APPLYING ECOLOGICAL GENOMICS**

**A. Kalashnikov, E. Gosteva**

### **Authors:**

Kalashnikov A., Ph.D. Biol Sciences, senior research officer, Federal State Institution of Science All-Russian Research Institute of Breeding of the Ministry of Agriculture RF; 141212, Russia, Moscow region, Pushkin district, settlement Lesnye Polyany, st. Lenina 13; Quay of the Northern Dvina, 23; aekalashnikov@yandex.ru;

Gosteva E., Doct. in agricultural sciences., Leading Research Officer, Federal State Institution of Science Research Center of the South-East; 410010, Saratov, Russia, st. named after Tulaykova N. M., 7; ekagosteva@yandex.ru.

In the field of legal regulation of agriculture, Russia is implementing the experience of the EU and following the recommendations of the UN Food and Agriculture Organization to introduce such restrictions and requirements (FZ No. 296 of June 2, 2021). The first direction of research and design work should be the implementation of the management of the livestock segregation by type of productivity, since CO<sub>2</sub> emissions are associated with keeping and nutrition technologies, the life cycle of animals and the realization of the genetic potential determined by the genomic assessment method. The second area of research will be the development of a set of services for service companies to improve the quality of fodder preparation, change the basic lists of plants, methodologies for the preparation of mixed stern, microbiological starters, the formation of foundations and changes in the technologies for mopping silage and mixed feeds. The third area of research should be the creation of biotechnology products consisting of a lyophilized culture of microorganisms of lactic acid and cellulose-lysing bacteria, bacteriophages, vital oils, nitrates in the form of a licking tablets, the use of structured fillers. As a result of the adopted legislation, the management system, at agricultural companies and on the part of large commercial companies is currently being restructured.

## ПОИСК ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕЗЕРВАТОВ ТЕМНОЙ ЛЕСНОЙ ПЧЕЛЫ (*APIS MELLIFERA MELLIFERA*) НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ

М. Д. Каскинова, Л. Р. Гайфуллина, Е. С. Салтыкова

**Авторы:** Каскинова М. Д., к.б.н., н.с., Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского ФИЦ РАН, Уфа; 450054, Россия, г. Уфа, Проспект Октября, д. 71; kaskinovamilyausha@mail.ru; Гайфуллина Л. Р., к.б.н., н.с., Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского ФИЦ РАН, Уфа; 450054, Россия, г. Уфа, Проспект Октября, д. 71; lurim78@mail.ru; Салтыкова Елена Станиславовна, д.б.н., зав. лаб., Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского ФИЦ РАН, Уфа; 450054, Россия, г. Уфа, Проспект Октября, д. 71; saltykova-e@yandex.ru.

Темная лесная пчела (*Apis mellifera mellifera*), аборигенный подвид медоносной пчелы для России, является представителем эволюционной ветви М. Вследствие неконтролируемой гибридизации с подвидами из эволюционных ветвей С и О, на территории России темная лесная пчела сохранилась в виде отдельных популяций в труднодоступных территориях или же в тех регионах, где пчеловоды предпочитают разводить местную пчелу. Цель данной работы – поиск сохранившихся популяций темной лесной пчелы на территории России. С помощью анализа полиморфизма межгенного локуса COI-COII мтДНК нами были проанализированы выборки из Республик Башкортостан (N=1343 семей), Татарстан (N=16) и Удмуртия (N=28), Пермского (N=92) и Алтайского Края (N=95), Псковской (N=20) и Свердловской областей (N=27) в общей численности 1621 семей, отобранные в период с 2019 по 2022 годы. Выделение ДНК проводили набором реактивов ДНК-ЭКСТРАН-2 (Синтол, Москва). Смесь ПЦР включала 17 мкл дистиллированной воды, 2 мкл магниевого буфера, 0,4 мкл dNTP (10 мкм), 0,6 мкл F- и R- праймера (2 ОЕ) и 0,3 мкл Taq-полимеразы. Режим ПЦР: 5 мин 940С, затем 30 циклов с денатурацией 30 сек при 940С, отжигом 30 сек при 500С, элонгацией 60 сек при 720С и конечной элонгацией 7 мин при 720С. Для визуализации продуктов амплификации использовали электрофорез в 8% полиакриламидном геле с последующей детекцией в фотосистеме Gel Doc XR+ (Bio-Rad Laboratories). Аллельные варианты P(Q)1-n являются маркерами происхождения пчел от *A. m. mellifera*, вариант Q - от подвидов из эволюционной ветви С и О по материнской линии. В Республиках Татарстан и Удмуртия все семьи происходят по материнской линии от *A. m. mellifera*, в Республике Башкортостан – 64% семей, Алтайском крае – 88%, Псковской области – 95%, Свердловской области – 78%, Пермском крае – 93% семей. При этом в Пермском крае, Псковской области, Башкортостане был выявлен аллельный вариант PQQQ. В целом, из 1621 семей 1115 (69%) семей семьи происходят по материнской линии от *A. m. mellifera*. Таким образом, на территории России еще сохранились популяции темной лесной пчелы и необходим дальнейший мониторинг этих популяций для их сохранения и распространения.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-54-70002 и Государственного задания № АААА-А21-121011990120-7.

## **SEARCH FOR GENETIC RESERVES OF THE DARK FOREST BEE (*APIS MELLIFERA MELLIFERA*) IN RUSSIA**

**M. Kaskinova, L. Gaigullina, E. Saltykova**

**Authors:** Kaskinova M., Ph.D., Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, 450054, Ufa, Prospekt Oktyabrya, d. 71; kaskinovamilyausha@mail.ru; Gaifullina L., Ph.D., Researcher, Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, 450054, Ufa, Prospekt Oktyabrya, 71; lurim78@mail.ru; Saltykova E., Doctor of Biological Sciences, Head of Laboratory, Institute of Biochemistry and Genetics - Subdivision of the Ufa Federal Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Ufa, Russia, 450054, Ufa, Prospekt Oktyabrya; saltykova-e@yandex.ru.

The dark forest bee (*Apis mellifera mellifera*), a native subspecies of the honey bee for Russia, is a representative of the M evolutionary lineage. Due to uncontrolled hybridization with subspecies from the C and O evolutionary lineages, the dark forest bee has survived in Russia as separate populations in hard-to-reach areas or in those regions where beekeepers prefer to breed local bees. The purpose of this work is to search for the remaining populations of the dark forest bee in Russia. Using the polymorphism analysis of the mtDNA COI-COII intergenic locus, we analyzed samples from the Republics of Bashkortostan (N=1343 colonies), Tatarstan (N=16) and Udmurtia (N=28), Perm (N=92) and Altai Krai (N= 95), Pskov (N=20) and Sverdlovsk regions (N=27) in the total number of 1621 colonies selected in the period from 2019 to 2022. DNA isolation was performed using a DNA-EXTRAN-2 reagent kit (Sintol, Moscow). The PCR mixture included 17 µl of distilled water, 2 µl of magnesium buffer, 0.4 µl of dNTP (10 µM), 0.6 µl of F- and R-primer (2 OU) and 0.3 µl Taq polymerase. PCR mode: 5 min at 94°C, then 30 cycles with 30 sec denaturation at 94°C, 30 sec annealing at 50°C, 60 sec elongation at 72°C and final elongation 7 min at 72°C. Amplification products were visualized using 8% polyacrylamide gel electrophoresis followed by detection in a Gel Doc XR+ photosystem (Bio-Rad Laboratories). Allelic variants P(Q)1-n are markers of the origin of bees from *A. m. mellifera*, variant Q - from subspecies from the evolutionary lineage C and O on the maternal line. In the Republics of Tatarstan and Udmurtia, all colonies are maternally descended from *A. m. mellifera*, in the Republic of Bashkortostan - 64% of colonies, Altai Territory - 88%, Pskov Region - 95%, Sverdlovsk Region - 78%, Perm Territory - 93% of colonies. At the same time, an allelic variant of PQQQ was identified in the Perm Territory, the Pskov Region, and Bashkortostan. Overall, out of 1621 colonies, 1115 (69%) are maternally descended from *A. m. mellifera*. Thus, on the territory of Russia, populations of the dark forest bee are still preserved, and further monitoring of these populations is necessary for their conservation and distribution.

This work was supported by RFBR grant no. 19-54-70002 and in part by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (project No. AAAA-A21-121011990120-7).

## БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ *BOS TAURUS* И *BOS GRUNNIENS* ДЛЯ ПОИСКА SNP С ВЫСОКИМ ДИФФЕРЕНЦИРУЮЩИМ ПОТЕНЦИАЛОМ

В. Н. Кипень, Ж. Т. Исакова

### Авторы:

Кипень В. Н., Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; v.kipen@igc.by; Исакова Ж. Т., Научно-исследовательский институт молекулярной биологии и медицины, Бишкек, Кыргызская Республика; jainagul@mail.ru.

Представители домашнего крупного рогатого скота (*Bos taurus*) и одомашненного яка (*Bos grunniens*) способны свободно скрещиваться, что используют селекционеры и заводчики в своей практике. Однако перед скрещиванием особей данных видов иногда возникает необходимость в проверке их генетической чистоты и отсутствии неспецифических аллелей. Таким образом, цель данного исследования – с использованием методов биоинформатики определить SNP с высоким дифференцирующим потенциалом для различения особей *Bos taurus* и *Bos grunniens*. Целесообразность аналогичных исследований дискутировалась в работе [1].

Генотипы *in silico* определены по 1532 SNP для животных, геномы которых были секвенированы в рамках проектов PRJNA217895, PRJNA285834, PRJNA74739, PRJNA508864, PRJNA531398, PRJNA431934, PRJNA762180 (*Bos grunniens* – 90, *Bos mutus* – 3, *Bos taurus* – 100). Файлы SRA дополнительно конвертировали в формат \*.fasta с использованием пакета SRA-Toolkit v.2.11. Для автоматизации процесса поиска нуклеотидных последовательностей *in silico*, фланкирующих искомый аллель, использовали скрипт на языке программирования Python v.3.10 с использованием среды разработки программного обеспечения Jupyter Notebook. Дифференцирующий потенциал для SNP проводили с использованием ROC-анализа в SPSS v.20.0. Хромосомные позиции указаны по отношению к сборке генома *Bos taurus* ARS-UCD 1.3 (GCF\_002263795.2).

На основании полученных результатов выделены несколько значимых SNP с высоким дифференцирующим потенциалом, например: Chr.4:g.68157406G>T (JAZF1) – AUC = 0,991, 95% ДИ [0,957-1,0], p=8,13E-14; Chr.14:g.33601230T>G (SLCO5A1) – AUC = 0,961, 95% ДИ [0,936-1,0], p=1,25E-13; Chr.20:g.7061942T>A – AUC = 0,988, 95% ДИ [0,967-1,0], p=2,37E-14 и др. В дальнейшем планируется провести молекулярно-генетический анализ на образцах особей *Bos taurus* и *Bos grunniens*, разводимых в Кыргызстане.

### Литература:

[1] Анализ полиморфизма гена гестина (*HEPH*) на X-хромосоме для установления принадлежности биологических образцов к диким или домашним представителям вида *Sus scrofa* / Кипень В. Н., Иванова Е. В., Снытков Е. В., Верчук А. Н. // Генетика. 2020. Т. 56. № 9. С. 1054-1064.



## BIOINFORMATIC ANALYSIS OF *BOS TAURUS* AND *BOS GRUNNIENS* GENOMES TO SEARCH FOR SNPS WITH HIGH DIFFERENTIATING POTENTIAL

V. Kipen, Zh. Isakova

### Authors:

Kipen V., Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus; v.kipen@ugc.by;

Isakova Zh., Research Institute of Molecular Biology and Medicine, Bishkek, Kyrgyzstan; jainagul@mail.ru

Individuals of domestic cattle (*Bos taurus*) and domesticated yak (*Bos grunniens*) are able to interbreed freely, which breeders use in their practice. However, before crossing individuals of these species, it sometimes becomes necessary to check their genetic purity and the absence of nonspecific alleles. Thus, the goal of this study is to identify SNPs with a high differentiating potential using bioinformatics methods to distinguish between *Bos taurus* and *Bos grunniens* individuals. The feasibility of similar studies was discussed in article [1].

In silico genotypes were determined from 1532 SNPs for animals whose genomes were sequenced within the framework of projects PRJNA217895, PRJNA285834, PRJNA74739, PRJNA508864, PRJNA531398, PRJNA431934, PRJNA762180 (*Bos grunniens* – 90, *Bos mutus* – 3, *Bos taurus* – 100) The SRA files were additionally converted to the \*.fasta format using the SRA-Toolkit v.2.11 package. To automate the process of searching for in silico nucleotide sequences flanking the desired allele, we used a script in the programming language Python v.3.10 using the Jupyter Notebook software development environment. Differentiation potential for SNPs was performed using ROC analysis in SPSS v.20.0. Chromosomal positions are indicated relative to the *Bos taurus* ARS-UCD 1.3 genome assembly (GCF\_002263795.2).

Based on the obtained results, several significant SNPs with high differentiating potential were identified, for example: Chr.4:g.68157406G>T (JAZF1) – AUC = 0.991, 95% CI [0.957-1.0], p=8.13E-14; Chr.14:g.33601230T>G (SLCO5A1) – AUC = 0.961, 95% CI [0.936-1.0], p=1.25E-13 Chr.20:g.7061942T>A – AUC = 0.988, 95% CI [0.967-1.0], p=2.37E-14, etc. In the future, it is planned to conduct a molecular genetic analysis on samples of *Bos taurus* and *Bos grunniens* from Kyrgyzstan.

### Reference:

[1] Analysis of HEPH gene polymorphism on the X chromosome for identification of wild boar and domestic pig / Kipen V. N., Ivanova E. V., Snytkov E. V., Verchuk A. N. // Russian Journal of Genetics. 2020. T. 56. № 9. C. 1099-1108.

## SNP НА CHR.8 С ВЫСОКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ ДЛЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИИ *SUS SCROFA SCROFA* И *SUS SCROFA DOMESTICUS*

В. Н. Кипень

**Автор:** Кипень В. Н., Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; v.kipen@igc.by.

Задача по дифференциации дикого кабана (*Sus scrofa scrofa*) и домашней свиньи (*Sus scrofa domesticus*) может быть решена с использованием анализа трех полиморфных вариантов (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) в генах *MC1R*, *NR6A1* и *HEPH* [1]. Известно, что ген *HEPH* (hephaestin, NCBI Gene ID: 100512938) расположен на X-хромосоме (NC\_010461.5 (52314911..52397384), Sscrofa11.1 (GCF\_000003025.6)). Чтобы нивелировать данный факт, т.е. предложить научным исследователям и криминалистам-экспертам SNP с высоким дифференцирующим потенциалом, которые располагались бы на аутосомах, был проведен широкомасштабный биоинформатический анализ 280 геномов особей *Sus scrofa* (проекты PRJNA41185, PRJNA176478, PRJEB1683, PRJNA239399, PRJNA260763, PRJNA255085, PRJEB9922, PRJNA309108, PRJNA322309, PRJNA343658, PRJNA358108, PRJNA369600, PRJNA378496, PRJNA393920, PRJNA487172, PRJNA506339, PRJNA507853, PRJNA485589, PRJNA488960, PRJNA550237, PRJNA520978, PRJNA553106, PRJNA671763, PRJNA626370, PRJNA622908). Общее количество SNP в анализе – 7451. Секвенированные нуклеотидные последовательности особей *Sus scrofa*, были представлены в формате SRA, которые дополнительно конвертировали в формат \*.fasta с использованием пакета SRA-Toolkit v.2.11. Для автоматизации процесса поиска нуклеотидных последовательностей *in silico*, фланкирующих искомый аллель, использовали скрипт на языке программирования Python v.3.10 с использованием среды разработки программного обеспечения Jupyter Notebook. Дифференцирующий потенциал для SNP проводили с использованием ROC-анализа в SPSS v.20.0.

В результате, на 8 хромосоме были определены новые, ранее не описанные SNP, обладающие высоким дифференцирующим потенциалом для различения *Sus scrofa scrofa* и *Sus scrofa domesticus*, часть из них представлена ниже: Chr.8:g.50731679C>T (AUC=0,847, 95% ДИ=[0,746-0,948],  $p < 6,66E-11$ ), Chr.8:g.51261272C>T (AUC=0,861, 95% ДИ=[0,809-0,912],  $p < 3,28E-14$ ). Дальнейший молекулярно-генетический анализ позволит охарактеризовать дифференцирующий потенциал данных SNP в приложении к особям, обитающим в Беларуси и России.

Литература:

[1] Анализ полиморфизма гена гепестина (*HEPH*) на X-хромосоме для установления принадлежности биологических образцов к диким или домашним представителям вида *Sus scrofa* / Кипень В.Н., Иванова Е.В., Снытков Е.В., Верчук А.Н. // Генетика. 2020. Т. 56. № 9. С. 1054-1064.

## SNP ON CHR.8 WITH HIGH POTENTIAL FOR DIFFERENTIATING BETWEEN *SUS SCROFA SCROFA* AND *SUS SCROFA DOMESTICUS*

V. Kipen

**Author:** Kipen V., Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus; v.kipen@ugc.by.

The problem of differentiation of wild boar (*Sus scrofa scrofa*) and domestic pig (*Sus scrofa domesticus*) can be solved using the analysis of three polymorphic variants (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) in the *MC1R*, *NR6A1* and *HEPH* genes [1]. It is known that the *HEPH* gene (hephaestin, NCBI Gene ID: 100512938) is located on the X chromosome (NC\_010461.5 (52314911..52397384), Sscrofa1.1 (GCF\_000003025.6)). To neutralize this fact, i.e. to propose to scientific researchers and forensic experts SNP with high differentiating potential, which would be located on autosomes, a large-scale bioinformatic analysis of 280 genomes of *Sus scrofa* individuals was carried out (projects PRJNA41185, PRJNA176478, PRJEB1683, PRJNA239399, PRJNA260763, PRJNA255085, PRJEB9922, PRJNA309108, PRJNA322309, PRJNA343658, PRJNA358108, PRJNA369600, PRJNA378496, PRJNA393920, PRJNA487172, PRJNA506339, PRJNA507853, PRJNA485589, PRJNA488960, PRJNA550237, PRJNA520978, PRJNA553106, PRJNA671763, PRJNA626370, PRJNA622908). The total number of SNPs in the analysis is 7451. Sequenced nucleotide sequences of *Sus scrofa* individuals were presented in SRA format, which were additionally converted to \*.fasta format using the SRA-Toolkit v.2.11 package. To automate the process of searching for nucleotide sequences in silico flanking the desired allele, a script in the Python programming language v.3.10 was used using the environment Jupyter Notebook software development. The differentiating potential for SNP was carried out using ROC analysis in SPSS v.20.0.

As a result, new, previously undescribed SNPs with a high differentiating potential for distinguishing *Sus scrofa scrofa* and *Sus scrofa domesticus* were identified on chromosome 8, some of them are presented below: Chr.8:g.50731679C>T (AUC=0.847, 95% CI=[0.746-0.948], p<6.66E-11), Chr.8:g.51261272C>T (AUC=0.861, 95% CI=[0.809-0.912], p<3.28E-14). Further molecular genetic analysis will allow us to characterize the differentiating potential of the SNP data in the application to individuals living in Belarus and Russia.

Reference:

[1] Analysis of *HEPH* gene polymorphism on the X chromosome for identification of wild boar and domestic pig / Kipen V.N., Ivanova E.V., Snytkov E.V., Verchuk A.N. // Russian Journal of Genetics. 2020. T. 56. № 9. C. 1099-1108.

## **ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МИКРОБИОМА РУБЦА КОРОВ С КЕТОЗОМ**

**Г. Ю. Лаптев<sup>1</sup>, Е. А. Йылдырым<sup>1,2</sup>, А. В. Дубровин<sup>1</sup>, Л. А. Ильина<sup>1,2</sup>,  
В. А. Филиппова<sup>1,2</sup>, Е. С. Пономарева<sup>1</sup>**

### **Авторы:**

Лаптев Г. Ю., д.б.н., директор; laptev@biotrof.ru; Йылдырым Е. А., д.б.н., главный биотехнолог; deniz@biotrof.ru; Дубровин А. В., к.вет.н., биотехнолог; dubrovin@biotrof.ru; Ильина Л. А., к.б.н., начальник молекулярно-генетической лаборатории; ilina@biotrof.ru; Филиппова В. А., биотехнолог; filipova@biotrof.ru; Пономарева Е. С., биотехнолог; kate@biotrof.ru.

<sup>1</sup> ООО «БИОТРОФ+», г. СПб, г. Пушкин, ул. Малиновская, д. 8, лит. А, пом. 7-Н;

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Россия, г. Санкт-Петербург, г. Пушкин, Петербургское шоссе, д. 2.

Резкое увеличение уровня молочной продуктивности у крупного рогатого скота за счет использования рационов с высоким содержанием крахмала при одновременном снижении доли клетчатки привело к росту распространенности метаболических заболеваний, таких, как кетоз. Материалы и методы. Был поставлен эксперимент на клинически здоровых новотельных коровах, а также животных с диагнозом клинический кетоз. Для анализа микробного сообщества рубца коров использовались различные молекулярно-генетические и биоинформатические методы: полногеномное секвенирование, анализ транскрипции ряда ключевых генов метаболизма, анализ результатов с помощью баз данных KEGG Automatic Annotation Server, CAZy. Результаты показали, что в рубце коров с диагнозом кетоз по сравнению с клинически здоровыми животными уменьшилось число бактерий способных к синтезу летучих жирных кислот. Это представляется закономерным, поскольку недостаток пропионата в рубце приводит к нарушению процесса глюконеогенеза, что имеет прямую связь с возникновением кетоза. С другой стороны, в рубце коров с диагнозом кетоз происходило увеличение кишечных инфузорий (относящихся к родам Entodinium, Epidinium, Eudiplodinium и Polyplastron) до  $0,13 \pm 0,008\%$  с  $0,02 \pm 0,003\%$  (у здоровых коров). Несмотря на то, что инфузории участвуют в переваривании клетчатки рубца, их точная роль в микробной экосистеме остается неясной до сих пор. Ранее, показано, что численность инфузорий отрицательно коррелирует с синтезом ценного микробного белка и положительно - с выработкой метана [1]. С использованием базы данных Cazy выявлены значительные различия в спектре продуцируемых ферментов, относящихся к семейству гликозидгидролаз - GH, отвечающих за утилизацию сложных полисахаридов. Было установлено также многократное (в 380 раз) повышение уровня экспрессии гена PFK в рубце коров с кетозом. PFK отвечает за синтез фосфофруктокиназы - фермента гликолиза. Интенсификация гликолиза в рубце могла иметь связь с нарушением метаболических функций микробиома, вызванных погрешностями в кормлении.

Работа поддержана грантом РФФИ № 20-016-00168.

### Литература:

[1] Newbold Charles J., de la Fuente Gabriel, Belanche Alejandro, Ramos-Morales Eva, McEwan Neil R.(2015). The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. *Frontiers in Microbiology*, V. 6.

## FUNCTIONAL FEATURES OF THE RUMEN MICROBIOME OF COWS WITH KETOSIS

**G. Laptev<sup>1</sup>, E. Yildirim<sup>1,2</sup>, A. Dubrovin<sup>1</sup>, L. Ilina<sup>1,2</sup>, V. Filippova<sup>1,2</sup>, E. Ponomareva<sup>1</sup>**

### **Authors:**

Laptev G., Doctor of Biological Sciences, Director; laptev@biotrof.ru; Yildirim E., Doctor of Biological Sciences, Chief Biotechnologist; deniz@biotrof.ru; Dubrovin A., Candidate of Veterinary Sciences, biotechnologist; dubrovin@biotrof.ru; Ilina L., Ph.D., head of the molecular genetic laboratory; ilina@biotrof.ru; Filippova V., biotechnologist; filippova@biotrof.ru; Ponomareva E., biotechnologist; kate@biotrof.ru.

<sup>1</sup> BIOTROF+ Ltd, St. Petersburg, Pushkin, st. Malinovskaya, d. 8, lit. A, 7-N +7 (812) 322-85-50

<sup>2</sup> St. Petersburg State Agrarian University, Russia, St. Petersburg, Pushkin, Petersburg highway, 2, +7 (812) 470-04-22

The great increase in milk production levels in cattle through the use of diets high in starch while reducing the proportion of fiber has led to an increase in the prevalence of metabolic diseases such as ketosis. Materials and Methods. An experiment was carried out on clinically healthy newly-calved cows by contrast the cows with clinical ketosis. To analyze the microbial community of the rumen of cows, various molecular genetic and bioinformatic methods were used: whole genome sequencing, transcription analysis of several key metabolic genes, analysis of the results using the KEGG Automatic Annotation Server, CAZy. The results showed that in the rumen of cows with ketosis, compared with clinically healthy cows, the number of bacteria capable of synthesizing volatile fatty acids decreased. This seems to be natural, since the lack of propionate in the rumen leads to disruption of the process of gluconeogenesis, which is directly related to the occurrence of ketosis. On the other hand, in the rumen of cows with ketosis, there was an increase in intestinal ciliates (belonging to the genera Entodinium, Epidinium, Eudiplodinium and Polyplastron) up to  $0.13 \pm 0.008\%$  from  $0.02 \pm 0.003\%$  (in healthy cows). Despite the fact that ciliates are involved in the digestion of rumen fiber, their exact role in the microbial ecosystem remains unclear so far. Previously, it was shown that the number of ciliates correlates negatively with the synthesis of valuable microbial protein and positively with the production of methane [1]. By using the Cazy database significant differences were revealed in the spectrum of produced enzymes belonging to the family of glycoside hydrolases - GH that responsible for the utilization of complex polysaccharides. A multiple (380 times) increase in the expression level of the PFK gene in the rumen of cows with ketosis was also found. PFK is responsible for the synthesis of phosphofructokinase, the enzyme of glycolysis. The intensification of glycolysis in the rumen could be associated with a violation of the metabolic functions of the microbiome caused by feeding errors.

This work was supported by RFBR grant no. 20-016-00168.

### References:

[1] Newbold Charles J., de la Fuente Gabriel, Belanche Alejandro, Ramos-Morales Eva, McEwan Neil R. (2015). The Role of Ciliate Protozoa in the Rumen. *Frontiers in Microbiology*, v.6

## ОСВОЕНИЕ МЕТОДА OPU НА ЛОШАДЯХ В РОССИИ

**Л. Ф. Лебедева, Е. В. Солодова, А. Б. Дубровская**

**Авторы:** Лебедева Л.Ф., д. с.-х. наук, доцент, зав. лаб., Солодова Е. В., канд. биол. наук, ст. науч. сотр., Дубровская А. Б., мл. науч. сотр.; лаборатория физиологии ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства», Рязанская обл., Рыбновский р-он, п. Дивово; Lebedeva-L18@yandex.ru

Вследствие малого количества боен лошадей, процедура OPU (Ovum PickUp) - прижизненное извлечение ооцитов из яичников кобыл - является, по сути, основным способом их получения для ICSI и клонирования в коневодстве. За рубежом созданы *in vitro* технологии созревания и оплодотворения ооцитов кобыл, доразвивания эмбрионов до стадии бластоцисты с последующей криоконсервацией, которые обеспечивают получение 1,7-2 эмбриона на одну OPU-ICSI процедуру, 70% приживляемости эмбрионов и 50% рождения живых жеребят после пересадки реципиентам [1]. В России освоение отечественными специалистами технологии OPU на лошадях только начинается.

Работу проводили на кобылах экспериментальной конюшни ФГБНУ «ВНИИ коневодства» в станке, в положении «стоя», с соответствующей фиксацией, премедикацией и последующей седацией животных. Содержимое фолликулов (>35 мм) отсасывали с помощью OPU системы к УЗ-сканеру EXAGO (Франция), вакуумной помпы и аспирационной иглы (G12). Для промывания фолликулов использовали ФБС Дюльбекко с добавлением гентамицина (2 мл/л) и гепарина (5 МЕ/мл). Всего провели 6 OPU-процедур, в которых после фильтрования полученной фолликулярной жидкости были найдены 2 яйцеклетки. Наиболее проблемными этапами в работе по освоению методики OPU были: надежная седация кобыл и многократное промывание фолликула.

### Литература:

[1] Lazzari G., Colleoni S., Crotti G. Turini P. et.al. (2020) Laboratory Production of Equine Embryos, Journal of Equine Veterinary Science; 89: 103097

## **THE DEVELOPING OF OPU METHOD IN HORSES IN RUSSIA**

**L. Lebedeva, E. Solodova, A. Dubrovskaya**

**Authors:** Lebedeva L., Grand PhD in Agriculture, Associate Professor, Head of the Lab.; Solodova E., PhD in biological sciences, senior researcher; Dubrovskaya A., Jr. junior researcher; the Laboratory of physiology of the All-Russian Research Institute of Horse Breeding, Ryazan region, Rybnoe district, Divovo; Lebedeva-L18@yandex.ru.

Due to the lack of horse slaughters, the OPU (Ovum Pick Up) procedure –the transvaginal aspiration of oocytes from mare ovaries - is, in fact, the only way to obtain them for ICSI and cloning in horse reproduction. Abroad, in vitro technologies have been created for the maturation and fertilization of mare oocytes, embryo growing to the blastocyst stage, followed by cryopreservation, which provide 1.7-2 embryos per one OPU-ICSI procedure, 70% pregnancy rate and 50% level of live foals birth after transfer to recipients [1]. In Russia, the development of OPU technology in horses is just beginning by Russian specialists.

The work was carried out on mares of the experimental stable of the All-Russian Research Institute for Horse Breeding in the stall, in "standing" position, with appropriate fixation, premedication and subsequent sedation of the animals. Follicles (>35 mm in diameter) were aspirated using an OPU system with EXAGO ultrasound scanner (France) and aspiration needle (G12). PBS Dulbecco with the addition of fetal calf serum (3%), gentamicin (2 ml/L), and heparin (5 IU/ml) was used for flushing of follicles. A total of 6 OPU procedures were performed, in which 2 oocytes were found after filtration of the follicular fluid. The most problematic areas of the OPU method in our work were: good sedation of mares and multiple follicle flushing.

### References:

[1] Lazzari G., Colleoni S., Crotti G. Turini P. et.al. (2020) Laboratory Production of Equine Embryos, Journal of Equine Veterinary Science; 89: 103097

## **ПРОЛИФЕРАТИВНАЯ АКТИВНОСТЬ И АПОПТОЗ КЛЕТОК ЖЕЛТОГО ТЕЛА КОРОВ IN VITRO ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ТИРЕОИДНЫХ ГОРМОНОВ**

**Е. К. Монтвила, О. С. Митяшова, О. В. Алейникова, И. Ю. Лебедева**

**Авторы:** Монтвила Е. К., Митяшова О. С., Алейникова О. В., Лебедева И. Ю.,  
Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К.  
Эрнста, Подольск, Россия, montvila94@bk.ru, mityashova\_o@mail.ru, 68ovk@mail.ru,  
irledv@mail.ru

Гормоны щитовидной железы способны влиять на фолликулогенез млекопитающих путем модуляции функциональной активности фолликулярных клеток. В то же время нет никакой информации о роли тиреоидных гормонов в регуляции функции желтого тела. Поэтому целью нашей работы было изучение *in vitro* влияния тироксина (Т4) и трийодтиронина (Т3) в различных концентрациях на пролиферативную активность и апоптотические изменения клеток желтого тела коров. Клетки изолировали с помощью 0,5%-ной коллагеназы и культивировали в течение 7-8 сут до образования монослойных колоний в среде с сывороткой, которую затем заменяли на среду без сыворотки, содержащую Т4 (25-400 нг/мл) или Т3 (0,5-8,0 нг/мл), и инкубировали в течение 48 ч. Клетки фиксировали 2%-ным раствором параформальдегида и инкубировали с первичными мышиными антителами к ядерному антигену пролиферирующих клеток (PCNA, Dako, USA) или к проапоптотическому белку Вах (Bio-Rad, USA), а затем – со вторыми биотинилированными антителами. Для визуализации специфического связывания применяли Vectastain ABC reagent и коричневый хромофор DAB. Долю PCNA- и Вах-позитивных клеток оценивали по числу клеток, окрашенных в коричневый цвет. Обнаружено, что Т4 (50-200 нг/мл) и Т3 (1-8 нг/мл) увеличивают в 1,1-1,2 раза ( $p < 0,01-0,05$ ) долю клеток, экспрессирующих PCNA, по сравнению с контрольной группой. Кроме того, повышение концентрации Т4 и Т3 в среде до 100-200 нг/мл и 1-8 нг/мл, соответственно, приводило к снижению уровня Вах-позитивных клеток в 1,1-1,4 раза ( $p < 0,001-0,05$ ). Полученные данные показывают, что тироксин и трийодтиронин при физиологических концентрациях усиливают пролиферативную активность и тормозят апоптотические изменения в культуре клеток желтого тела. Таким образом, тиреоидные гормоны могут оказывать модулирующее влияние на развитие и последующую дегенерацию желтого тела коров.

Работа выполнена в рамках государственного задания (тема 0445-2022-0004).



## **PROLIFERATIVE ACTIVITY AND APOPTOSIS OF BOVINE CORPUS LUTEUM CELLS IN VITRO UNDER THE INFLUENCE OF THYROID HORMONES**

**E. Montvila, O. Mityashova, O. Aleynikova, I. Lebedeva**

**Authors:** Montvila E., Mityashova O., Aleynikova O., Lebedeva I., L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Podolsk, Russia, montvila94@bk.ru, mityashova\_o@mail.ru, 68ovk@mail.ru, irladv@mail.ru

Thyroid hormones are able to affect mammalian folliculogenesis by modulating the functional activity of follicular cells. At the same time, there is no information about the role of thyroid hormones in the regulation of the corpus luteum function. Therefore, the aim of our work was to study in vitro the effect of thyroxine (T4) and triiodothyronine (T3) in various concentrations on the proliferative activity and apoptotic changes in the cells of bovine corpus luteum. The cells were isolated with 0.5% collagenase and cultured for 7-8 days until monolayer colonies were formed in a medium with serum, which was then replaced with a medium without serum containing T4 (25-400 ng/ml) or T3 (0.5-8.0 ng/ml), and incubated for 48 hours. The cells were fixed with 2% paraformaldehyde solution and incubated with primary mouse antibodies to proliferating cell nuclear antigen (PCNA, Dako, USA) or to the pro-apoptotic Bax protein (Bio-Rad, USA) and then with the second biotinylated antibodies. Vectastain ABC reagent and brown chromophore DAB were used to visualize the specific binding. The proportion of PCNA- or Bax-positive cells was assessed by the number of brown-stained cells. It was found that T4 (50-200 ng/ml) and T3 (1-8 ng/ml) increased 1.1-1.2 times ( $p < 0.01-0.05$ ) the rate of cells expressing PCNA, as compared with the control group. In addition, an increase in the concentration of T4 and T3 in the medium to 100-200 ng/ml and 1-8 ng/ml, respectively, led to a decrease in the level of Bax-positive cells by 1.1-1.4 times ( $p < 0.001-0.05$ ). The data obtained show that thyroxine and triiodothyronine at physiological concentrations enhance the proliferative activity and inhibit apoptotic changes in the corpus luteum cell culture. Thus, thyroid hormones can exert a modulating effect on the development and subsequent degeneration of bovine corpus luteum.

The work was carried out within the framework of a state assignment (theme 0445-2022-0004).

## **ЭПИГЕНЕТИЧЕСКОЕ ПРОГРАММИРОВАНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКОНОМИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫХ ФЕНОТИПОВ ЖИВОТНЫХ**

**М. П. Мошкин, Ю. М. Мошкин, Л. А. Герлинская**

**Авторы:** Мошкин М. П., Мошкин Ю. М., Герлинская Л. А., Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН, Новосибирск.

Вспомогательные репродуктивные технологии (ВРТ), которые все шире применяются в воспроизводстве сельхоз. животных, предполагают развитие эмбрионов вне материнского организма - от фертилизации до пересадки вынашивающим матерям. Это та стадия онтогенеза, во время которой развивающийся организм наиболее подвержен эпигенетическим трансформациям, в частности к дестабилизации индивидуального развития. Как показывают наши исследования, фенотипические проявления онтогенетической дестабилизации регистрируются в течении всей жизни и на всех уровнях биологической организации – от экспрессии генов до поведенческих реакций. Но при выполнении ВРТ доимплантационное развитие происходит в контролируемых условиях, что открывает пути для эпигенетической коррекции. Уже сегодня можно привести примеры успешного управления траекториями индивидуального развития путем направленных изменений параметров инкубирования доимплантационных эмбрионов. В перспективе на этой основе будут разработаны технологии получения экономически значимых фенотипов животных путем адресного воздействия на условия доимплантационного развития эмбрионов при выполнении ВРТ.

Поддержано грантом РФФИ № 20-14-00055

## **EPIGENETIC PROGRAMMING OF INDIVIDUAL DEVELOPMENT TO OBTAIN ECONOMICALLY SIGNIFICANT ANIMAL PHENOTYPES**

**M. Moshkin, Yu. Moshkin, L. Gerlinskaya**

**Authors:** Moshkin M., Moshkin Yu., Gerlinskaya L., Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk

Auxiliary reproductive technologies (ART), which are increasingly used in the reproduction of agricultural. Animals, suggest the development of embryos outside the maternal body - from fertilization to transplantation to the bearing mothers. This is the stage of ontogenesis, during which the developing organism is most susceptible to epigenetic transformations, in particular to destabilizing individual development. As our studies show, the phenotypic manifestations of ontogenetic destabilization are recorded throughout life and at all levels of the biological organization - from the expression of genes to behavioral reactions. But when performing ADS, pre-implantation development occurs in controlled conditions, which opens the ways for epigenetic correction. Already today we can give examples of successful management of the trajectories of individual development by directed changes in the incubation parameters of pre-implantation embryos. In the future, on this basis, technologies for obtaining economically significant animal phenotypes by targeted impact on the conditions for the pre-implantation development of embryos in the implementation of the CHDs will be developed.

Supported by RNF grant No. 20-14-00055

## ВЛИЯНИЯ ИНБРИДИНГА И УРОВНЯ ГОМОЗИГОТНОСТИ ГОЛШТИНСКИХ БЫКОВ-ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ НА ОЦЕНКУ ТИПА ТЕЛОСЛОЖЕНИЯ ДОЧЕРЕЙ В ПОДМОСКОВЬЕ

И. С. Недашковский

**Автор:** Недашковский Игорь Сергеевич, м.н.с. отдела популяционной генетики и генетических основ разведения животных Федерального исследовательского центра животноводства - ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста, 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, д. 60; nedashkovsky\_is@mail.ru.

Коэффициент инбридинга ( $F_x$ ) рассчитывали по формуле Райта-Кисловского. Для расчета уровня гомозиготности использовалась мультиплексная панель из 12 микросателлитных маркеров (STR): TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA122, INRA23, TGLA126, BM1818, ETH3, ETH225, BM1824. Непосредственный расчет индивидуальной гомозиготности ( $C_a$ ) производили как отношение количества гомозиготных локусов к общему количеству анализируемых локусов. Биометрическую обработку проводили в GenAlEx 6.50 и Statistica v.10. Значения  $F_x$  и  $C_a$  присваивали дочерям, и далее ранжировали на группы: для  $F_x$  – в I вошли  $F_x=0\%$  ( $n=14740$ ), во II  $F_x=0.1-3.125\%$  ( $n=20803$ ), в III  $F_x=3.126-6.25\%$  ( $n=5377$ ), в IV  $F_x\geq 6.26\%$  ( $n=1156$ ), V группа включала всех животных за исключением аутбредных ( $(F_x)^{-}$ ) ( $n=27336$ ). Для  $C_a$  – в I группу вошли  $C_a=0\%$  ( $n=1137$ ), во II  $C_a=8-50\%$  ( $n=37316$ ), в III  $55-77\%$  ( $n=1296$ ), в IV все кроме гетерозиготных ( $((C_a)^{-})$ ) ( $n=38612$ ). Выборка составила 42076 дочерей для 318 быков по  $F_x$ , и 39590 дочерей для 306 быков по STR. Оценка типа телосложения проводилась по столбальной системе «А» и десятибальной системе «Б», в соответствии методики НП «Мосплеинформ». Отмечены схожие закономерности по системе «Б»: положение зада градация по группам  $F_x$  4.87-4.80-4.79 балла ( $\bar{b}$ ),  $(F_x)^{-}=4.8\bar{b}$ ., по  $C_a$  4.817-4.816-4.759 $\bar{b}$ .; угол задних ног сбоку по  $F_x$  4.86-4.92-4.95 $\bar{b}$ .,  $(F_x)^{-}=4.92\bar{b}$ ., по  $C_a$  4.82-4.89-4.98 $\bar{b}$ .,  $(C_a)^{-}=4.899\bar{b}$ .; постановка задних ног вид сзади по  $F_x$  5.21-5.17-5.11-5.02 $\bar{b}$ .,  $(F_x)^{-}=5.15\bar{b}$ ., по  $C_a$  5.29-5.16 $\bar{b}$ .,  $(C_a)^{-}=5.16\bar{b}$ .; прикрепление передних долей вымени по  $F_x$  6.13 $\bar{b}$ . в I и  $(F_x)^{-}=6.19\bar{b}$ ., по  $C_a$  6.184 $\bar{b}$ . в I и  $(C_a)^{-}=6.186\bar{b}$ .; глубина вымени по  $F_x$  6.38-6.43-6.47-6.37 $\bar{b}$ ., по  $C_a$  6.51-6.434-6.353 $\bar{b}$ .; крепость по  $F_x$  5.43 $\bar{b}$ . в I до 5.36 $\bar{b}$ . в IV, по  $C_a$  5.573-5.500-5.492 $\bar{b}$ .,  $(C_a)^{-}=5.499\bar{b}$ . Отмечено снижение возраста первого отела с 83.05 до 80.97 месяца по  $C_a$ , и с 28.14 до 27.54 месяца по  $F_x$  соответственно. Сравнение ОТГ по системе «А» показало неоднозначные результаты.

## **INBREEDING AND THE LEVEL OF HOMOZYGOSTITY INFLUENCES OF HOLSTINE SIRES ON DAUGHTERS BODY TYPE ESTIMATES IN THE MOSCOW REGION**

**I. Nedashkovsky**

**Author:** Nedashkovsky I., Junior Research Associate of Department of Population Genetics and Genetic Foundations of Animal Breeding Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L.K. Ernst, Dubrovitsy 60, Podolsk Municipal District, Moscow Region, 142132 Russia; nedashkovsky\_is@mail.ru.

The coefficient of inbreeding ( $F_x$ ) was calculated using the Wright-Kislovsky formula. To calculate the level of homozygosity, a multiplex panel of 12 microsatellite markers (STRs) was used: TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA122, INRA23, TGLA126, BM1818, ETH3, ETH225, BM1824. Direct calculation of individual homozygosity ( $C_a$ ) was performed as the ratio of the number of homozygous loci to the total number of analyzed loci. Biometric processing was carried out in GenAlEx 6.50 and Statistica v.10.  $F_x$  and  $C_a$  values were assigned to daughters, and then they were ranked into groups: for  $F_x$ , I included  $F_x=0\%$  ( $n=14740$ ), II  $F_x=0.1-3.125\%$  ( $n=20803$ ), III  $F_x=3.126-6.25\%$  ( $n=5377$ ), in IV  $F_x \geq 6.26\%$  ( $n=1156$ ), group V included all animals except for outbred ( $(F_x)^-$ ) ( $n=27336$ ). For  $C_a$  – group I included  $C_a=0\%$  ( $n=1137$ ), II  $C_a=8-50\%$  ( $n=37316$ ), III  $55-77\%$  ( $n=1296$ ), IV all except heterozygous ( $(C_a)^-$ ) ( $n=38612$ ). The sample consisted of 42076 daughters for 318  $F_x$  bulls and 39590 daughters for 306 STR bulls. Daughters body type (DBT) was carried out according to the 10-point system "A" and the ten-point system "B", in accordance with the methodology of NP "Mospleminform". Similar results were noted for the "B" system: Rump angle gradation in groups  $F_x$  4.87-4.80-4.79 points (p),  $(F_x)^- = 4.8p.$ , for  $C_a$  4.817-4.816-4.759p.; Rear legs set in  $F_x$  4.86-4.92-4.95p.,  $(F_x)^- = 4.92p.$ , in  $C_a$  4.82-4.89-4.98p.,  $(C_a)^- = 4.899p.$ ; Rear legs rear view  $F_x$  5.21-5.17-5.11-5.02p.,  $(F_x)^- = 5.15p.$ , along  $C_a$  5.29-5.16p.,  $(C_a)^- = 5.16p.$ ; Fore udder attachment to  $F_x$  6.13p. in I and  $(F_x)^- = 6.19p.$ , according to  $C_a$  6.184p. in I and  $(C_a)^- = 6.186p.$ ; Udder depth according to  $F_x$  6.38-6.43-6.47-6.37p., according to  $C_a$  6.51-6.434-6.353p.; Chest width by  $F_x$  5.43p. in I up to 5.36p. in IV, according to  $C_a$  5.573-5.500-5.492p.,  $(C_a)^- = 5.499p.$  A decrease in the age of first calving was noted from 83.05 to 80.97 months for  $C_a$ , and from 28.14 to 27.54 months for  $F_x$ , respectively. Comparison of the DBT system "A" showed mixed results.

## ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРУСА АФРИКАНСКОЙ ЧУМЫ СВИНЕЙ «ВОЛГОГРАД/D(1L-5-6L) MGF110» IN VITRO

**М. В. Нефедьева, А. С. Малоголовкин, И. А. Титов**

**Авторы:** Нефедьева М. В., к.б.н., ст. научный сотрудник; masha67111@mail.ru; Малоголовкин А. С., к.б.н., гл. научный сотрудник; malogolovkin@inbox.ru; Титов И. А., к.б.н., заведующий лабораторией; titoffia@yandex.ru; ФГБНУ ФИЦВиМ, п. Вольгинский, Россия, 601125, ул. Академика Бакулова, 1.

Вирус африканской чумы свиней (АЧС) представляет собой структурно сложный ДНК-вирус, объединяющий 24 генотипа, отличающихся друг от друга по генетическим и биологическим свойствам [1]. Высокое генетическое разнообразие обуславливается правой (5') и левой (3') вариабельными областями генома, представленными мультигенными семействами, в частности MGF110. Вследствие этого, а также из-за особенности тропизма АЧС к клеткам макрофагов, эффективная вакцина не разработана. В связи с этим, целью данного исследования являлось изучение характеристик рекомбинантного вируса АЧС «Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110» in vitro. В результате трансфекции и инфекции клеточной линии COS-1 с последующим скринингом методом предельных разведений получен рекомбинантный вирус АЧС «Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110». Инфицирование первичной культуры лейкоцитов свиней продемонстрировало наличие гемадсорбирующих свойств, а инфекционная активность составила  $7,25 \pm 0,28$  lg ГАЕ50/см<sup>3</sup>. Наличие делеции части мультигенных семейств MGF110 у штамма «Волгоград/D(1L-5-6L) MGF110» не оказало влияния на его репликацию in vitro.

Дальнейшее изучение функций отдельных генов мультигенного семейства MGF110 и их роли во взаимодействии с клеткой хозяина является важной составляющей в вопросах изучения биологии вируса АЧС и потенциально может способствовать разработке эффективной вакцины.

Работа поддержана грантом РФФ №22-24-00552.

Литература:

[1] Dixon L.K. African swine fever / L.K. Dixon, H. Sun, H. Roberts // Antivir. Res. - 2019. - V. 165. - P. 34-41.

## **CHARACTERISTICS OF THE AFRICAN SWINE FEVER VIRUS "VOLGOGRAD/D(1L-5-6L) MGF110" IN VITRO**

**M. Nefedeva, A. Malogolovkin, I. Titov**

**Authors:** Nefedeva M., PhD of Biological Sciences; masha67111@mail.ru; Malogolovkin A., PhD of Biological Sciences, Chief Researcher; malogolovkin@inbox.ru; Titov I.; PhD of Biological Sciences, Head of the laboratory; titoffia@yandex.ru; Federal Research Center for Virology and Microbiology, Akademika Bakulova str., 1, Volginsky, Russia, 601125,

African swine fever virus (ASF) is a structurally complex DNA virus including 24 genotypes that differ from each other in genetic and biological properties [1]. High genetic diversity is caused by the right (5') and left (3') variable regions of the genome which are represented by multigenic families, in particular MGF110. Because of that, and also because of the ASF tropism peculiarity to macrophage cells, an effective vaccine has not been developed. In this regard, the aim of this research was to study the characteristics of the recombinant ASF virus "Volgograd/D(1L-5-6L) MGF110" in vitro. As a result of COS-1 cells transfection and infection with subsequent screening by the limiting dilutions method of the recombinant ASF virus, "Volgograd/D(1L-5-6L) MGF110" strain was obtained. Infection of the primary culture of porcine leukocytes demonstrated the presence of hemadsorption properties, and the infectious activity was  $7.25 \pm 0.28$  lg HAE50/cm<sup>3</sup>. The presence of partial deletion of the MGF110 multigenic families in the Volgograd/D(1L-5-6L) MGF110 strain did not affect its replication in vitro.

Further study of the individual genes functions of the MGF110 multigenic family and their role in interaction with the host cell is an important task in the study of the ASF virus biology and potentially can contribute to the development of an effective vaccine.

This work was supported by Russian Science Foundation, project № 22-24-00552

### References:

[1] Dixon L.K. African swine fever / L.K. Dixon, H. Sun, H. Roberts // Antivir. Res. - 2019. - V. 165. - R. 34-41.

## КОМПЛЕКСНЫЕ ГЕНОТИПЫ ГЕНА ЛЕПТИНА У КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА КОСТРОМСКОЙ ПОРОДЫ

**К. Д. Сабетова, С. Г. Белокуров, П. О. Щеголев, А. А. Чацкий,  
А. Н. Тяжченко, А. Д. Лемякин**

**Авторы:** Сабетова К. Д., кандидат ветеринарных наук, заведующий лаборатории генетики и ДНК технологий, kseniyasabetova@mail.ru; Белокуров С. Г., кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, доцент кафедры частной зоотехнии, разведения и генетики; sgbelokurov @yandex.ru; Щеголев П. О., кандидат сельскохозяйственных наук, селекционер-зоотехник информационно-селекционного центра; bigboy25@mail.ru; Чацкий А. А., селекционер-зоотехник регионального информационно-селекционного центра; leha.chaitskiy@mail.ru; Тяжченко А. Н., магистрант факультета ВМиЗ, направление Зоотехния, 1 год; tyazhchenko2024@mail.ru; Лемякин А. Д., магистрант факультета ВМиЗ, направление Зоотехния, 1 год; whichspecial@gmail.com; ФГБОУ ВО «Костромская государственная сельскохозяйственная академия», г. Кострома, Россия, 156530, Костромская обл., Костромской р-н, пос. Караваяево, ул. Учебный городок, д. 24, кв. 94.

В настоящее время ген лептина представляет большой интерес для селекции как ДНК-маркер, так как оказывает значительное влияние на уровень молочной продуктивности коров, содержание наиболее ценных компонентов в молоке (белка и жира), а также продуктивное долголетие [1]. Рядом ученых сделано предположение, что совместное действие полиморфизмов A80V, Y7F, R25C гена лептина на хозяйственно полезные признаки крупного рогатого скота более выражено, чем изменение в этих локусах в отдельности [2]. Исходя из этого, в ходе исследования нами было изучено распределение комплексных генотипов племенного крупного рогатого скота костромской породы, и их ассоциация с хозяйственно полезными признаками. Генотипирование образцов ДНК коров (n=33) проводили методом полимеразой цепной реакции в реальном времени (ПЦР-РВ) с применением HRM-анализа. Установлено, что в изученной популяции коров костромской породы наибольшей частотой встречаемости обладали комплексные генотипы AVYYRR, AVYYRC. По результатам исследований генотип AVYYRR характеризовался тенденцией к более высоким показателям молочной продуктивности. Так, удой коров с данным генотипом за I лактацию на 6% превосходил генотип AAYYRC, а в среднем за три лактации был выше, чем у сверстниц с генотипами AAYYRC и AAYYCC на 12,6 и 3,9% соответственно. Также отмечена тенденция к наибольшим показателям жира и белка в молоке у коров AVYYRR-генотипа. Коровы-носительницы комплексного генотипа AVYYRC напротив отличались низкими показателями молочной продуктивности, но длительным сроком хозяйственного использования на уровне 5,7 лактаций при среднем удое за лактацию 6121,9 кг молока. Генотип AVYYRR превосходит генотип AVYYRC по удою за первую лактацию на 17,0%, а в среднем за 3 лактации на 12,5%, а по содержанию жира и белка в молоке за первую лактацию на 2,4% и 1,8% и в среднем за 3 лактации на 3,8% и 2,1% соответственно.

Однако животные AVYYRR-генотипа с продуктивным долголетием на уровне 4,5 лактаций и пожизненной продуктивностью 29396 кг молока уступали коровам генотипа AVYYRC с пожизненным удоем 35936 кг молока. Таким образом, в ходе исследований было установлено, что комплексный генотип AVYYRR характеризовался высокими удоями, содержанием жира и белка в молоке, а генотип AVYYRC ассоциирован с длительным сроком хозяйственного использования животных.

Регистрационный номер НИОКТР МСХ РФ 121121300347-5.

Литература:

[1] Чинова Л. Н., Кононова Л. В., Шарко Г. Н., Ковалева Г. П. Полиморфизм гена лептина у коров молочного направления продуктивности // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. – 2017. – Т. 2. – № 10. – С. 113-117.

[2] Кононова Л. Н., Шарко Г. Н., Мачульская Е. В. Сравнительный полиморфизм локуса лептина в популяциях швицкой породы крупного рогатого скота красной степной и швицкой пород // Эффективное животноводство. – 2018. - № 5. – С. 52-54.

## **COMPLEX GENOTYPES OF THE LEPTIN GENE IN KOSTROMA CATTLE**

**K. Sabetova, S. Belokurov, P. Schiogolev, A. Chaitskiy, A. Tyazhchenko, A. Lemyakin**

**Authors:** Sabetova K., Candidate of Veterinary Sciences, Head of the Laboratory of Genetics and DNA Technologies; kseniyasabetova@mail.ru; Belokurov S., Candidate of Agricultural Sciences, Associate Professor, Associate Professor of the Department of Private Animal Science, Breeding and Genetics; sgbelokurov@yandex.ru; Schiogolev P., Candidate of Agricultural Sciences, breeder-zootechnic of the information and breeding Center; bigboy25@mail.ru; Chaitskiy A., breeder-zootechnic of the regional information and breeding center; leha.chaitskiy@mail.ru; Tyazhchenko A., Master's student of the Faculty of VMIZ, direction of Zootechny, 1-year; tyazhchenko2024@mail.ru; Lemyakin A., Master's student of the Faculty of Veterinary Medicine, direction of Animal Science, 1-year; whichspecial@gmail.com; Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education Kostroma State Agricultural Academy, 34, Karavaevo Campus, Kostroma, 156530.

Currently, the leptin gene is of great interest for breeding as a DNA-marker, as it has a significant impact on the level of dairy productivity of cows, the content of the most valuable components in milk (milk fat and protein), as well as productive longevity [1]. A number of scientists have suggested that the combined effect of polymorphisms A80V, Y7F, R25C of the leptin gene on economically useful traits of cattle is more pronounced than the change in these loci separately [2]. Based on this, in the course of the study, we studied the distribution of complex genotypes of breeding cattle of the Kostroma breed and their association with economically useful traits. Genotyping of cow DNA samples (n=33) was performed by real-time polymerase chain reaction (PCR-RT) using HRM-analysis.



It was found that in the studied population of cows of the Kostroma breed, complex genotypes AVYYRR, AVYYRC had the highest frequency of occurrence. According to the research results, the AVYYRR genotype was characterized by a tendency to higher traits of milk productivity. Thus, the milk yield of cows with this genotype for the first lactation was 6% higher than the AAYYRC genotype, and on average for three lactations was higher than that of peers with the AAYYRC and AAYYCC genotypes by 12,6 and 3,9%, respectively. There is also a tendency to the highest indicators of fat and protein in milk in cows of the AVYYRR genotype. Cows carrying the AVYYRC complex genotype, on the contrary, were distinguished by low indicators of milk productivity, but a long period of economic use at the level of 5,7 lactations with an average milk yield per lactation of 6121,9 kg of milk. The AVYYRR genotype exceeds the AVYYRC genotype in milk yield for the first lactation by 17,0%, and on average for 3 lactations by 12,5%, and in fat and protein content in milk for the first lactation by 2,4% and 1.8%, and on average for 3 lactations by 3,8% and 2,1%, respectively. However, animals of the AVYYRR genotype with a productive longevity of 4,5 lactation and a lifetime productivity of 29396 kg of milk were inferior to cows of the AVYYRC genotype with a lifetime milk yield of 35936 kg of milk. Thus, in the course of research, it was found that the AVYYRR complex genotype was characterized by high milk yields, fat and protein content in milk, and the AVYYRC genotype was associated with a long period of economic use of animals.

The R&D registration number of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation is 121121300347-5.

#### References:

[1] Chizhova L. N., Kononova L. V., Sharko G. N., Kovaleva G. P. Polymorphism of the leptin gene in dairy cows of productivity // Collection of scientific papers of the All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding. – 2017. – Vol. 2. – № 10. – pp. 113-117.

[2] Kononova L. N., Sharko G. N., Machulskaya E.V. Comparative polymorphism of the leptin locus in populations of the Shvitskaya breed of cattle of the Red steppe and Shvitskaya breeds // Effective animal husbandry. – 2018. - No. 5. – pp. 52-54.

## БИОИНФОРМАТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ГЕНОМОВ ДОМАШНИХ СВИНЕЙ – ПОРОДОСПЕЦИФИЧНЫЕ SNP ДЛЯ ПОРОДЫ ЙОРКШИР

Е. В. Снытков, В. Н. Кипень, М. Е. Михайлова, О. А. Беляк, Е. Л. Романишко

**Авторы:** Снытков Е. В., Кипень В. Н., Михайлова М. Е., Беляк О. А., Романишко Е. Л.; Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь; evsnytkov@gmail.com

Цель данной работы – с использованием методов биоинформатики определить SNP для дифференциации свиней породы йоркшир от других пород. Для исследования были использованы геномы животных, представленные в открытом доступе в формате SRA (Sequence Read Archive), которые дополнительно конвертировали в формат \*.fasta с использованием пакета SRA-Toolkit. Для автоматизации процесса поиска нуклеотидных последовательностей *in silico*, фланкирующих искомый аллель, использовали скрипт на языке программирования Python v.3.10 с помощью среды разработки программного обеспечения Jupyter Notebook. Хромосомная позиция для SNP определена для версии сборки генома Sscrofa11.1 (GCF\_000003025.6). Данная работа является логическим продолжением исследований, проведенных нами ранее [1, 2]. Проведенный биоинформатический анализ, направленный на определение генотипа по 261 SNP для 178 животных вида *Sus scrofa domesticus* (дюрок – 69, ландрас – 24, крупная белая – 45, пьетрен – 21, йоркшир – 19), позволил рассчитать частоты встречаемости генотипов. Дифференцирующий потенциал SNP для определения чистопородности определяли с использованием ROC-анализа в статистическом пакете SPSS v.20.0. При наличии нижней границы асимптотического 95% ДИ более 0,5 для параметра AUC, SNP позиционировался как генетический маркер со значимым дифференцирующим потенциалом. Часть из определенных для дифференциации свиней породы йоркшир SNP представлена ниже:– Chr.3: 64757843 A>G (AUC=0,742, p=4,44E-04, 95% ДИ=[0,646-0,838]),– Chr.5: 53716106 A>C (AUC=0,647, p=3,3E-03, 95% ДИ=[0,53-0,764]),– Chr.7: 101257337 C>T (AUC=0,666, p=1,59E-02, 95% ДИ=[0,564-0,768]),– Chr.13: 196377418 A>G (AUC=0,715, p=1,79E-03, 95% ДИ=[0,615-0,815]),– Chr.14: 72991761 C>T (AUC=0,674, p=1,14E-02, 95% ДИ=[0,567-0,782]),– Chr.14: 107457741 C>T (AUC=0,69, p=5,83E-03, 95% ДИ=[0,573-0,807]),– Chr.16: 17314272 C>T (AUC=0,657, p=2,25E-02, 95% ДИ=[0,537-0,777]),– Chr.18: 3442709 A>G (AUC=0,706, p=2,78E-03, 95% ДИ=[0,586-0,826]). Таким образом, нами были выявлены SNP, демонстрирующие высокую способность к дифференциации породы свиней йоркшир.

### Литература:

[1] Биоинформатический анализ геномов коммерческих пород домашних свиней для идентификации породоспецифичных SNP / В.Н. Кипень, М.Е. Михайлова, Е.В. Снытков, Е.Л. Романишко, Е.В. Иванова, Р.И. Шейко // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя аграрных навук. 2021. Т. 59, № 4. С. 464–476. DOI: 10.29235/1817-7204-2021-59-4-464-476

[2] Анализ полиморфизма гена гефестина (NEFH) на X-хромосоме для установления принадлежности биологических образцов к диким или домашним представителям вида *Sus scrofa* / Кипень В.Н., Иванова Е.В., Снытков Е.В., Верчук А.Н. // Генетика. 2020. Т. 56. № 9. С. 1054-1064.

## **BIOINFORMATICS ANALYSIS OF DOMESTIC PIG GENOMES – BREED SPECIFIC SNPS FOR THE YORKSHIRE BREED**

**E. Snytkov, V. Kipen, M. Mikhailova, O. Belyak, E. Romanishko**

**Authors:** Snytkov E., Kipen V., Mikhailova M., Belyak O., Romanishko E.; Institute of Genetics and Cytology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus; evsnytkov@gmail.com

The purpose of this work is to determine SNPs for differentiating Yorkshire pigs from other breeds using bioinformatics methods. For the study was used animal genomes, submitted in the open access in the SRA (Sequence Read Archive) format, which were additionally converted into the \*.fasta format using the SRA-Toolkit package. To automate the process of searching for in silico nucleotide sequences flanking the desired allele, a script in the Python programming language v.3.10 was used using the Jupyter Notebook software development environment. The chromosomal position for the SNP was determined for the genome assembly version Sscrofa11.1 (GCF\_000003025.6). This work is a logical continuation of our previous studies [1, 2]. The bioinformatic analysis aimed at determining the genotype by 261 SNPs for 178 animals of the *Sus scrofa domestica* species (Duroc - 69, Landrace - 24, Large White - 45, Pietrain - 21, Yorkshire - 19) allowed us to calculate the frequencies of occurrence of genotypes. The differentiating potential of SNPs for determining purebredness was determined using ROC analysis in the statistical package SPSS v.20.0. In the presence of the lower limit of the asymptotic 95% OR of more than 0.5 for the AUC parameter, SNP was positioned as a genetic marker with significant differentiating potential. Some of the Yorkshire SNPs defined for differentiation are shown below: - Chr.3: 64757843 A>G (AUC=0.742, p=4.44E-04, 95% OR=[0.646-0.838]), - Chr.5: 53716106 A>C (AUC=0.647, p=3.3E-03, 95% OR=[0.53-0.764]), - Chr.7: 101257337 C>T (AUC=0.666, p=1.59E-02, 95% OR=[0.564-0.768]), - Chr.13: 196377418 A>G (AUC=0.715, p=1.79E-03, 95% OR=[0.615-0.815]), - Chr.14 : 72991761 C>T (AUC=0.674, p=1.14E-02, 95% OR=[0.567-0.782]), - Chr.14: 107457741 C>T (AUC=0.69, p=5.83E-03, 95% OR=[0.573-0.807]), - Chr.16: 17314272 C>T (AUC=0.657, p=2.25E-02, 95% OR=[0.537-0.777]), - Chr. 18: 3442709 A>G (AUC=0.706, p=2.78E-03, 95% OR=[0.586-0.826]). Thus, we have identified SNPs that demonstrate a high ability to differentiate the breed of Yorkshire pigs.

### References:

[1] Bioinformatic analysis of genomes of commercial breeds of domestic pigs for the identification of breed-specific SNPs / V. N. Kipen, M. E. Mikhailova, E. V. Snytkov, E. L. Romanishko, E. V. Ivanova, R. I. Sheiko // *Vests of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of agricultural sciences*. 2021. V. 59, No. 4. P. 464–476. DOI: 10.29235/1817-7204-2021-59-4-464-476

[2] Analysis of polymorphism of the hephaestin gene (HEPH) on the X chromosome to determine whether biological samples belong to wild or domestic representatives of the species *Sus scrofa* / Kipen V. N., Ivanova E. V., Snytkov E. V., Verchuk A. N. // *Genetics*. 2020. V. 56. No. 9. P. 1054-1064.

## **РАЗВИТИЕ ЗАКОНОДАТЕЛЬНОГО РЕГУЛИРОВАНИЯ ЗООИНЖЕНЕРИИ**

**А. А. Хигерович**

**Автор:** Хигерович А. А., магистр, студент; xigerovich@mail.ru; Московский Университет имени С. Ю. Витте, 196634, Санкт-Петербург, Пушкинский р-н, а/п Шушары, ул. Центральная (Детскосельский), 12.

На сегодняшний день клеточные репродуктивные технологии являются одной из важнейших составляющих практической биотехнологии. Они применяются как для улучшения имеющихся пород сельскохозяйственных животных, так и для создания новых. В связи с этим, вопрос о законодательном регулировании и поддержке исследований в этой области становится крайне актуальным.

Изучение вопроса биотехнологии с юридической точки зрения показало, что, не смотря на развитие государственных программ последних лет, её законодательное регулирование недоработано. Это отмечают как ряд правоведов в своих научных трудах [1], так и непосредственно законодатели. Например, президент В.В. Путин осенью 2021 года на совещании по вопросам развития генетических технологий отмечал необходимость создания унифицированной системы хранения материалов и образцов, а также то, что в перспективе будет подписан указ об обращении с особо ценными генетическими материалами.

Из этого следует, что в российском законодательстве образовалась значительная брешь в сфере развивающихся отраслей, в частности и биотехнологии. Данное направление должно являться приоритетным и получать поддержку со стороны государства, в первую очередь в виде реформы законодательной базы в области зооинженерии и биотехнологии.

Литература:

[1] Зиновьева Н. А., Полябин С. В., Чинаров Р. Ю. Вспомогательные репродуктивные технологии: история становления и роль в развитии генетических технологий в скотоводстве (обзор) // С.-х. биол., Сельхозбиология, 2020. №2.

## **DEVELOPMENT OF LEGISLATIVE REGULATION OF ZOOENGINEERING**

**A. Higerovich**

**Author:** Higerovich A., master, student; xigerovich@mail.ru; Moscow University named after S. Yu. Witte, 196634, St. Petersburg, Pushkin district, Shushary, st. Central (Detskoselsky), 12, 40.

Today, cellular reproductive technologies are one of the most important components of practical biotechnology. They are used both to improve the available breeds of farm animals and to create new ones. In this regard, the issue of legislative regulation and support for research in this area becomes extremely relevant.

The study of the issue of biotechnology from a legal point of view showed that, despite the development of state programs in recent years, its legislative regulation is unfinished. This is noted both by a number of legal scholars in their scientific works [1], and directly by legislators. For example, President V.V. Putin in the fall of 2021 at a meeting on the development of genetic technologies noted the need to create a unified system for storing materials and samples, as well as the fact that in the future a decree will be signed on the treatment of especially valuable genetic materials.

It follows from this that a significant gap has formed in Russian legislation in the field of developing industries, in particular biotechnology. This area should be a priority and receive support from the state, primarily in the form of reform of the legislative framework in the field of animal engineering and biotechnology.

### References

[1] Zinov'eva N. A., Pozjabin S. V., Chinarov R. Ju. Vspomogatel'nye reproduktivnye tehnologii: istorija stanovlenija i rol' v razvittii geneticheskikh tehnologij v skotovodstve (obzor) // S.-h. biol., Sel'hozbiologija, 2020. №2.

## **ВЛИЯНИЕ СУБКЛИНИЧЕСКОГО КЕТОЗА НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ**

**Г. В. Ширяев**

**Автор:** Ширяев Г. В., кандидат сельскохозяйственных наук, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста»; 196625, Россия, г. Санкт-Петербург, пос. Тярлево, Московское шоссе, д. 55а

Цель исследований: изучение влияния субклинического кетоза на гематологические показатели крови высокопродуктивных молочных коров в послеродовой период.

Исследуемые животные подобраны по принципу условных аналогов и разделены на 2 группы по 8 голов в каждой. 1 группа – животные с концентрацией в крови 3-гидроксипутирата меньше 1,0 ммоль/л, 2 группа – животные с СКК с концентрацией 3-гидрокси-бутирата в крови в диапазоне 1,0-1,4 ммоль/л. Условия содержания и кормления их были одинаковыми для всех групп. Для экспресс-определения 3-гидроксибутирата в крови использовался глюкометр FreeStyle Optium. Определение уровня 3-гидроксибутирата происходило 2 раза: на 5-ый и 15-ый день после отела. Взятие крови осуществляли из хвостовой вены перед утренним кормлением. Сыворотка крови получена центрифугированием (3000 об/мин) с последующим замораживанием при  $-20^{\circ}\text{C}$ . В образцах определяли следующие показатели: эритроциты, гемоглобин, гематокрит, общий объем эритроцитов, среднее содержание гемоглобина в эритроцитах, распределение эритроцитов в крови, лейкоциты, гранулоциты, моноциты, лимфоциты, тромбоциты, средний объем тромбоцитов (гематологический контроль (контрольная кровь) CBC-3D (R&D Systems, США), анализатор автоматический для гематологического анализа «ТЕСОМ», КНР). Полученные данные обработаны при помощи программы IBM Statistics, США). Нормальность распределения проверяли с помощью теста Холмогорова-Смирнова. Использовали дисперсионный анализ с повторными измерениями (Repeated-measures ANOVA).

Уровень 3-гидроксибутирата для фиксации СК выбран 1-1,4 ммоль/л. В группе животных с СК к 15-му дню после отела произошло достоверное снижение 3-гидроксибутирата до показателей нормы ( $<1$  ммоль/л). Группы между собой достоверно различались ( $p<0,001$ ). Можно отметить, что гематологические показатели крови достоверно не различались между собой в случае межгрупповых значений. Показатели содержания эритроцитов и гемоглобина были практически идентичными и сохраняли схожую динамику внутри каждой группы – к 15 дню после отела происходило их достоверное снижение ( $p<0,05$  и  $p<0,001$ , соответственно). В случае показателей, характеризующих иммунитет животных обращает на себя внимание пониженная концентрация лейкоцитов в группе с СК главным образом за счет моноцитов и лимфоцитов. В случае внутригрупповых значений стоит отметить, что практически все показатели крови кроме лимфоцитов и среднего объема тромбоцитов достоверно изменились в сторону увеличения. На протяжении всего рассматриваемого периода в обеих группах соотношение гранулоцитов, моноцитов и лимфоцитов практически не изменялось (гранулоцитов было больше всего, далее следуют лимфоциты и моноциты).

Корреляционный анализ выявил сильную отрицательную связь в 1-ой группе между содержанием в крови 3-гидроксibuтирата на 5-ый и 15-ый дни после отела с уровнем лейкоцитов на 15 день (чем ниже уровень 3-гидроксibuтирата, тем выше уровень лейкоцитов). Обращает на себя внимание корреляционная связь между содержанием гранулоцитов на 5 день и концентрацией 3-гидроксibuтирата на 15 день после отела. В зависимости от группы эта связь была сильной отрицательной (1 группа) и сильно положительной (2 группа). Интересная тенденция прослеживается в случае моноцитов – уровень 3-гидроксibuтирата на 15 день после отела положительно коррелировал с уровнем моноцитов на 15 день после отела в обеих группах (в первой группе корреляция была значимой  $p < 0,05$ ). Т.е. положительная связь фиксируется в момент, когда животные уже без субклинического кетоза. Но на 5 день после отела уровень 3-гидроксibuтирата коррелировал отрицательно с моноцитами только в группе с субклиническим кетозом (чем ниже концентрация 3-гидроксibuтирата, тем выше содержание моноцитов). Связь интересная и заслуживает дальнейшего изучения, т.к. моноциты являются одними из основных лейкоцитов, продуцирующих провоспалительные цитокины, обеспечивающих мобилизацию воспалительного ответа. Не выявлено достоверных различий между гематологическими показателями крови коров-первотелок в зависимости от концентрации 3-гидроксibuтирата. Возможно это связано с выбранными диапазонами (1-1,4 ммоль/л). Установлена корреляционная связь между уровнем 3-гидроксibuтирата и уровнем моноцитов (в различные дни после отела), косвенно показывающая, что уровень воспалительных процессов у животных с субклиническим кетозом ниже в сравнении со здоровыми животными.

Работа проведена в рамках выполнения научных исследований Министерства науки и высшего образования РФ по теме № АААА-А18-118021990006-9

#### Литература

[1] Племяшов К. В., Андреев Г. М., Захаров П. Г., Кузьмин В. А., Щепеткина С. В. Практические рекомендации по воспроизводству крупного рогатого скота. Санкт-Петербург, 2008.

[2] Хоменко Р. М. Влияние кормовых добавок, используемых для коррекции метаболических процессов в рубце, на биохимические показатели крови у коров после отела / Р. М. Хоменко, Б. С. Семенов, Т. Ш. Кузнецова // Генетика и разведение животных. – 2021. – № 2. – С. 10-15.

### THE EFFECT OF SUBCLINICAL KETOSIS ON BLOOD HEMATOLOGICAL INDICATORS

G. Shiryaev

**Author:** Shiryaev G., PhD (Agr. Sci Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding — Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry; 196625, Russia, St. Petersburg, pos. Tyarlevo, Moscow highway, 55a

The purpose of the research: the study of the effect of subclinical ketosis on the hematological indicators of the blood of highly productive milk cows in the postal period.

The studied animals are selected according to the principle of conditional analogues and divided into 2 groups of 8 goats each. 1 group-animals with a concentration in the blood of 3-hydroxybutyrate less than 1.0 mmol/L, 2 groups-animals with an UC with a concentration of 3-hydroxy-butyrate in the blood in the range of 1.0-1.4 mmol/l. The conditions of their detention and feeding were the same for all groups. For express determination of 3-hydroxybutirates in the blood, Freestyle Optium glucometer was used. The determination of the level of 3-hydroxybutirates took place 2 times: on the 5th and 15th day after the hotel. Taking blood was carried out from the tail vein in front of the morning feeding. The blood serum was obtained by centrifugation (3000 rpm) with subsequent freezing at -20 ° C. The following indicators were determined in the samples: red blood cells, hemoglobin, hematocrit, the total volume of red blood cells, the average hemoglobin content in red blood cells, the distribution of red blood cells in the blood, leukocytes, granulocytes, monocytes, lymphocytes, thrombocytes, the average volume of platelets (hematological control (control blood) CBC-3D) (R&D Systems, USA), automatic analyzer for hematological analysis "Tecom", China). The data obtained are processed using the IBM Statistics, USA). The normality of the distribution was checked using the Kholmogorov-Smirnov test. Used dispersion analysis with repeated measurements (Repeated -measures Anova).

The level of 3-hydroxybutyrate for fixing the UK is selected 1-1.4 mmol/l. In the group of animals with the UK, to the 15th day, after the hotel, a reliable decrease in 3-hydroxybutyrate to the norm (1 mmol/l) occurred. The groups between themselves significantly differed ( $p < 0.001$ ). It can be noted that the hematological indicators of blood did not significantly differ in the case of intergroup values. The indicators of the content of red blood cells and hemoglobin were almost identical and retained similar dynamics within each group - by 15 days, after the hotel, their reliable decrease took place ( $p < 0.05$  and  $p < 0.001$ , respectively). In the case of indicators characterizing the immunity of animals, the reduced concentration of leukocytes in the group with the UK mainly due to monocytes and lymphocytes is noteworthy. In case of intra -group values, it is worth noting that almost all blood indicators except lymphocytes and the average volume of platelets have significantly changed towards the increase. Throughout the period under consideration in both groups, the ratio of granulocytes, monocytes and lymphocytes practically did not change (granulocytes were most, followed by lymphocytes and monocytes).

The correlation analysis revealed a strong negative relationship in the 1st group between the 3-hydroxybutyrate content in the 5th and 15th days after the hotel with the level of leukocytes for 15 days (the lower the level of 3-hydroxybutirates, the higher the level of leukocytes). The correlation between the content of granulocytes on the 5th day and the concentration of 3-hydroxybutirates on 15 days after the hotel is noteworthy. Depending on the group, this connection was strong negative (1 group) and very positive (group 2). An interesting trend can be traced in the case of monocytes-the level of 3-hydroxybutyrate 15 days after the hotel positively correlated with the level of monocytes 15 days after the hotel in both groups (in the first group the correlation was a significant  $p < 0.05$ ). Those. A positive connection is fixed at the moment when animals are already without subclinical ketosis. But on the 5th day after the hotel, the level of 3-hydroxybutyrate correlated negatively with monocytes only in a group with subclinical ketosis (the lower the concentration of 3-hydroxybutirates, the higher the content of monocytes). The connection is interesting and deserves further study, because Monocytes are one of the main leukocytes producing pro -inflammatory cytokines that ensure the mobilization of an inflammatory response. There were no reliable differences between the hematological indicators of the blood of the first cows, depending on the concentration of 3-hydroxybutirates.



Perhaps this is due to the selected ranges (1-1.4 mmol/l). A correlation of the level of 3-hydroxybutirates and the level of monocytes (on various days after the hotel) was established, indirectly showing that the level of inflammatory processes in animals with subclinical ketosis is lower in comparison with healthy animals.

The work was carried out as part of the implementation of scientific research of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on the topic No. AAAA-A18-11802199000-9

#### References

[1] Streyashov K. V., Andreev G. M., Zakharov P. G., Kuzmin V. A., Schepetkina S. V. Practical recommendations for the reproduction of cattle. St. Petersburg, 2008.

[2] Khomenko R. M. The influence of fodder additives used to correct metabolic processes in the scar, on the biochemical indicators of blood in cows after the hotel / R. M. Khomenko, B. S. Semenov, T. Sh. Kuznetsova // Genetics and Genetics and Genetics and Genetics and Genetics and Genetics and Genetics Breeding animals. – 2021. – №2. – P. 10-15.