

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Самарский государственный аграрный университет»

Е. С. Зайцева, А. М. Ухтверов

Цитогенетика в животноводстве

Учебное пособие

Кинель 2022

УДК 575(075)
ББК 48.3Я7
317

Рекомендовано учебно-методическим советом Самарского ГАУ

Рецензенты:

д-р с.-х. наук, проф., зав. кафедрой «Кормление и разведение сельскохозяйственных животных», ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ,
С. И. Николаев;

д-р ветеринар. наук, проф. кафедры «Анатомия, акушерство и хирургия»,
ФГБОУ ВО Самарский ГАУ,
М. Х. Баймишев

Зайцева, Е. С.

317 Цитогенетика в животноводстве : учебное пособие /
Е. С. Зайцева, А. М. Ухтверов. – Кинель : ИБЦ Самарского
ГАУ, 2022. – 156 с.
ISBN 978-5-88575-678-5

В учебном пособии приводится краткий теоретический обзор по темам: основные сведения о клетке и её делении; цитологические основы наследственности; структурная организация хромосом; функциональное преобразование хромосом; изменение хромосомного набора; кариотип и его особенности; пути реализации генетической информации; генная инженерия; генетические основы иммунитета. По всем темам и разделам пособия даны контрольные вопросы.

Представлен материал в соответствии с программой дисциплины «Цитогенетика в животноводстве» для обучающихся по специальности 36.04.02 «Зоотехния».

УДК 575(075)
ББК 48.3Я7

ISBN 978-5-88575-678-5

© ФГБОУ ВО Самарский ГАУ, 2022
© Зайцева Е. С., Ухтверов А. М., 2022

Предисловие

Настоящее учебное издание разработано в соответствии с требованиями государственного образовательного стандарта высшего профессионального образования и учебной программы дисциплины «Цитогенетика в животноводстве» по специальности 36.04.02 «Зоотехния».

Структура учебного пособия учитывает особенности учебного процесса при изучении предмета: выполнению магистрантами лабораторных занятий должна предшествовать теоретическая подготовка. Поэтому по разделам курса «Цитогенетика в животноводстве» дано краткое теоретическое обоснование темы.

Целью учебного пособия «Цитогенетика в животноводстве» является формирование у обучающихся системы компетенций для решения профессиональных задач по эффективному использованию теоретических и практических знаний о цитологических основах наследственности, изменчивости, достижениях генной инженерии и использовании методов цитогенетики в селекции сельскохозяйственных животных.

Для достижения данной цели ставятся следующие задачи: освоение обучающимися основных понятий цитогенетики и применение классических и современных методов цитогенетического анализа в научных исследованиях и практике животноводства.

1. Основные сведения о клетке и ее делении.

Цитологические основы наследственности

Клеточная теория – важнейшее обобщение в биологии, согласно которому все организмы имеют клеточное строение. Возникновению данной теории способствовали открытия ученых и естествоиспытателей.

В 1665 г. английский физик Р. Гук, рассматривая под увеличительным стеклом срезы камыша, обнаружил, что они состоят из мельчайших ячеек, которые он назвал клетками. Позднее итальянский естествоиспытатель М. Мальпиги рассмотрел оболочку клетки, а А. Левенгук увидел в капле воды одноклеточные организмы – бактерии. В начале XIX в. чешский биолог Я. Пуркине обнаружил в клетке протоплазму (цитоплазму). Открытие российским ученым К. Бэрм в 1826 г. яйцеклеток млекопитающих привело к выводу, что клетка лежит в основе развития многоклеточных организмов. В 1831 г. английский ботаник Р. Броун открыл клеточное ядро, а немецкий ботаник М. Шлейден вскоре установил обязательное его присутствие в любой клетке. В 1839 г. немецкий физиолог и цитолог Т. Шванн создал клеточную теорию, в которой обобщил информацию о клетке и сформулировал представление о том, что организмы всех растений и животных состоят из клеток и что клетки – основные единицы жизни. В 1858 г. немецкий врач Р. Вирхов доказал, что новые клетки возникают только в результате деления ранее существовавших клеток. Изучение клетки продолжалось в течение трех веков, в результате была создана современная клеточная теория. Ее главные положения:

1) клетка – основная единица строения, функционирования и развития всех живых организмов, наименьшая единица живого, способная к самовоспроизведению, саморегуляции и самообновлению;

2) клетки всех одноклеточных и многоклеточных организмов сходны (гомологичны) по своему строению, химическому составу, основным проявлениям жизнедеятельности и обмену веществ;

3) размножение клеток происходит путем их деления, каждая новая клетка образуется в результате деления исходной (материнской) клетки;

4) в сложных многоклеточных организмах клетки специализированы по выполняемым ими функциям и образуют ткани; из тканей состоят органы, которые тесно взаимосвязаны и подчинены нервной и гуморальной регуляциям.

Клетка может существовать только как целостная система, которая не делится на части. Целостность клетки обеспечивают биологические мембраны. Части и органоиды клетки, состоящие из сложных молекул, представляют собой целостные системы более низкого ранга. Она является открытой системой, связанной с окружающей средой, обменом веществ и энергией. Это функциональная система, в которой каждая молекула выполняет определенные функции. Клетка обладает устойчивостью, способностью к саморегуляции и самовоспроизводству.

Основной формой существования жизни является клетка. В 1839 г. немецкие ученые Т. Шванн и М. Шлейден сформулировали клеточную теорию, согласно которой высшие растения и животные построены из элементарных единиц, так называемых клеток. Среди живых организмов встречаются два типа организации клеток: *прокариоты* (буквально «предъядерные», к ним относят бактерии и сине-зеленые водоросли) и *эукариоты* (буквально «обладающие настоящим ядром», к ним относят одно- и многоклеточные организмы – растения, грибы и животных). Сравнительная характеристика про- и эукариот представлена в таблице 1.

Таблица 1

Сравнительная характеристика прокариот и эукариот

Признак	Прокариоты	Эукариоты
Ядерная оболочка	Отсутствует	Наличие
ДНК	Замкнута в кольцо	Ядерная ДНК представляет собой линейную структуру и находится в хромосомах
Хромосомы	Отсутствует	Наличие
Митоз	Отсутствует	Наличие
Мейоз	Отсутствует	Наличие
Гаметы	Отсутствует	Наличие
Митохондрии	Отсутствует	Наличие
Пластиды у автотрофов	Отсутствует	Наличие
Способ поглощения пищи	Адсорбция через клеточную мембрану	Фагоцитоз и пиноцитоз
Пищеварительные вакуоли	Отсутствует	Наличие
Жгутики	Наличие	Наличие

Прокариотическая клетка покрыта цитоплазматической мембраной (от лат. *membrana* – кожа – структура, расположенная на поверхности клеток и внутриклеточных структур), играющей роль активного барьера между цитоплазмой клетки и внешней средой. Размеры этих клеток не более 0,5-3,0 мкм в диаметре или по длине, вместо клеточного ядра у них имеется его эквивалент, который называется *нуклеоид*. Нуклеоид лишен оболочки и состоит из одной молекулы ДНК в виде кольцевой хромосомы, у которой отсутствуют основные белки – *гистоны* (гистоны – это белки клеточных ядер). Кроме того, бактерии могут содержать ДНК в форме крошечных *плазмид*. Это очень короткие двойные спирали ДНК, замкнутые в кольцо с одним или несколькими генами, а иногда и совсем без генов. Они реплицируются независимо от остального генетического материала и часто переходят из одной клетки в другую. В основном веществе цитоплазмы прокариотических клеток располагаются многочисленные *рибосомы*, но у них нет *митохондрий* и некоторых других органелл, характерных для цитоплазмы высших (эукариотических) клеток.

Клетка эукариот (рис. 1.1) организована сложнее, чем прокариотическая. Она покрыта цитоплазматической мембраной, которая играет важную роль в регулировании состава клеточного содержимого, так как через нее проникают все питательные вещества и продукты секреции. Каждая клетка содержит небольшое шаровидное или овальное тельце, называемое *ядром*. Ядро служит важным регулирующим центром клетки: содержит наследственные факторы (*гены*), определяющие признаки данного организма, и управляет многими внутриклеточными процессами.

Форма ядра большей частью зависит от формы клетки. Ядро заполнено кариоплазмой (ядерным соком), в котором расположены ядрышки и хромосомы.

Строение ядра отражено на рисунке 1.1.

В ядре происходит репликация и удвоение молекул ДНК, а также синтез молекул РНК на матрице ДНК. В ядре же синтезированные молекулы РНК претерпевают некоторые модификации (например, в процессе сплайсинга из молекул проматричной РНК исключаются незначительные, бессмысленные участки), после чего выходят в цитоплазму. Сборка рибосом также происходит в ядре, в специальных образованиях, называемых ядрышками.

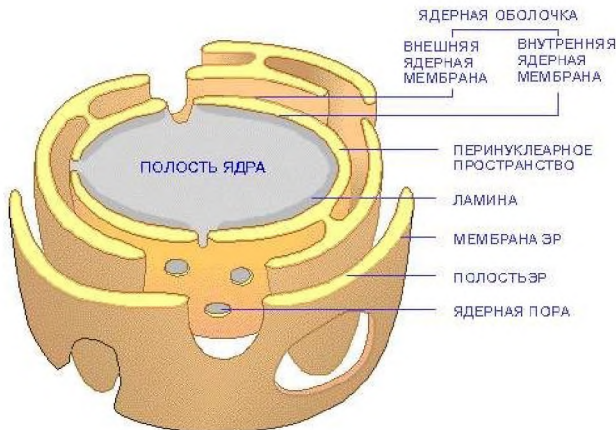


Рис. 1.1. Строение ядра

Ядерная оболочка состоит из двух мембран, разделенных околоядерным (перинуклеарным) пространством, которое может сообщаться с канальцами цитоплазматической сети.

Выросты внешней ядерной мембраны соединяются с каналами эндоплазматической сети (ЭПС), образуя единую систему сообщающихся каналов.

В состав кариоплазмы входят ферменты, рибосомальные и структурные белки хромосом, свободные нуклеотиды, аминокислоты, а также продукты деятельности ядрышка и хроматина.

Хроматином называют глыбки, гранулы и сетевидные структуры ядра, интенсивно окрашивающиеся некоторыми красителями. Различают генетически неактивный хроматин – гетерохроматин и активный – эухроматин.

Гетерохроматин образован спирализованными участками хромосом, неактивными в генетическом отношении. Гетерохроматин содержит гены, которые либо использовались на более ранних этапах индивидуального развития, либо еще не включались в работу.

Генетически активный хроматин – эухроматин – полностью деспирализован и в световой микроскоп не виден. В состав эухроматиновых участков хромосом входят гены, в продуктах которых (и-РНК) закодированы все особенности строения и функциональной активности конкретной клетки. Отсюда следует, что в клетках разных типов, содержащих совершенно одинаковые хромосомные

наборы, функционируют разные группы генов, специфических для данного типа клеток.

Ядрышко – характерная структура ядра. Оно представляет собой плотное округлое тельце, погруженное в кариоплазму. Число ядрышек может колебаться от 1 до 5-7 и более. Они есть только в неделящихся ядрах. Во время митоза они исчезают, а после завершения деления вновь появляются. Ядрышко не представляет собой самостоятельную структуру ядра. Оно образуется вокруг участка хромосомы, в которой закодирована структура р-РНК. Этот участок хромосомы носит название ядрышкового организатора (ЯО), и на нем синтезируется р-РНК. Кроме накопления р-РНК, в ядрышке осуществляется процессинг р-РНК и формируются субъединицы рибосом, которые потом перемещаются в цитоплазму. Таким образом, ядрышко – это скопление р-РНК и субъединиц рибосом на разных этапах формирования.

По строению различные эукариотические клетки сходны, но наряду со сходством между клетками организмов различных царств живой природы имеются заметные отличия. Они касаются как структурных, так и биохимических особенностей.

Строение клетки приведено на рисунке 1.2.

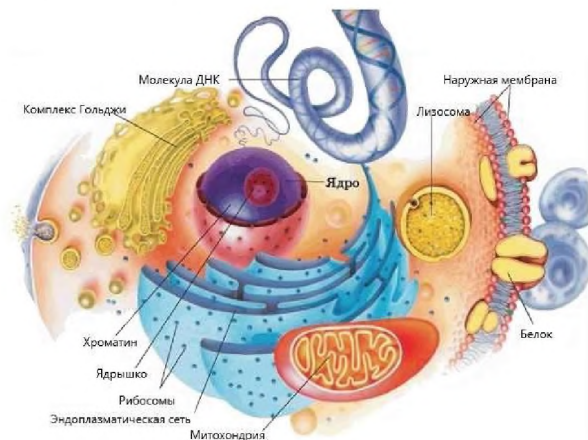


Рис. 1.2. Схема строения животной клетки

В клетках *животных* отсутствует плотная клеточная стенка, нет пластид и центральной вакуоли. Для клеточного центра животных клеток характерна центриоль. Строение, функции

и свойства органелл клетки даны в таблице 2.

Таблица 2

Характеристика органелл клеток

Органеллы	Строение и свойства	Функция
1	2	3
Оболочка	Состоит из целлюлозы. Окружает растительные клетки. Имеет поры	Придает клетке прочность, поддерживает определенную форму, защищает. Является скелетом растений
Наружная клеточная мембрана	Двумембранная клеточная структура. Состоит из билипидного слоя и мозаично вкрапленных белков, снаружи располагаются углеводы. Обладает полупроницаемостью	Ограничивает живое содержимое клеток всех организмов. Обеспечивает избирательную проницаемость, защищает, регулирует водно-солевой баланс, обмен с внешней средой
Эндоплазматическая сеть (ЭПС)	Одномембранная структура. Система канальцев, трубочек, цистерн. Пронизывает всю цитоплазму клетки. Гладкая ЭПС и гранулярная ЭПС с рибосомами	Делит клетку на отдельные отсеки, где происходят химические процессы. Обеспечивает сообщение и транспорт вещества в клетке. На гранулярной ЭПС идет синтез белка. На гладкой – синтез липидов, углеводов
Аппарат Гольджи	Одномембранная структура. Система пузырьков, цистерн, в которой находятся продукты синтеза и распада	Обеспечивает упаковку и вынос веществ из клетки, образует первичные лизосомы
Лизосомы	Одномембранные шарообразные структуры клетки. Содержат гидролитические ферменты	Обеспечивают расщепление высокомолекулярных веществ, внутриклеточное переваривание
Рибосомы	Немембранные структуры грибовидной формы. Состоят из малой и большой субъединиц	Содержатся в ядре, цитоплазме и на гранулярной ЭПС. Участвует в биосинтезе белка
Митохондрии	Двумембранные органеллы продолговатой формы. Наружная мембрана гладкая, внутренняя образует кристы. Заполнена матриксом. Имеются митохондриальные ДНК, РНК, рибосомы. Полуавтономная структура	Являются энергетическими станциями клеток. Обеспечивают дыхательный процесс – кислородное окисление органических веществ. Идет синтез АТФ

Окончание табл. 2

1	2	3
Пластиды	Характерны для растительных клеток. Двумембранные, полуавтономные органеллы продолговатой формы. Заполнены стромой, в которой располагаются граны. Они образованы из мембранных структур – тилакоидов. Имеются ДНК, РНК, рибосомы	Протекает фотосинтез. На мембранах тилакоидов идут реакции световой фазы, в строме – темновой фазы. Синтез углеводов
Хлоропласты		
Хромопласты	Двумембранные органеллы шаровидной формы. Содержат пигменты: красный, оранжевый, желтый. Образуются из хлоропластов	Придают окраску цветкам, плодам. Образуются осенью из хлоропластов, придают листьям желтую окраску
Лейкопласты	Двумембранные неокрашенные пластиды шарообразной формы. На свету могут переходить в хлоропласты	Запасают питательные вещества в виде крахмальных зерен
Клеточный центр	Немембранные структуры. Состоят их двух центриолей и центросферы	Образует веретено деления клетки, участвуют в делении. После деления клетки удваиваются
Вакуоль	Характерна для растительной клетки. Мембранная полость заполнена клеточным соком	Регулирует осмотическое давление клетки. Накапливает питательные вещества и продукты жизнедеятельности клетки
Ядро	Главный компонент клетки. Окружено двухслойной пористой ядерной мембраной. Заполнено кариоплазмой. Содержит ДНК в виде хромосом (хроматина)	Регулирует все процессы в клетке. Обеспечивает передачу наследственной информации. Обеспечивает репликацию ДНК и синтез РНК
Ядрышко	Темное образование в ядре, от кариоплазмы не отделено	Место образования рибосом
Органеллы движения: реснички жгутики	Выросты цитоплазмы, окруженные мембраной	Обеспечивают движение клетки, удаление частичек пыли (мерцательный эпителий)

Ядерная мембрана, оболочка, окружающая ядро и отделяющая его от цитоплазмы, регулирует движение веществ из ядра и в ядро. В *кариоплазме*, полужидком основном веществе ядра, размещается строго определенное число нитевидных образований,

которые называются *хроматином*. В ядре находятся сферические тельца, называемые *ядрышками*. Они исчезают при делении клетки и затем появляются вновь, участвуя в синтезе рибонуклеиновых кислот. Вещество, находящееся внутри плазматической мембраны, но вне ядра, называется *цитоплазмой*. В цитоплазме располагаются ядро и разнообразные органоиды: лизосомы, митохондрии, пластиды, вакуоли, ЭПС, клеточный центр, аппарат Гольджи (АГ). Они различаются по своему строению и функциям. Все органоиды цитоплазмы взаимодействуют между собой, обеспечивая нормальное функционирование клетки. Цитоплазма обеспечивает взаимодействие всех органоидов. Здесь протекают химические реакции.

Жидкую составляющую цитоплазмы также называют *цитозолем*. Внутреннее пространство эукариотической клетки строго упорядочено. Передвижение органоидов координируется при помощи специализированных транспортных систем, так называемых микротрубочек, служащих внутриклеточными «дорогами», и специальных белков динеинов и кинезинов, играющих роль «двигателей». Отдельные белковые молекулы также не диффундируют свободно по всему внутриклеточному пространству, а направляются при помощи специальных сигналов на их поверхности, узнаваемых транспортными системами клетки.

Цитоплазма представляет собой сложный лабиринт мембран, образующих *эндоплазматическую сеть*, заполняющую большую часть цитоплазмы. Существует два типа эндоплазматической сети: гранулярная, к мембранам которой прикреплено множество *рибосом* – мелких рибонуклеопротеидных частиц, служащих местом синтеза белка, и агранулярная, которая состоит только из одних мембран. В одной и той же клетке может встречаться сеть того и другого типа. Остальная часть цитоплазмы заполнена другими специализированными структурами: это митохондрии, аппарат Гольджи, центриоли и пластиды у растений.

Все живые клетки содержат *митохондрии* – тельца величиной 0,2-5 мкм, форма которых варьирует от сферической до палочковидной и нитевидной.

В одной клетке может быть от нескольких митохондрий до тысячи и более, обычно они сосредоточены в той части клетки, где наиболее интенсивный обмен. Митохондрии ограничены двойными мембранами: внешний слой мембраны образует гладкую наружную поверхность, а от внутреннего слоя отходят

многочисленные складки, называемые *кристами* (рис. 1.3). Они содержат ферменты, участвующие в системе переноса электронов, которая играет важнейшую роль в превращении энергии питательных веществ в биологически полезную энергию, необходимую для осуществления клеточных функций. Главная функция митохондрий – это выработка энергии, митохондрии образно называют электростанциями клеток.

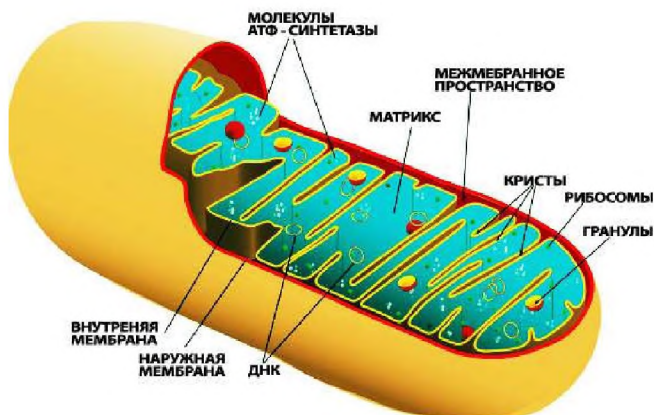


Рис. 1.3. Строение митохондрии

В клетках большинства растений имеются *пластиды* – формирования, в которых происходит синтез или накопление органических веществ.

Аппарат Гольджи – компонент цитоплазмы, представляет собой неупорядочную сеть канальцев, выстланных мембранами. Аппарат Гольджи встречается почти во всех клетках, кроме зрелых спермиев и красных кровяных тельцах. Этот компонент служит местом временного хранения веществ, вырабатываемых в гранулярной эндоплазматической сети. Аппарат Гольджи (рис. 1.4) представляет собой стопку плоских мембранных цистерн, несколько расширенных ближе к краям. В цистернах АГ созревают некоторые белки, синтезированные на мембранах гранулярного ЭПР и предназначенные для секреции или образования лизосом. Аппарат Гольджи асимметричен – цистерны, располагающиеся ближе к ядру клетки (цис-Гольджи), содержат наименее зрелые

белки. К этим цистернам непрерывно присоединяются мембранные пузырьки – *везикулы*, отпочковывающиеся от эндоплазматического ретикулума. По-видимому, при помощи таких же пузырьков происходит дальнейшее перемещение созревающих белков от одной цистерны к другой. В итоге от противоположного конца органеллы (транс-Гольджи) отпочковываются пузырьки, содержащие полностью зрелые белки.

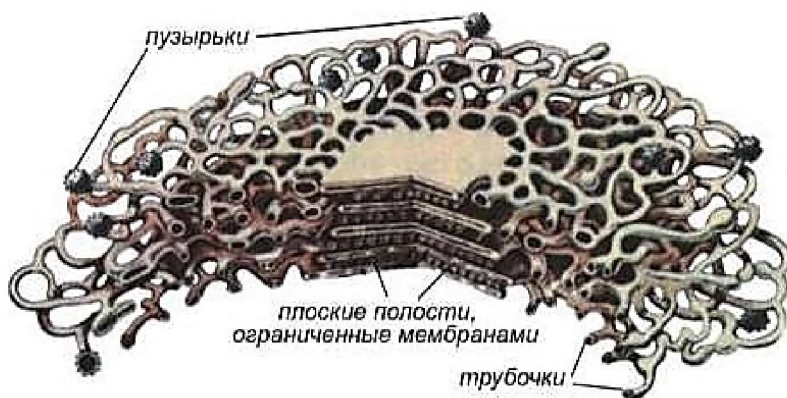


Рис. 1.4. Схема строения аппарата Гольджи

Аппарат Гольджи выполняет в клетке разнообразные функции: участвует в накоплении и транспортировке веществ, выведении их из клетки, формировании лизосом, клеточной оболочки. Например, в полости АГ поступают молекулы целлюлозы, которые при помощи пузырьков перемещаются на поверхность клетки и включаются в клеточную оболочку.

Лизосомы – группа внутриклеточных органелл, встречающихся в животных клетках; они представляют собой ограниченные мембраной тельца, которые содержат разнообразные ферменты, способные гидролизовать макромолекулярные компоненты клетки. При проникновении в клетку чужеродной ДНК лизосомы выделяют в цитоплазму ферменты, расщепляющие ДНК, – *нуклеазы*, и тем самым выполняют защитную функцию. Лизосомы – это органеллы диаметром 0,2-0,4 мкм, окруженные простой мембраной, способные принимать самые разные формы (рис. 1.5). Обычно на клетку приходится несколько сотен лизосом. Главная функция

лизосом – ферментативная деградация попавших в них макромолекул и органелл.

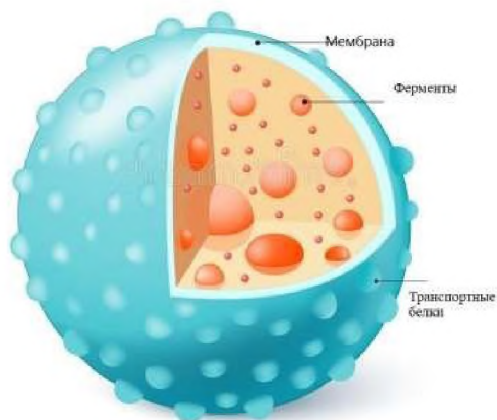


Рис. 1.5. Лизосома

Различают первичные и вторичные лизосомы. *Первичными лизосомами* называют неактивные органеллы, *вторичными* – органеллы, в которых происходит процесс переваривания. Вторичные лизосомы образуются из первичных. Они подразделяются: на *гетеролизосомы* (фаголизосомы) – переваривается материал, поступающий в клетку извне путем пиноцитоза и фагоцитоза; *аутолизосомы* (цитолизосомы) – в них разрушаются собственные структуры клетки, завершающие свою функцию.

Деградация достигается за счет присутствия в лизосомах около 40 типов различных расщепляющих ферментов – гидролаз с оптимумом действия в кислой области. Главный фермент лизосом – кислая фосфатаза. В мембране лизосом находятся АТФ-зависимые протонные насосы вакуольного типа. Они обогащают лизосомы протонами, вследствие чего для внутренней среды лизосом рН 4,5-5,0 (в то время как в цитоплазме рН 7,0-7,3).

Эндоплазматический ретикулум (ЭР). В эукариотической клетке существует система переходящих друг в друга мембранных отсеков (трубок и цистерн), которая называется эндоплазматическим ретикулумом (или эндоплазматическая сеть, ЭПР или ЭПС).

В клетке органические вещества не только окисляются, но и

синтезируются. Синтез липидов и углеводов осуществляется на эндоплазматической сети – ЭПС (рис. 1.6), а белков – на рибосомах. ЭПС – это система канальцев и цистерн, стенки которых образованы мембраной, они пронизывают всю цитоплазму. По каналам ЭПС вещества перемещаются в разные части клетки. Существует гладкая и шероховатая ЭПС. На поверхности гладкой ЭПС при участии ферментов синтезируются углеводы и липиды. Шероховатость ЭПС придают расположенные на ней мелкие округлые тельца – рибосомы (рис. 1.6.), которые участвуют в синтезе белков. Синтез органических веществ происходит и в пластидах, которые содержатся только в клетках растений.

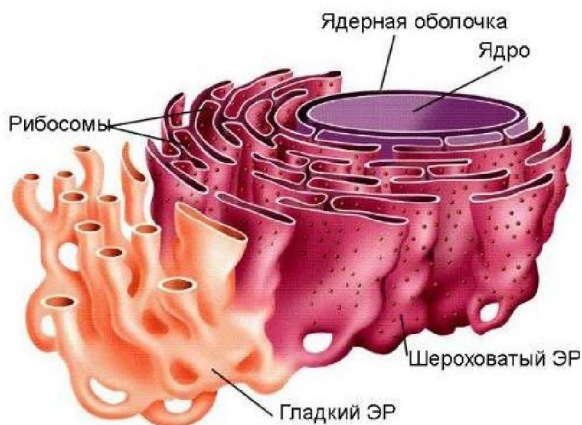


Рис. 1.6. Эндоплазматический ретикулум

В основе роста и дифференцировки органов и тканей животных лежит размножение клеток, смена одного клеточного поколения на другое. Клетки тела, или *соматические* клетки, разных поколений содержат одинаковое количество генетического материала, что обеспечивается особым механизмом деления, получившим название *митоз*. В процессе митоза выделяют две основные стадии – *интерфазу* и собственно *митоз*.

Интерфаза предшествует митозу. В ней выделяют три периода: 1) пресинтетический (G_1); 2) синтетический (S); 3) постсинтетический (G_2).

В G_1 -периоде в клетке происходит накопление белка, РНК и других продуктов, необходимых для образования клеточных структур и последующего деления. В течение S-периода синтезируется ДНК и происходит ауторепродукция (самоудвоение) хромосом, что приводит к возникновению второй хроматиды. В G_2 -периоде продолжается синтез ДНК и белков, накапливается энергия. Время прохождения клетками разных периодов интерфазы неодинаково. Вслед за интерфазой начинается деление клетки – митоз. Выделяют четыре стадии митоза: *профазу*, *метафазу*, *анафазу*, *телофазу*. В *профазе* хромосомы представляют собой клубок длинных тонких хроматиновых нитей. К концу этой фазы митоза длина их уменьшается за счет спирализации примерно в 25 раз, наблюдается разрушение ядрышка, его вещество участвует в образовании веретена деления. Завершается профазу разрушением ядерной оболочки клетки. В *метафазе* утолщенные спирализованные хромосомы перемещаются в экваториальную плоскость клетки. В этот момент они имеют характерную для каждой из них форму, удобную для цитогенетического анализа. Началом *анафазы* считают момент разделения удвоенных хромосом на хроматиды, которые затем расходятся к противоположным полюсам клетки. Во время *телофазы* сестринские хроматиды достигают противоположных полюсов и деспирализуются. Так формируются два дочерних ядра. Наряду с делением материнского ядра происходит деление цитоплазмы, образование оболочек клеток.

Таким образом, в процессе митоза из одной материнской клетки возникают две дочерние, содержащие такой же набор хромосом, как и у исходной клетки (рис. 1.7). Основное биологическое значение митоза состоит в точном распределении хромосом между двумя дочерними клетками; тем самым сохраняется преемственность хромосомного набора в ряду клеточных поколений и полноценность генетической информации каждой клетки, что необходимо для осуществления общих и специфических функций живого организма.

При делении соматических клеток могут возникать различные нарушения, связанные с повреждением хромосом, митотического аппарата, цитоплазмы. К числу этих нарушений относятся задержка митоза в профазе, нарушения спирализации и деспирализации хромосом, раннее разделение хроматид, фрагментация и пульверизация хромосом, задержка митоза в метафазе. Эти нарушения

возникают под действием отдельных химических веществ, радиации, вирусных инфекций.

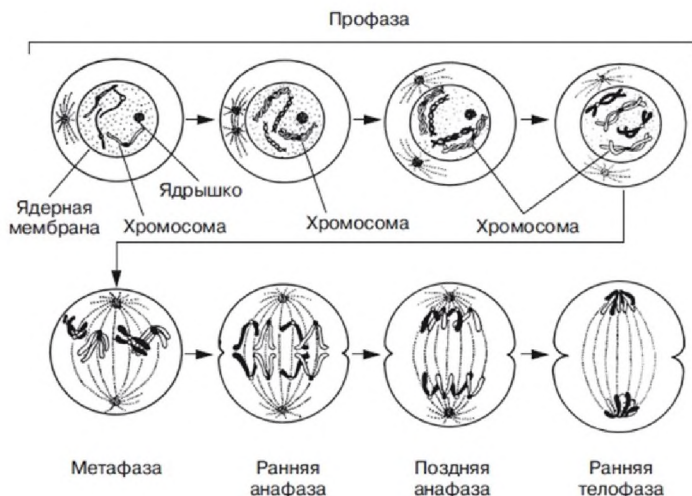


Рис. 1.7. Схема митоза

Наиболее ответственный момент с точки зрения генетики при образовании половых клеток – *мейоз* – процесс редукционного и эквационного деления ооцитов и сперматитов, в результате которого образуются половые клетки с гаплоидным набором хромосом. Непосредственно перед мейозом клетки половых желез находятся в интерфазе (рис. 1.8).

Редукционное деление начинается с профазы I, которая подразделяется на пять фаз. На первой стадии профазы I – *лептонемы* хромосомы деспирализованы, они в 2-5 раз длиннее метафазных и состоят из двух хроматид, соединенных центромерой. На стадии *зигонемы* наблюдается притяжение и слияние гомологичных хромосом. Каждая пара конъюгирующих хромосом образует бивалент, а по числу хроматид – тетраду. На этой стадии происходит образование синаптонемного комплекса (СК), входящего в состав бивалента. На следующей стадии *пахинемы* происходят утолщение и укорочение хромосом, при этом сестринские хроматиды становятся хорошо различимыми, на отдельных из них можно видеть и ядрышки. На стадии *диплонеми* конъюгирующие хромосомы

начинают отталкиваться и постепенно расходятся от центromеры к концам. При этом образуются характерные фигуры, напоминающие греческую букву «хи» (χ) и получившие вследствие этого название *хиазмы*. В точках соприкосновения гомологичных хромосом возникают разрывы. Они могут быть одинарными, двойными и более сложными. В результате разрывов образуются фрагменты хроматид, которые затем могут воссоединиться на другой хромосоме, изменяя тем самым комбинацию генетического материала в клетке. Обмен участками между гомологичными хромосомами получают название *кроссинговера*. На последней стадии профазы I – *диакнезе* происходит резкое укорочение хромосом, и к концу этой стадии хроматиды остаются связанными только на концевых участках. Этим и заканчивается профазы I.

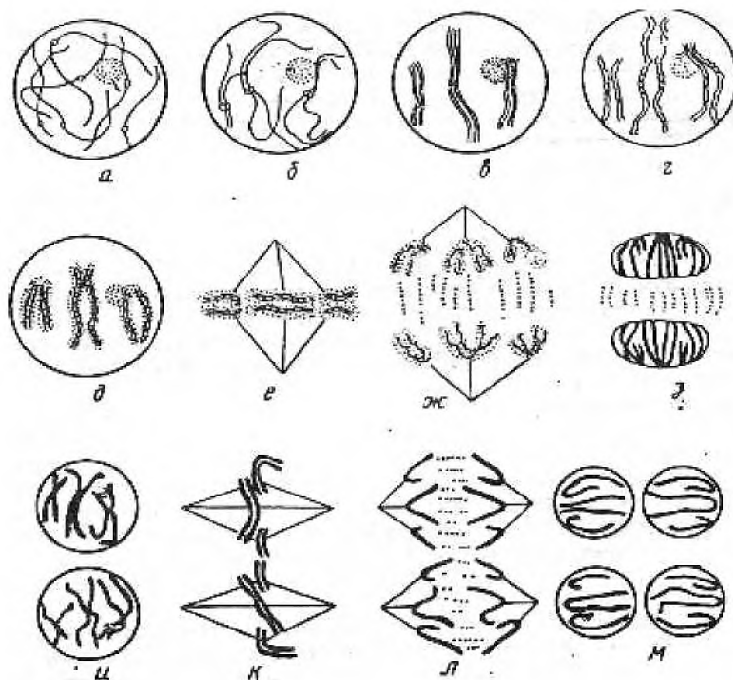


Рис. 1.8. Схема мейоза:

- а – стадия лептотены; б – стадия зиготены; в – стадия похитены;
 г – стадия диплотены; д – стадия диакнеза; е – метафаза; ж – анафаза;
 з – телофаза; и – профазы второго деления; к – метафаза второго деления;
 л – анафаза второго деления; м – телофаза второго деления

На стадии **метафазы I** биваленты располагаются в плоскости экватора центромерами к противоположным полюсам. Силы отталкивания здесь увеличиваются. В **анафазе I** начинается расхождение гомологичных хромосом к противоположным полюсам, которое носит случайный характер. Каждая из пар гомологичных хромосом имеет одинаковую вероятность распределения в одну из двух дочерних клеток. В **телофазе I** хромосомы достигают полюсов клетки. Затем восстанавливается ядерная оболочка и ядрышко, хромосомы деконденсируются. В конце телофазы делится цитоплазма (*цитокинез*) и образуются две дочерние клетки с гаплоидным набором хромосом.

Отличительной особенностью первой стадии мейоза является то, что в период анафазы сами хромосомы не делятся на хроматиды, как при митозе, а лишь расходятся гомологичные пары хромосом к разным полюсам клетки и формируются две дочерние клетки с редуцированным наполовину набором хромосом, состоящим из двух хроматид.

Между первой и второй стадиями мейоза имеется непродолжительный период покоя – *интеркинез*, во время которого не происходит репродукция хромосом.

Эквационное, или уравнительное, деление аналогично митозу, где клетки последовательно проходят четыре фазы: профазу II, метафазу II, анафазу II, телофазу II. На стадии **анафазы II** хромосомы разделяются на две хроматиды, которые затем с помощью нитей веретена расходятся к противоположным полюсам. На стадии **телофазы II** заканчивается формирование ещё двух клеток. В результате после двух последовательных стадий мейоза из каждой клетки образуются четыре новые с гаплоидным набором хромосом.

Таким образом, в результате двух мейотических делений из одной клетки с диплоидным набором хромосом образуются четыре клетки с гаплоидным набором хромосом и в 2 раза меньшим, чем в соматических клетках, содержанием ДНК. Вероятностный характер распределения материнских и отцовских гомологичных хромосом в разные клетки позволяет создать новые комбинации негомологичных хромосом в яйцеклетках и спермиях, чем достигается огромное число новых сочетаний наследственной информации.

Новые сочетания генетической информации возникают вследствие кроссинговера. Каждая из хромосом в метафазе I содержит участки, происходящие от отцовских и материнских хромосом. Рекомбинации хромосом при кроссинговере и вероятностное распределение их по клеткам – причины наследственной изменчивости организма. Мейоз, оплодотворение и митоз обеспечивают поддержание постоянства числа хромосом в смежных поколениях видов. В этом их биологическое значение.

Процесс образования половых клеток называют *гаметогенезом*. В течение гаметогенеза зародышевые клетки проходят три фазы: размножение, рост, созревание. В фазах размножения и роста клетки делятся митозом, в фазе созревания – мейозом. При сперматогенезе из каждого сперматоцита I порядка образуются четыре сперматиды с гаплоидным набором хромосом. Процесс образования спермиев начинается с наступлением половой зрелости. Образование яйцеклеток начинается еще до рождения женской особи и завершается для каждой яйцеклетки только после оплодотворения. При рождении каждая особь имеет в яичнике до 2 млн ооцитов I порядка. Перед овуляцией ооцит I порядка проходит деление мейоза. II деление мейоза стимулируется мужской гаметой, которая попадает в ооцит II порядка. Из одного ооцита I порядка образуются: одна яйцеклетка и три направительных тельца. Направительные тельца в последующем рассасываются (рис. 1.9).

Каждый вид животных имеет характерный для него кариотип. *Кариотип* – совокупность количественных и структурных особенностей диплоидного набора хромосом. Для него характерно определенное число хромосом, их размер и форма. Разные виды животных и растений имеют разное число хромосом.

Для каждого вида животных характерна определенная индивидуальность, которая проявляется в размерах хромосом, форме, расположении вторичной перетяжки и спутников. Размеры метафазных хромосом варьируют в довольно широких пределах: длина изменяется от 0,2 до 50 мкм, диаметр – от 0,2 до 3 мкм. Абсолютная и относительная длина хромосомы является критерием для распознавания отдельных хромосом.

В индивидуальность хромосом включается форма, которая определяется расположением центромеры или первичной перетяжки. Центромера выполняет очень важные функции – она

соединяет две сестринские хроматиды в процессе мейоза и велика ее роль в организации веретена дробления.

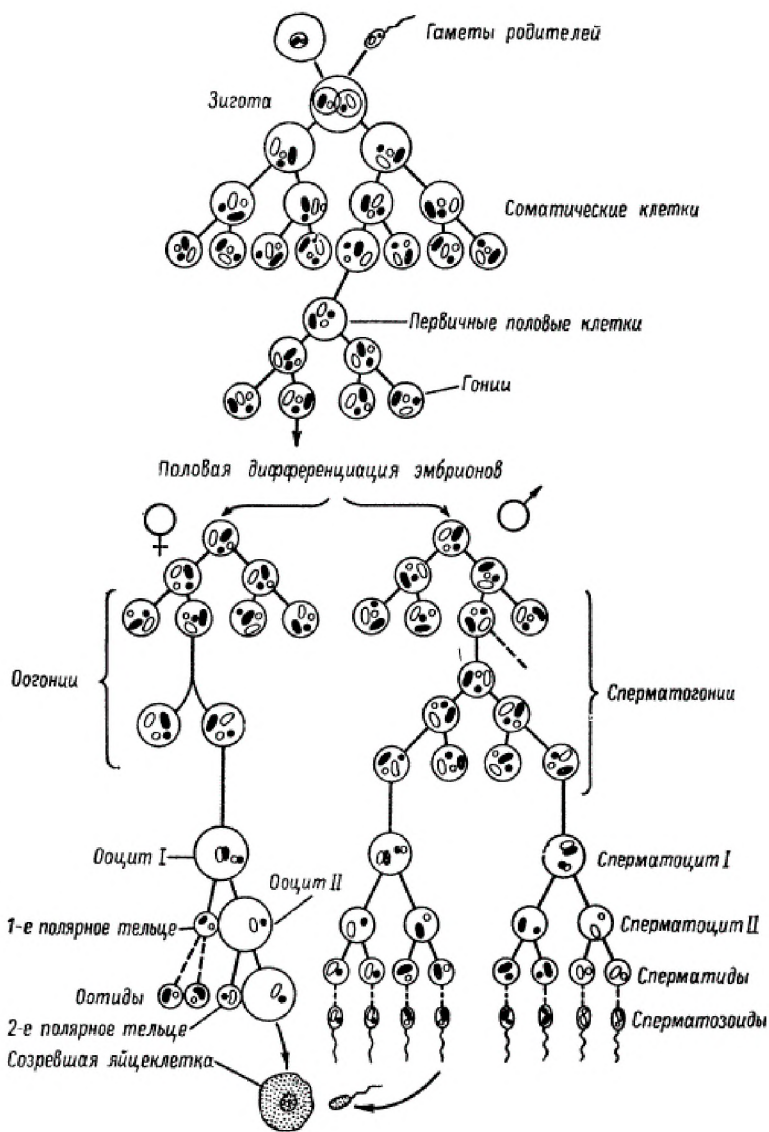


Рис. 1.9. Схема гаметогенеза

С учетом расположения центромеры выделяют три типа хромосом: *метацентрические* – имеют два равных плеча, *субметацентрические* – центромера сдвинута к одному из концов хромосомы, поэтому плечи неравные, и *acroцентрические* – у них хорошо заметно только одно плечо (центромера находится на конце хромосомы или очень близко от него). *Теломера* – это свободный концевой участок каждого плеча, благодаря которой концевые участки не могут соединиться с другими хромосомами и их фрагментами.

Графически кариотип можно изобразить в виде *идиограмм*, на которых хромосомы располагаются в ряд по мере убывания их длины, положению центромеры, вторичной перетяжки и наличию спутников. Для построения идиограммы следует иметь микрофотографии определенных объектов, изображение каждой хромосомы вырезают, наклеивают на бумагу и измеряют.

С учетом размера и формы каждая хромосома имеет свою нумерацию. Хромосома состоит из одной тонкой нити, многократно сложенной – хромонемы. На стадии профазы и метафазы митоза на хромонеме можно видеть плотные образования – хромомеры. Кроме обычных хромосом, в некоторых клетках обнаружены гигантские политенные хромосомы. У дрозофилы политенная хромосома в 250 раз длиннее обычной соматической хромосомы. Кроме политенных хромосом имеется другая группа крупных хромосом – хромосомы типа ламповых щеток. Они имеют центральную ось и боковые выросты. В боковых выростах могут быть деспирализация и образования и-РНК.

По химическому составу хромосома представляет из себя нуклеопротеид, состоящий из дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и белка. Из белков в хромосоме представлены гистоны и негистонные белки. Аминокислотный состав гистонов прежде всего включает аргинин и лизин, но всегда в них отсутствует триптофан. В клетках присутствует пять типов гистонов: H_1 ; H_2A ; H_2B ; H_3 ; H_4 . Четыре последних класса гистонов образуют нуклеосому. Сердцевину нуклеосомы обвивает нить молекулы ДНК, она накручивается на поверхность белковых частиц. Происходит первый этап упаковки ДНК. В следующий этап упаковки нуклеосомная структура хроматина вовлекается с помощью гистона H_1 . Более высокие уровни компактизации ДНК в хроматине связаны с

негистонными белками. Кроме белка и ДНК в состав хромосомы входят железо, кальций и магний.

Для идентификации хромосом необходимы следующие показатели:

1) абсолютная длина хромосомы L^a , мкм;

2) относительная длина хромосомы, L^r , %,

$$L^r = \frac{\text{Длина данной хромосомы}}{\text{Длина всех хромосом}},$$

3) центромерный индекс I^c , %,

$$I^c = \frac{\text{Длина короткого плеча хромосомы}}{\text{Длина всей хромосомы}} \times 100;$$

4) число плеч хромосом или основное число MF , включающее число всех аутосом и двух X-хромосом.

Наиболее удобным объектом для изучения хромосом человека и животных служат культуры размножающихся клеток костного мозга, периферической крови и кожи. Из этих клеток готовят временные или постоянные препараты.

Дальнейшее изучение хромосом, их подсчет проводят на микрофотографиях.

Контрольные вопросы

1. Что такое клеточный цикл?
2. Что такое кариотип и идиограмма хромосом?
3. Что такое биваленты, хиазмы?
4. В чем основное различие между оогенезом и сперматогенезом?
5. Какие основные органоиды клетки вы знаете?
6. Какие органоиды клетки играют решающую роль в осуществлении наследственности?
7. Сколько типов гистонов имеется в клетке?

2. Закономерности наследования признаков при половом размножении

Закономерности наследования признаков впервые установил Грегор Иоганн Мендель (1822-1884) и результаты его работ были опубликованы в 1865 г. в 1900 г. три ботаника: Гуго де Фриз (Голландия), Э. Чермак (Австрия), К. Корренс (Германия) также пришли к закономерностям, им установленным. Мендель разработал свой гибридологический метод исследования, названный впоследствии законом Менделя, который позволил ему установить четкие закономерности в наследовании признаков.

Сущность гибридологического метода заключается в следующем:

1) для скрещивания выбирают родительские формы, четко различающиеся по одной, двум, или трем парам контрастных, альтернативных признаков;

2) выбранные для скрещивания родительские формы должны быть генетически чистыми. Мендель ввел точный математический учет наследования каждого отдельного признака, наблюдению подвергают все растения в каждом отдельном поколении;

3) гибриды и их потомки в каждом поколении не должны иметь заметных нарушений в плодовитости;

4) Мендель ввел буквенное обозначение наследственных задатков (генов) различных признаков. Например, А-ген доминантного признака, а-ген рецессивного признака.

На основании опытов Мендель установил три закона: единообразия гибридов первого поколения, расщепления и независимого наследования признаков.

Размножение высших животных происходит исключительно половым путем. Преимущество полового размножения состоит в том, что в результате объединения гамет наследственность потомка обогащается сразу по ряду генов, так как действие генов матери сочетается с действием генов отца. Это позволяет вести отбор с наилучшими в данной среде существования генными комбинациями и более широко распространять их. Грегор Мендель раскрыл суть явления наследственности и заложил прочную основу для всех последующих исследований в этой области.

Первый закон Менделя (закон единообразия гибридов первого поколения, или правило доминирования): при скрещивании гомозиготных родительских форм (чистых линий) с альтернативными признаками в первом поколении потомства (F_1) все особи однотипны (единообразны) по генотипу и фенотипу. Признак, который проявлялся в F_1 , был назван доминантным, а признак второй родительской формы, который подавлялся – рецессивным.

Второй закон Менделя (закон расщепления): при скрещивании (самоопылении) потомков F_1 (гибридов) в поколении F_2 наблюдалось расщепление потомства по анализируемому признаку (фенотипу) в отношении 3:1 при полном доминировании и 1:2:1 при неполном.

Третий закон Менделя (закон независимого наследования признаков или независимого комбинирования генов) читается следующим образом: при скрещивании особей, отличающихся друг от друга по двум и более парам альтернативных признаков, гены и соответствующие им признаки наследуются независимо друг от друга и комбинируются во всех возможных сочетаниях.

Опыты Менделя послужили основой для развития современной генетики. Ему удалось выявить закономерности наследования, благодаря принципиально новым методическим подходам, которым и сегодня следуют все генетики:

1. Скрещиваемые организмы должны принадлежать к одному виду.

2. Скрещиваемые организмы должны четко различаться по одной, двум и более парам альтернативных, контрастных признаков.

3. Изучаемые признаки должны быть константны, т.е. воспроизводиться из поколения в поколение при скрещивании в пределах родственной формы.

4. Должен применяться индивидуальный анализ потомства от каждого гибридного организма.

5. Необходимо использовать количественный учет гибридных организмов, различающихся по отдельным парам альтернативных признаков, в ряду последовательных поколений.

Перечисленные приемы исследования составили принципиально новый гибридологический метод, открывший целую эпоху в изучении наследственности и изменчивости.

Мендель провел опыт по скрещиванию гибридов первого поколения с растениями гороха исходных родительских сортов.

Скрещивание гибридов первого поколения (Aa) с особями, сходными по генотипу с родительскими формами (AA или aa), называется *возвратным*.

При скрещивании растений F_1 (Aa) с формой, гомозиготной по доминантному признаку (AA), всё потомство по фенотипу получилось однотипным. В этом случае все гаметы родительской формы несли доминантный ген A , у гибридов же образовались гаметы с генами A и a . В результате в потомстве наблюдалось расщепление по генотипу в отношении $2Aa:2AA$, или $1:1$, в то время как по фенотипу при полном доминировании все потомки были с доминантным признаком.

При скрещивании гибридов F_1 (Aa) с родительской формой с рецессивным признаком (aa) у гибрида образовалось также два сорта гамет с генами A и a , у родительской формы – один сорт гамет с геном a . В потомстве получилось 50% форм с доминантным признаком (Aa) и 50% с рецессивным (aa). Наблюдалось расщепление по фенотипу и генотипу $1:1$. Такое скрещивание получило название *анализирующего*. Анализирующее скрещивание широко применяется при гибридологическом анализе, когда нужно установить генотип интересующей нас особи. На основании опытов по анализирующему скрещиванию и скрещиванию гибридов первого поколения Мендель пришел к выводу о том, что рецессивные наследственные задатки в гетерозиготном организме остаются неизменными и вновь проявляются при встрече с такими же наследственными задатками. Позднее на основании этих наблюдений У. Бетсон сформулировал правило чистоты гамет. Сущность правила чистоты гамет состоит в том, что у *гетерозиготной особи наследственные задатки не смешиваются друг с другом, а передаются в половые клетки в «чистом» (неизменном) виде.*

Вскоре после переоткрытия законов Менделя на животных и растениях разных видов было установлено, что не все признаки проявляют полное доминирование. Были выявлены случаи промежуточного наследования, неполного доминирования, сверхдоминирования и кодоминирования. При *промежуточном наследовании* потомство в первом поколении сохраняет единообразие, но оно не похоже полностью ни на одного из родителей, как это было при полном доминировании, а обладает признаком промежуточного характера. Иногда признак принимает не среднее выражение, а уклоняется в сторону родителя с доминирующим признаком, тогда

говорят о *неполном доминировании*. При *сверхдоминировании* у гибридов первого поколения проявляется *гетерозис* – явление превосходства потомства над родительскими формами по жизнеспособности, энергии роста, плодовитости и продуктивности. Сверхдоминированием в определенной мере объясняется эффект гетерозиса, наблюдаемый при получении в птицеводстве трех- и четырехлинейных гибридов.

При *кодоминировании* у гибридной особи в равной мере проявляются оба родительских признака. По типу кодоминирования наследуется большинство антигенных факторов довольно многочисленных систем групп крови у домашних животных разных видов животных и человека. Так же наследуются разные типы белков и ферментов: гемоглобин, амилаза и т. д.

Иногда на формирование признака влияют две или несколько пар неаллельных генов. Проявление признака в этом случае зависит от характера их взаимодействия в процессе развития организма. В первом поколении появляется новый признак, которого не было у исходных родительских форм, и соотношение фенотипов во втором поколении будет иным.

Новообразование – это такой тип взаимодействия генов, когда при их сочетании в одном организме развивается совершенно новая форма признака. Данный тип взаимодействия генов имеет большое значение для селекции и эволюции, так как обеспечивает появление новых признаков.

Эпистаз – это такое взаимодействие генов, при котором одна пара неаллельных генов подавляет проявление другой. Чаще гены-подаватели называются эпистатическими, ингибиторами, супрессорами, подавляемые гены – гипостатическими. Эпистатические гены обозначают буквой I, хотя можно вводить любую букву, принятую для данного вида. Гены супрессоры не отвечают за развитие признака, они могут изменять основной признак. Различают *доминантный эпистаз*, когда действие одного доминантного гена подавляется другим доминантным геном ($A>B$), и *рецессивный эпистаз*, когда рецессивные гены в гомозиготном состоянии оказывают подавляющее действие на доминантный ген или рецессивные гены из другой пары аллелей ($aa>B$, $aa>bb$).

При *полимерии*, или полимерном (полигенном) наследовании, на один и тот же признак влияют несколько разных, но сходно действующих неаллельных генов. Каждый из них усиливает

развитие признака. Такие однозначно действующие гены называются *аддитивным*. Полимерный тип взаимодействия генов имеет большое значение для понимания наследования количественных признаков (удой за лактацию, живая масса, настриг шерсти и т.д.). Эти признаки не обладают фенотипической дискретностью, и их невозможно распределить по четким фенотипическим классам. Их оценивают с помощью количественных методов учета. В некоторых случаях полигенно наследуется резистентность к неблагоприятным условиям внешней среды. Все эти признаки формируются под влиянием многих генов, каждый из которых усиливает развитие признака.

Контрольные вопросы

1. В чем состоят особенности гибридологического метода Менделя?
2. Что означают термины «доминантность», «рецессивность», «гетерозиготность»?
3. В чём состоит правило чистоты гамет?
4. С какой целью проводят анализирующее скрещивание?
5. Что такое аддитивная полимерия?
6. В чем заключается различие между доминированием и эпистазом?
7. Какое расщепление по фенотипу наблюдается при разных типах взаимодействия генов?

3. Структурная организация хромосом

Ядро – основной компонент клетки, несущий генетическую информацию. Оно может находиться в двух состояниях: покоя – интерфазы и деления – митоза или мейоза. Интерфазное ядро представляет собой круглое образование с многочисленными глыбками белкового вещества, названного *хроматином*. Выделяют два типа хроматина: *гетерохроматин* и *эухроматин*. Гетерохроматин можно наблюдать в интерфазном ядре под световым микроскопом, эухроматин – только под электронным. Гетерохроматин и эухроматин выполняют разные функции в генетическом контроле биосинтеза белков. Детальное изучение ядра под электронным микроскопом показало, что хроматин состоит из очень тонких нитей, получивших название *хромосом*. Именно в них заложена основная часть генетической информации индивидуума.

Термин «*хромосома*» был предложен в 1888 г. немецким морфологом В. Вальдейером, который применил его для обозначения внутриядерных структур эукариотической клетки, хорошо окрашивающихся основными красителями (от греч. *хрома* – цвет, краска и *сома* – тело). Хромосомы представляют собой нитевидные нуклеопротеидные структуры, способные к саморепродукции и сохранению своих морфологических особенностей на протяжении ряда поколений. Они удваиваются в результате идентичной репродукции перед каждым клеточным делением, а затем распределяются поровну между дочерними клетками. Хромосомы состоят из хроматина, который содержит ДНК (40%), гистоны (40%), негистоновые хромосомные белки (20%) и небольшое количество РНК.

Гистоны – это хромосомные основные белки с высоким содержанием аминокислот аргинина и лизина. Существует пять видов гистонов: H_1 (очень богатый лизином), H_{2A} и H_{2B} (богатые лизином), H_3 (богатый аргинином) и H_4 (богатый глицином и аргинином). Гистоны прочно соединяются с молекулами ДНК, чем препятствуют считыванию заключенной в ней биологической информации. В этом состоит их регуляторная роль. Также эти белки выполняют структурную функцию, обеспечивая пространственную организацию ДНК в хромосомах.

Негистоновые хромосомные белки – не основные, главным образом, кислотные белки. Число их фракций превышает 100. Среди них ферменты синтеза и процессинга РНК, редупликации и репарации ДНК. Гистон и ДНК объединены в структуру, которая называется *хроматиновой нитью*, которая представляет собой двойную спираль ДНК, окружающую гистоновый стержень. Она построена из повторяющихся единиц (нуклеосом), в каждую из которых входят примерно 200 пар оснований ДНК и по две молекулы каждого из гистонов. Эти гистоновые молекулы образуют сферическую единицу. Хроматиновая нить обычно образует спираль диаметром около 25 мкм, что находится на грани разрешающей способности самых мощных световых микроскопов. По способности окрашиваться ядерными красителями хроматиновые нити подразделяют на две группы: эухроматин и гетерохроматин.

Структурная организация хромосом наиболее четко выражена в стадии метафазы. В этот период хромосома состоит из двух нитей – *хроматид*, интенсивно окрашивающихся основными красителями. В определении формы хромосом большое значение имеет положение ее обязательного структурного элемента – первичной перетяжки, в районе которой расположена *центромера*. Центромера делит хромосому на две части равной или различной длины. В зависимости от ее положения различают следующие типы хромосом:

- *метацентрические* (метацентрики) – имеют плечи равной или почти равной длины;

- *субметацентрические* (субметацентрики) – различаются длиной плеч;

- *acroцентрические* (acroцентрики) – имеют одно длинное и другое очень короткое плечо. Если короткое плечо представлено очень малым участком, то такую хромосому иногда называют телоцентрической (*телоцентрик*).

Строение хромосомы (рис. 3.1, 3.2):

1) плечи хромосомы;

2) первичная перетяжка – центромера, которая представляет собой утонченный неспирализованный участок хромосомы, делящий хромосому на 2 части (плечи хромосомы);

3) кинетохор, расположенный в области центромеры – сократительные (фибриллярные) нити, регулирующие движение хромосом

во время деления клетки. К кинетохору присоединяются нити веретена деления, которые разводят хромосомы к полюсам клетки;

4) у некоторых хромосом встречается вторичная перетяжка (ядрышковый организатор хромосом) – участок хромосомы, который отвечает за синтез ядрышек и состоит из РНК и белка.

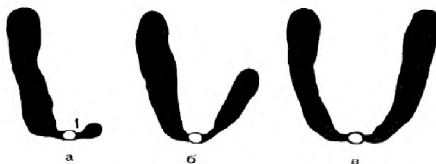


Рис. 3.1. Форма хромосом:

а – одноплечая (акроцентрическая); б – неравноплечая (субметацентрическая); в – равноплечая (метацентрическая)

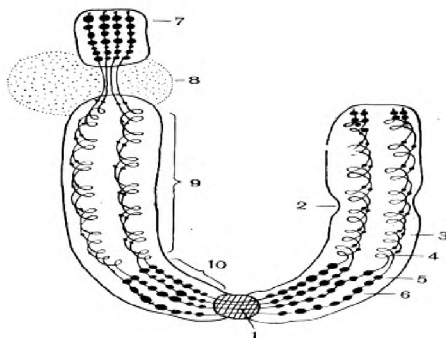


Рис. 3.2. Структура хромосомы:

1 – центромера (первичная перетяжка); 2 – вторичная перетяжка;
3 – хромонема; 4 – полухроматиды; 5 – хромомера; 6 – матрикс; 7 – спутник;
8 – вторичная перетяжка (участок хромосомы, отвечающий за синтез ядрышек); 9 – эухроматиновый участок; 10 – гетерохроматиновый участок;
11 – кинетохор

На хромосомах могут быть вторичные и третичные перетяжки, которые отделяют на концах хромосомы сегменты, называемые *спутниками*. Такие хромосомы называют спутничными. При описании хромосом короткое плечо обозначают буквой *p*, а длинное буквой *q*. Объективным критерием для отнесения хромосом к той или иной группе служит *центромерный индекс* – отношение длины короткого плеча к длине хромосомы в процентах.

К акроцентрическим хромосомам принято относить хромосомы с центромерным индексом менее 12,5%, к субметацентрическим – в интервале от 12,6 до 37%, к метацентрическим – от 37,1 до 50%.

Для идентификации индивидуальных хромосом используют различные методы их дифференциальной окраски. При описании дифференциальной окраски хромосом принято делить плечи на зоны (блоки) и полосы. Деление на зоны основано на наличии в плече регулярно воспроизводимых при дифференциальной окраске структур, не зависящих от степени спирализации. Границу зон проводят в районе крупных положительно или негативно окрашенных полос. При этом границы проводят так, чтобы зоны не слишком различались по размерам. Для идентификации полос нумеруют сначала зоны, начиная от центромеры, затем нумеруют полосы в зоне от проксимального к дистальному концу. С помощью данной системы можно указать наличие хромосомной перестройки или место локализации определенного гена на хромосомной карте. Например, запись гена церуллоплазмينا у свиней имеет вид 13q32 – 13q33. Это означает, что данный ген локализован на длинном плече хромосомы 13 в районе 2-3-й полосы 3-го блока.

Приготовление препаратов хромосом. Препараты хромосом могут быть приготовлены из любой живой ткани, клетки которой активно делятся или деление их может быть стимулировано. В большинстве случаев для этих целей используются клетки костного мозга, селезенки, периферической крови, фибробластов или семенников. В зависимости от степени пролиферативной активности клеток разных тканей *in vivo* и *in vitro* различают прямые и непрямые методы получения препаратов хромосом.

Прямые методы используются при исследовании тканей, обладающих высокой митотической активностью (костный мозг, хорин и плацента, клетки лимфатических узлов, ткани эмбриона на ранней стадии развития). Препараты хромосом готовятся непосредственно из свежеполученного материала после специальной обработки.

Непрямые методы связаны с предварительным культивированием выделенных из организма клеток в питательной среде *in vitro*.

Существует множество модификаций прямого и непрямого

методов приготовления хромосомных препаратов, однако основные этапы получения метафазных пластинок остаются неизменными:

1. Использование колхицина (колцемида) – ингибитора образования митотического веретена, который останавливает деление клетки на стадии метафазы.

2. Гипотонический шок с использованием растворов солей калия или натрия, которые вследствие разницы осмотического давления внутри и снаружи клеток вызывают их набухание и разрыв межхромосомных связей. Такая процедура приводит к отделению хромосом друг от друга, способствуя более сильному их разбросу в метафазных пластинках.

3. Фиксация клеток с использованием этанола (метанола) и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3:1 (фиксатор Карнуа), что способствует сохранению структуры хромосом.

4. Раскапывание суспензии клеток на предметные стекла.

5. Окрашивание хромосомных препаратов.

Костный мозг. В тех случаях, когда имеют дело с грызунами или с хищниками, предназначенными на забой, для приготовления препаратов хромосом используются клетки костного мозга. Животному за 1-1,5 ч до забоя внутрибрюшинно вводится 0,04% раствор колхицина из расчета 1 мл на 100 г массы. Количество колхицина может быть и меньшим. После забоя у мелких животных вырезаются трубчатые кости конечностей, чаще всего задних, отрезаются эпифизы и костный мозг вымывается с помощью шприца гипотоническим раствором в центрифужную пробирку. Объем гипотонического раствора должен примерно в 10 раз превышать объем вымытого костного мозга. Вымытый костный мозг тщательно суспендируется с помощью пастеровской пипетки и подвергается гипотонической обработке. Как правило, для гипотонии используется раствор KCl (560 мг на 100 мл дистиллированной воды). Пробирки с клеточной суспензией помещают в водяную баню или стакан с теплой водой (37-39°C), при этой температуре клетки гипотонируются 5-7 мин. В некоторых случаях используется более мягкая гипотоническая обработка клеток раствором трехзамещенного цитрата натрия (900 мг на 100 мл воды). Время гипотонии в этом случае 15-18 мин также при 37-39°C. После гипотонической обработки суспензия клеток центрифугируется в течение 5 мин при 1000 об. мин, надосадочная жидкость осторожно

сливается и осадок фиксируется в смеси метанол – ледяная уксусная кислота (3:1). Два, три раза необходимо сменить фиксатор с промежуточными ресуспендированием и центрифугированием клеток. Общее время фиксации клеток должно быть не менее 40 мин. Фиксатор (фиксатор Карнуа) должен быть свежим, храниться в холодильнике. Зафиксированные клетки можно достаточно долго держать на холоде. Качество препаратов от этого не страдает, а иногда и улучшается. Однако долгое хранение клеток в фиксаторе может потребовать изменения режима предобработок препаратов при дифференциальном окрашивании.

Зафиксированные клетки тщательно ресуспендируются в фиксаторе и несколько капель суспензии наносится с помощью пастеровской пипетки на холодное и мокрое предметное стекло. Затем стекло быстро проносится через пламя спиртовки для выжигания фиксатора. Выжигание должно быть полным, но долгое пребывание стекла в пламени плохо отражается на качестве препарата и способности хромосом к окрашиванию. После сгорания фиксатора стекло высушивается в струе теплого воздуха. Данная процедура значительно улучшает качество препаратов и способствует хорошему дифференциальному окрашиванию хромосом.

Обычно сначала суспензия фиксированных клеток наносится на одно предметное стекло и анализируется под микроскопом. Если густота клеток и разброс хромосом оказываются удовлетворительными, то готовится максимально возможное число препаратов. Готовые препараты лучше всего хранить в специальных коробках с целью предохранения их от пыли.

Селезенка. Селезенка колхицинированного животного помещается в чашку Петри с гипотоническим раствором, тщательно измельчается ножницами или клетки выщелушиваются пинцетом. Затем взвесь клеток без крупных кусочков переносится в центрифужную пробирку, и клетки подвергаются гипотонической обработке и фиксации – как было описано для костного мозга.

Для окрашивания хромосом используют два вида окраски: рутинную и дифференциальную.

Рутинная окраска применяется для установления числа хромосом и описания их морфологии. Чаще всего хромосомы окрашивают азур-эозином (основной ядерный краситель) без какой-либо предварительной обработки. При таком методе окрашивания хромосомы прокрашиваются сплошь по длине, что не позволяет

идентифицировать разные морфологически сходные хромосомы. Данный метод окрашивания не применяется для диагностики конституциональных хромосомных нарушений.

При кариотипировании помимо перечисленных характеристик важен ещё один показатель – *относительная длина хромосом*, то есть отношение длины хромосомы к длине гаплоидного набора, включающего X-хромосому. Он необходим для построения кариограммы и идиограммы. *Кариограмма* – фотографии хромосом индивидуума, систематизированные по группам в зависимости от морфологического строения.

Построение кариограммы принято начинать с метацентрических или субметацентрических аутосом, располагая хромосомы в порядке убывания относительна размера. При этом хромосомы сходной морфологии объединяют в группы. Порядок расположения хромосом в группах тот же – от большего к меньшему. Чередование групп зависит от центромерного индекса. В последнюю группу всегда входят хромосомы с минимальным центромерным индексом. Если в кариотипе есть акроцентрические хромосомы, кроме половых, то последнюю пару образуют самые мелкие из них. Половые хромосомы выделяют в отдельную группу. При отсутствии в кариотипе двуплечих хромосом построение кариограммы начинают с самой крупной аутосомы. Нумерацию хромосом начинают с первой пары и заканчивают последней, без учета деления на группы.

Идиограмма – графическое изображение хромосом с учетом их морфологических деталей: длины, расположения центромеры, вторичных перетяжек и при дифференциальной окраске – расположения положительно и негативно окрашенных полос. Может быть построена по обобщенным данным или для конкретного кариотипа. Число хромосом в ядрах клеток особей одного вида постоянно и представляет собой один из его признаков.

Контрольные вопросы

1. Какие типы хроматина вы знаете?
2. Что такое хромосома?
3. Что можно определить по центромерному индексу?
4. Для чего нужна дифференциальная окраска хромосом?
5. Как подсчитать относительную длину хромосом?
6. Назовите основные этапы получения метафазных пластинок.
7. Какие методы используют для получения препаратов хромосом?

4. Функциональное преобразование хромосом

Одно из основных свойств кариотипа, ДНК и ее участков (генов) – сохранение постоянства внешнего и внутреннего строения. Функциональная устойчивость генетического материала обеспечивает передачу всей совокупности наследственных признаков каждой особи последующим поколениям и является основой для сохранения видовых признаков на протяжении многих сотен лет. Такая стабильность относительна, так как в силу действия внутренних и внешних факторов в генетическом материале возникают функциональные изменения, определяющие мутационную изменчивость.

Функциональные преобразования хромосом связаны с изменением формы, размеров хромосом, порядка расположения генов (изменения групп сцепления), утратой или добавкой отдельных фрагментов. Функциональные изменения структуры одной или нескольких хромосом называют хромосомными мутациями. Установлено несколько типов функциональных преобразований хромосом.

Транслокации – перемещения отдельных фрагментов хромосом из одного участка в другой, обмены фрагментами между разными хромосомами, слияния хромосом. При взаимных обменах фрагментами между гомологичными или негомологичными хромосомами возникают транслокации, называемые *реципрокными*. Если целое плечо одной хромосомы присоединяется к концам другой хромосомы, такой тип преобразований называют *тандемным*. Слияние двух акроцентрических хромосом в области центромер формирует транслокацию *робертсоновского типа* и образование мета- и субметацентрических хромосом. При этом обнаруживается элиминация блоков прицентромерного гетерохроматина.

Инверсии – внутривидовые aberrации, при которых фрагменты хромосом разворачиваются на 180° . Различают пери- и парацентрические инверсии. Если перевернутый фрагмент содержит центромеру, инверсия называется *прицентромерной*. *Делеции* – потеря срединного фрагмента хромосомы, в результате чего она укорачивается. *Нехватки* – потеря концевой фрагмента хромосомы. *Дупликация* – удвоение фрагмента одной хромосомы (интрахромосомные дупликации) или разных хромосом

(интерхромосомные дупликации). *Кольцевые хромосомы* формируются при наличии двух концевых разрывов (нехваток).

Изохромосомы возникают, если в противоположность нормальному делению хроматид в длину происходит горизонтальное (поперечное) деление хромосомы в центромере с последующим слиянием гомологичных плеч в новую хромосому – *изохромосому*. Ее проксимальные и дистальные участки идентичны по строению и составу генов. В зависимости от того, сколько хроматид изменено (одна или две), структурные аномалии подразделяются на *хромосомные* и *хроматидные*.

Мозаицизм и *миксоплодия*, а также *химеризм* также относятся к функциональным преобразованиям хромосом. Мозаицизм – присутствие в организме клеток (точнее, клонов) разного генотипа, что приводит к возникновению в процессе соматического развития клеточных популяций с отличающимся генотипом. Частным случаем мозаицизма является гинандроморфизм и мозаицизм по группам крови, белкам. Миксоплодия, *полисоматия* – форма клеточного мозаицизма – наличие у одной особи клеток с различным уровнем пloidности (три-, тетра-, пента-, гексаплоидные и т.д.). Миксоплоидные клетки возникают в результате нарушения митоза во время раннего дробления при делении зиготы (нерасхождение хромосом). Химеризм возникает в результате обмена клетками крови между плодами при двух- (или более) плодной беременности, в случае слияния бластоцист или зигот. В частности, диплоидно-триплоидные химеры могут формироваться при слиянии второго полярного тела с одним из бластомеров на первой стадии дробления.

Несмотря на близость мозаицизма и химеризма, следует различать эти понятия. Мозаицизм предполагает наличие клеток в организме с различным набором хромосом при условии, что все они ведут начало от одной зиготы. При химеризме клоны клеток с различными наборами хромосом происходят от двух или более зигот. Мозаицизм возникает в результате нарушения митоза во время раннего дробления при делении зиготы.

Химеризм по половым хромосомам у крупного рогатого скота встречается с частотой в среднем около 2,2%. Эта аномалия возникает в результате обмена стволовыми клетками через анастомозы хориона при многоплодной беременности (постзиготный химеризм) или путем слияния бластоцистов – полиандрия или

полигиния (зиготный химеризм). В обоих случаях наблюдается появление у фенотипических самцов определенного числа клеток с женскими XX , а у самок – с мужскими половыми хромосомами XY , частота которых может изменяться от 0 до 100% и остается константной в постнатальном онтогенезе.

В некоторых случаях химеризм выявляется только у одного родившегося животного, что можно объяснить гибелью второго плода на ранних стадиях эмбрионального развития. Телки-фримартины почти всегда бесплодны. Имеется лишь несколько публикаций, в которых сообщается о фертильных животных. В отношении воспроизводительных функций быков с химеризмом мнения разноречивы. По данным одних авторов, у быков с XX/XY -химеризмом наблюдается ухудшение качества семени, понижение плодовитости или даже стерильность; по другим – не установлено негативного влияния химеризма по половым хромосомам на воспроизводительные функции производителей.

Химеризм по половым хромосомам у гетеросексуальных двоен возникает не всегда. Известны случаи появления телок из разнополых двоен с кариотипом $60,XX$.

У крупного рогатого скота аномалии в системе половых хромосом, в отличие от аномалий аутосом, имеют более широкое распространение, приводят в основном к нарушениям плодовитости животных и не являются летальными.

Мутации, затрагивающие изменения целых геномов как в сторону их увеличения, так и уменьшения, у крупного рогатого скота не описаны. Очевидно, гаплоидия и полиплоидия несовместимы с постнатальным развитием.

Известно, что полиплоидия может возникать в результате нарушения в мейозе или во время оплодотворения. У животных обнаруживают диплоидные гаметы, которые сформировались в результате нерасхождения хромосом в мейозе. Такие случаи полиплоидии связаны с нарушением образования веретена или тянущихся нитей в анафазе. Полиплоидия может также являться следствием оплодотворения одной яйцеклетки с гаплоидным набором хромосом двумя или более сперматозоидами. В некоторых случаях полиплоиды возникают при задержке первого дробления зиготы. Факторы, способствующие образованию полиплоидии – старение гамет при задержке овуляции, длительное хранение спермы и задержка оплодотворения самок. Слияние клеток может

индуцироваться вирусами. На разрыв нитей веретена деления могут оказывать влияние лекарственные препараты.

Полная гаплоидия и полиплоидия встречаются у эмбрионов крупного рогатого скота только на самых ранних стадиях пренатального развития (от 2 до 32 клеток). В мозаичной форме полиплоидные клетки $3n$ и $4n$ обнаружены у нескольких животных. Мозаики типа $2n/3n$ у крупного рогатого скота ассоциируются с интерсексуальностью у животных.

Наиболее часто встречающимися числовыми нарушениями хромосом у крупного рогатого скота являются трисомии гоносом и аутосом, большая часть из которых вызывает нарушение плодовитости, приводит к гибели эмбрионов и плодов или рождению особей с множественными пороками развития.

Структурно-функциональные изменения в кариотипе (абберации) возникают как результат спонтанной или индуцированной ломки, разрывов и последующих воссоединений хромосом новым способом. Если разрывы затрагивают обе хроматиды, абберации называют хромосомными, если только одну – хроматидными. Если в результате таких изменений нет потери или потери прибавления генетического материала, абберации считаются сбалансированными. К ним относятся в основном транслокации, инверсии. Несбалансированные абберации представлены главным образом делециями, дупликациями, изохромосомами и кольцевыми хромосомами. После разрывов хромосом или хроматид оторвавшиеся фрагменты обычно утрачивают. Это приводит к потере части генов (делеции и нехватки) или дополнению хромосом фрагментами (дупликация), что связано с появлением избыточного генетического материала в клетках.

Следствием делеций и нехваток может быть отсутствие генетического контроля для самых разных признаков организма. Рecessивные гены, содержащиеся в тех же локусах нормальной гомологичной хромосомы, проявляют свой эффект в одинарной дозе. Установлено, что животные, гетерозиготные по сбалансированным транслокациям, могут производить генетически несбалансированные зиготы, отмирающие на ранних стадиях эмбриогенеза.

В связи с широким распространением центрических слияний (транслокаций Робертсона) у животных стали активно изучать механизмы их образования. Считают, что робертсоновские транслокации представляют собой частный вариант теломерного слияния,

вовлекающего теломерные концы двух различных телоцентрических (acroцентрических) хромосом, у которых вследствие задержки репликации ДНК в области палиндрома либо точковых мутаций в этой области рестрикционные эндонуклеазы утрачивают способность узнавать место рестрикции, что ведет к сохранению прочного соединения между хромосомами. При этом возникает метацентрическая или субметацентрическая хромосома, несущая две центромеры, которые либо функционируют как одно целое, либо одна центромера инактивируется.

Реципрокные транслокации у родителей – одна из основных причин возникновения трисомий и моносомий у эмбрионов. Частичные трисомии могут быть связаны как с транслокациями и инверсиями у родителей, так и с новыми мутациями – спорадические транслокации, дупликации и т.д. Необходимо отметить, что в данном случае терминами «частичные трисомии» и «моносомии» обозначаются потери части хромосом, т.е. делеции и нехватки. При транслокациях число плеч хромосом в клетках остается таким же, однако в измененных хромосомах образуются новые группы сцепления между генами, что нарушает процессы конъюгации гомологичных хромосом в мейозе и является причиной формирования несбалансированных зигот.

В процессе цитогенетического анализа можно выделить животных, не имеющих в кариотипе каких-либо изменений, и особей, у которых находят разрывы и пробелы хромосом, полиплоидные клетки, другие структурные и числовые aberrации. По специальным методикам у одних индивидуумов обнаруживают нарушения формирования синаптонемного комплекса в мейозе, повышенную частоту сестринских хроматидных обменов и высокий процент клеток с микроядрами. Повышенная частота числовых и функциональных аномалий хромосом, наблюдаемая у отдельных особей, определяется термином «хромосомная нестабильность».

У крупного рогатого скота описан широкий спектр структурных нарушений хромосом, которые, как известно, возникают в результате спонтанных или индуцированных ломок, разрывов и последующих воссоединений хромосом новым способом. Сбалансированные по основному генетическому материалу aberrации (транслокации и инверсии) проходят сквозь сито презиготического и зиготического отбора и наблюдаются у 50% потомства, если один из родителей гетерозиготный, в 100% – если один из

родителей – гомозиготный носитель. Хотя транслокации и считаются сбалансированными абберациями, но в процессе мейоза у гетерозиготных носителей перестроек может нарушаться процесс конъюгации и расхождения гомологичных хромосом, что приводит к образованию гамет с нехваткой или избытком хромосом. Несбалансированные абберации (делеции, дубликации, изохромосомы и кольцевые хромосомы) приводят к нарушению баланса генов, следствием которого может быть отсутствие или изменение действия генетического контроля на самые разные признаки организма.

Наиболее распространенной структурной перестройкой хромосом у крупного рогатого скота являются транслокации типа центрических слияний или робертсоновские, среди которых транслокация 1/29 изучена наиболее полно.

К настоящему времени транслокация 1/29 зарегистрирована более чем в 50 породах крупного рогатого скота. Установлены породные различия в частоте встречаемости этой транслокации. В швицкой породе в США частота транслокации 1/29 составляет 2,4%; в симментальской в Венгрии – 3,27%, в Англии – 4,8%, в России – 7,1-10,0%, на Украине – 8,4%; в красной степной породе в России – 3,3%.

Возможная причина варьирования степени распространения хромосомных аббераций среди разных пород крупного рогатого скота связана, прежде всего, с численностью исследованных животных в данной породе, ее инбредностью, жесткостью и направленностью отбора, а также с фенотипическим проявлением и влиянием аббераций или воспроизводительные качества животных.

Наиболее часто данная абберация регистрируется в породах красного, палево-пестрого и бурого корня, а также в тех породах, которые созданы на их основе.

У носителей робертсоновской транслокации отмечают снижение плодовитости, рост эмбриональных потерь, которые оцениваются в пределах 4-10%.

У крупного рогатого скота наряду с транслокацией 1 и 29 хромосом обнаружены еще более 30 различных вариантов центрических слияний, число которых постоянно возрастает. Описаны с низкой частотой центрические слияния хромосом 1/21, 1/25, 1/26, 2/4, 4/8, 7/21, 13/24, 14/20, 14/21, 14/28, 21/27 и др. Интересно отметить, что из 29 пар аутосом крупного рогатого скота

только пары 15, 17, 19 и 22 пока не вовлечены в этот тип транслокации.

Накопленные сведения о фенотипических эффектах робертсоновских транслокаций все же недостаточны для полной оценки их влияния на хозяйственно-полезные признаки животных. Имеются данные о том, что одна и та же структурная мутация может отрицательно влиять на плодовитость и в то же время быть связанной с повышенной мясной и молочной продуктивностью животных. Можно предположить, что увеличение продуктивности в этом случае есть результат гетерозиготного эффекта, обусловленного блоком генов, сцепленных с данной транслокацией. Выявление, сохранение и рациональное использование носителей таких уникальных комбинаций генов является, несомненно, одним из перспективных путей повышения продуктивности сельскохозяйственных животных.

Контрольные вопросы

1. Какое основное свойство кариотип, ДНК и ее участков?
2. Какая причина возникновения изохромосом?
3. В каких случаях формируются диплоидно-триплоидные химеры?
4. Что такое робертсоновские транслокации?
5. Дайте определение термину «хромосомная нестабильность»?
6. С чем связаны функциональные преобразования хромосом?
7. Что такое полисоматия?

5. Изменение хромосомного набора

За последние три с небольшим десятилетия развитие цитогенетики характеризовалось внедрением различных методов анализа хромосом, что позволило исследователям из разных стран установить все хромосомы наборов (число и их размеры), локализацию хромосомных структур, идентифицировать основные нарушения кариотипов и изучить хромосомный полиморфизм у основных видов сельскохозяйственных животных. Успешному внедрению цитогенетических методов в практику животноводства способствовало прикладное значение исследований хромосомных наборов животных.

Согласно экспериментально установленным данным аномалии хромосом являются причиной снижения признаков продуктивности и воспроизводительных качеств животных в связи с эмбриональной смертностью, рождением плодов с уродствами и падением плодовитости у носителей аберрантных хромосом и у их потомков. Так, у крупного рогатого скота эмбриональные, плодные и перинатальные потери варьируются в широких пределах и составляют 35-44%. Известно, что до 37% эмбрионов у этого вида сельскохозяйственных животных гибнут до рождения из-за разнообразных хромосомных аномалий.

Введение в практику скотоводства современных приемов селекции ведет к возрастанию влияния ограниченного числа производителей на генофонд стада. При этом существенно повышается риск распространения в популяциях различных наследственных патологий. В первую очередь к ним относят числовые нарушения хромосом.

Числовые мутации хромосом, к которым относят гаплоидию, гипер- и гипоплоидию, у крупного рогатого скота представлены в основном трисомиями в системе аутосом и половых хромосом, а также различными мозаичными вариантами этих патологий.

Изменение хромосомного набора в кариотипе вызывает *геномные мутации*. Различают несколько видов геномных мутаций. *Полиплоидией* называют геномную мутацию, обусловленную изменением числа хромосом в клетках кратно гаплоидному набору, а также процесс возникновения или создания геномных мутантов (*полиплоидов*). Впервые в 1890 г. явление кратного увеличения

числа хромосом в клетках было описано профессором МГУ И. И. Герасимовым, наблюдавшим полиплоидию у водоросли спирири. В 1916 г. подобное явление наблюдал Г. Винклер и дал ему название «полиплоидия». Полиплоидия может возникнуть: а) из-за нарушения митоза, в результате которого происходит неравное расхождение хромосом в анафазе, отсутствие цитокинеза, нарушение функций митотического аппарата; б) в результате образования и слияния при оплодотворении нередуцированных гамет, образовавшихся при нарушении мейоза; в) за счет митотического деления зиготы или соматических клеток в начальные периоды эмбриогенеза.

В зависимости от того, в каких клетках происходит изменение числа хромосом, различают соматическую, мейотическую или зиготическую полиплоидию. Обычно полиплоиды возникают или в результате слияния нередуцированных гамет (мейотическая полиплоидия), либо в результате нарушения первого деления зиготы (зиготическая полиплоидия).

Полиплоидия – явление, широко распространенное в природе, особенно среди растений. Многие виды растений как дикорастущих, так и культурных являются спонтанными полиплоидами. В зависимости от климатических условий произрастания число полиплоидных видов растений может колебаться от 35 до 85%. *Полиплоидным рядом* называют виды одного рода, у которых число хромосом увеличивается кратно гаплоидному. Наименьшее гаплоидное число хромосом каждого полиплоидного ряда называется его основным числом и обозначается буквой X . Например, у пшеницы основное число хромосом полиплоидного ряда $X = 7$, у картофеля $X = 12$, у щавеля $X = 10$. Совокупность хромосом основного числа полиплоидного ряда называется *геномом*. Полиплоидия у животных встречается крайне редко. Известный случай полиплоидии у млекопитающих – золотистый хомячок, в кариотипе которого содержится 44 хромосомы, в то время как у серого и обыкновенного хомяка их 22. Искусственно тетраплоидные формы удавалось получать у некоторых видов рыб и амфибий, но сохранить тетраплоидное число хромосом в потомстве не удавалось.

Геномная мутация, в результате которой возникают организмы с редуцированным (одинарным) числом хромосом, называется *гаплоидией*, а сами организмы – гаплоидами. В клетках гаплоидов содержится только половина соматического набора хромосом (n),

присущего данному виду, то есть такое же число хромосом, как и в нормальных половых клетках (гаметах). Гаплоиды могут возникать спонтанно и могут быть получены индуцированно. Гаплоидные мутации используют в селекции высших растений. Если у гаплоида удвоить число хромосом с помощью раствора колхицина, то можно получить гомозиготное по всем генам, нормально плодотворное диплоидное растение.

Гаплоидия у животных может возникнуть при стимулировании яйцеклетки различными факторами к дроблению. Тепловая активация оказалась успешным способом получения гаплоидов у червей, моллюсков и лягушек. У позвоночных гаплоидия не способствует полноценному развитию. У тутового шелкопряда и рыб гаплоидов можно получать путем осеменения яйцеклеток облученной спермой.

Гетероплоидия, или *анеуплоидия* – это общее изменение числа хромосом по отношению к диплоидному полному набору. Когда число хромосом в клетке увеличено на одну хромосому ($2n + 1$), такого гетероплоида называют *трисомиком*; больше на две хромосомы ($2n + 2$) – *тетрасомиком*; меньше на одну хромосому ($2n - 1$) – *моносомиком*; меньше на две хромосомы ($2n - 2$) – *нуллисомиком*.

Возникновение гетероплоидов происходит из-за следующих основных причин:

1) в результате отсутствия конъюгации гомологичных хромосом и образования унивалентов. Униваленты не ориентируются надлежащим образом и могут отойти к одному полюсу;

2) в результате отхождения двух гомологичных хромосом к одному полюсу в анафазе I мейоза или в анафазе митоза;

3) из-за отсутствия разделения хромосом на хроматиды, что приводит к нарушению их расхождения в дочерние клетки при втором делении мейоза.

У животных, особенно высших, гетероплоидия вызывает серьезные изменения в процессе онтогенеза и обуславливает также появление типичных для каждой хромосомы признаков. Гетероплоиды у животных встречаются обычно только в случаях увеличения или уменьшения числа мелких хромосом. Изменение же числа крупных хромосом вносит очень серьезные нарушения в процессе развития, и организм, как правило, погибает.

Анеуплоидия у животных часто встречается в виде трисомии ХХУ и полисомии (ХХУУ, ХХХУ, ХХХХУ и др.), которые относят к синдрому Клайнфельтера. Синдром трисомии ХХУ выявлен у собак, у котов черепахового окраса шерсти, у свиней. Особи с синдромом имели ряд физиологических и анатомических аномалий.

Анеуплоидия в виде моносомии ХО получила название синдрома Тернера. Он описан у мыши и козы. У животных обнаружен так называемый синдром Дауна, который является следствием нерасхождения аутомсомных хромосом, приводящего к аутомсомной трисомии. Например, у крупного рогатого скота описана трисомия по 18, 19 и 23 аутомсомам. Фенотип таких особей характеризуется укорочением костей верхней челюсти, карликовостью, половой неполноценностью.

Ряд случаев гетероплоидии, сопровождающейся возникновением аномалий, выявлен и у человека. Установлено, что хромосомные нарушения определяют мертворождение или смерть новорожденных в течение первого года и последующих лет жизни. В некоторых случаях рождаются и живут относительно продолжительное время дети-трисомики по какой-либо хромосоме, но во всех случаях трисомия вызывает пороки развития.

Наиболее часто встречается у новорожденных синдром Дауна, обусловленный трисомией по 21-й хромосоме. Для синдрома характерны пороки развития: пороки сердца, пищеварительного тракта, патология в форме головы и лица, разболтанность суставов, умственная отсталость. Причиной трисомии является неравное расхождение хромосом в мейозе у одного из родителей, чаще – у матери. Причин нарушения мейоза может быть много, в том числе возраст матери, как это установлено для синдрома Дауна. Установлено, что у матерей 45 лет и старше встречаемость рождения детей-трисомиков почти в 100 раз выше, чем у молодых.

Трисомией по 13-й хромосоме обусловлено тяжелое заболевание – синдром Патау. Частота встречаемости – 1:5000-7000 новорожденных. При этом наблюдается высокая ранняя смертность, пороки головного мозга и лица, полидактия (многопалость), пороки внутренних органов. Отмечены разнообразные случаи гетероплоидии у человека по половым хромосомам. Частота их встречаемости около 1,6:1000 рождений. Моносомия по Х-хромосоме обуславливает синдром Шерешевского-Тернера. Для него характерны бесплодие, недоразвитие половых признаков, врожденные

соматические пороки развития, низкий рост. Иногда встречается трисомия по половым хромосомам у мальчиков. Причем, если в кариотипе присутствует несколько дополнительных X-хромосом и хотя бы одна Y-хромосома, рождаются мальчики. Частота таких рождений составляет 1,39-1,98 на 1000 рождений мальчиков. Встречаются случаи рождения мальчиков и с ди- и трисомией по Y-хромосоме (синдром Клайнфельтера). В этом случае в начальный период развития у больных не наблюдается существенных аномалий, но для них характерно, как правило, бесплодие.

Автополиплоидия – это кратное увеличение числа хромосом вида. Это геномная мутация, в результате которой возникают *автополиплоиды*. В зависимости от числа хромосомных гаплоидных наборов различают триплоиды, в клетках которых содержится $3n$ число хромосом, тетраплоиды ($4n$), пентаплоиды ($5n$), гексаплоиды ($6n$) и т.д.

Автополиплоидия обуславливает изменение морфологических признаков и свойств, присущих исходным диплоидным растениям. У автополиплоидов в первую очередь увеличиваются размеры ядра и клетки в целом, а также количество органоидов цитоплазмы – пластид, митохондрий, рибосом. Для каждого вида растений существует определенный оптимальный уровень пloidности, то есть такое кратное гаплоидному число хромосом, при котором растения имеют наиболее высокую жизнеспособность и продуктивность. Например, у сахарной свеклы и арбуза оптимальным является триплоидный уровень (у арбуза $3n = 33$, у свеклы $3n = 27$), для ржи, гречихи, редиса, клевера – тетраплоидный. У автополиплоидов крупнее листовые пластинки, лепестки венчика, семена, больше длина и толщина стебля по сравнению с растениями с диплоидным набором хромосом.

Генетически отмечены особенности мейоза и наследования признаков у автополиплоидов. Так, если у диплоидного организма в профазе I мейоза происходит нормальная конъюгация двух гомологичных хромосом и образование бивалентов, то у тетраплоидных организмов в клетках содержатся четыре гомологичных хромосомы, что приводит в профазе I мейоза к нарушениям процесса конъюгации и образованию наряду с бивалентами унивалентов, тривалентов и тетравалентов. Униваленты – это одиночные хромосомы в пахитене профазы I, триваленты – ассоциации трех, тетраваленты – четырех гомологичных хромосом. В результате такого

нарушения конъюгации хромосом образуются гаметы и зиготы с числом хромосом, некратным гаплоидным. Например, тетраплоидные растения сахарной свеклы, в клетках которых содержится $4n = 36$ хромосом, могут образовать гаметы, содержащие от 13 до 23 хромосом, при слиянии которых в процессе оплодотворения образуются зиготы, содержащие от 26 до 46 хромосом. Зиготы, содержащие несбалансированное число хромосом, как правило, не реализуются в семена и плоды, поэтому один из существенных недостатков искусственно получаемых автополиплоидов – их пониженная урожайность.

Наследование признаков у полиплоидных растений идет значительно сложнее, чем у диплоидных. Наглядным примером может служить наследование высоты растений у диплоидов и тетраплоидов гречихи, у которой ген D обуславливает высокорослый тип растений с неограниченным ростом. Рецессивный аллель этого гена (d) контролирует карликовый рост, при котором на вершине стебля вместо точки роста образуется обычная цветочная кисть. При скрещивании диплоидных гомозиготных растений $DD \times dd$ в F_1 все растения имеют неограниченный тип роста, бывают высокорослыми, а в F_2 наблюдается расщепление 3:1.

При скрещивании тетраплоидных растений, имеющих генотипы $DDDD \times dddd$, при отсутствии нарушений в мейозе все растения F_1 будут высокорослыми ($DDdd$). Они образуют три типа гамет в следующем отношении: $1DD:4Dd:1dd$. При равновероятном слиянии этих гамет в процессе оплодотворения у тетраплоидных растений могут в F_2 образоваться в следующие генотипы: $1 DDDD : 8 DDDd : 18 DDdd : 8 Dddd : 1 dddd$. При полном доминировании в F_2 может наблюдаться расщепление по фенотипу – 35 (высокорослые) : 1 (карликовое). Еще более сложно наследуются у тетраплоидов признаки, обусловленные взаимодействием неаллельных генов по типу комплементарности и полимерии.

К геномным мутациям относится также *аллополиплоидия*, в результате которой происходит удвоение набора хромосом разных родов и видов. *Аллополиплоиды* могут возникнуть спонтанно в природных условиях или могут быть получены искусственно при межвидовых или межродовых скрещиваниях. Аллополиплоиды, созданные в результате удвоения числа хромосом у растений, полученных от скрещивания особей, относящихся к двум разным видам и родам, называют *амфидиплоидами*. Если аллополиплоид

содержит сумму хромосом трех видов или родов, его называют *аллотриплоидом*.

Первые амфидиплоиды были получены Г. Д. Карпеченко в 1924 г. при скрещивании редьки ($2n = 18$) с капустой ($2n = 18$). В животноводстве пока не удалось получить жизнеспособных амфидиплоидов. Известен лишь один случай, когда при скрещивании двух подвидов японской лягушки были получены аллоплоиды, но они были бесплодны.

Контрольные вопросы

1. Что такое мутация и мутагенез?
2. Что такое полиплоидия?
3. Какие типы полиплоидов вы знаете?
4. Приведите примеры гетероплоидии у человека.
5. Какие причины обуславливают возникновение гетероплоидов?
6. Какие мутации наследуются и какие нет?
7. Как получают амфидиплоиды?

6. Кариотип и его особенности

Анализ хромосом в клетках животных и растений разных видов позволил выявить ряд общих закономерностей, имеющих важное значение при изучении явлений наследственности и изменчивости. Установлено, что количество хромосом в клетках разных тканей одного вида одинаково. Например, у домашней мыши подсчитывали число хромосом в клетках костного мозга, селезенки, лимфатических узлов, печени, почек, зубной железы, пейеровых бляшек, роговицы, эпителия кишечника; все они содержали по 40 хромосом. Форма и размеры хромосом в пределах вида также постоянны. Каждая хромосома в клетке отличается от других хромосом по внешнему строению и функциональным особенностям, т.е. индивидуальностью, которая сохраняется от одной генерации клеток к другой и передается от родителей к потомкам.

В соматических клетках хромосомы парные, а набор хромосом в них *диплоидный* ($2n$). Пары одинаковых по форме и величине хромосом называют *гомологичными*. Парность хромосом возникает при слиянии (оплодотворении) мужской и женской половых клеток, которые содержат *гаплоидный* набор хромосом (n). Таким образом к закономерностям строения хромосомных наборов можно отнести постоянство числа хромосом, парность, индивидуальность и непрерывность хромосом. Изучение хромосомных наборов у самцов и самок одного вида показывает, что различаются они только по одной паре хромосом. Их обозначают X (икс) и Y (игрек). Другими словами, хромосомы, по-разному представленные у двух полов и противоположно участвующие в генетическом контроле половой дифференциации и половых функций, называют *половыми хромосомами* или *гоносомами*; хромосомы, одинаковые у разных полов – *аутосомами*.

При анализе наборов хромосом в клетках разных видов были выявлены различия по числу хромосом или их строению либо те и другие одновременно. Совокупность количественных и структурных особенностей диплоидного набора хромосом вида получила название *кариотипа*.

По определению С. Г. Навашина, кариотип – это структура – своеобразная формула вида. В кариотипе заложена генетическая информация особи, изменения которой влекут за собой изменения

признаков и функций организма данной особи или ее потомства. Поэтому так важно знать особенности нормального строения хромосом, чтобы при возможности суметь выявить изменения в кариотипе. Для анализа хромосом важное значение имеет микрофотографирование. Оно позволяет детально изучить морфологию, подсчитать число хромосом в метафазной пластинке, измерить каждую из них. После визуальной оценки хромосомы можно вырезать и разложить по парам гомологов (идиограмма) в порядке убывающей величины. В таблице 3 дана характеристика кариотипов основных видов сельскохозяйственных животных.

Таблица 3

Диплоидное число хромосом у некоторых видов животных и человека

Вид животных	Число хромосом ($2n$)
Человек (<i>Homo sapiens</i>)	46
Крупный рогатый скот (<i>Bos Taurus L.</i>)	60
Коза (<i>Capra hircus</i>)	60
Овца (<i>Ovis aries</i>)	54
Домашняя свинья (<i>Sus scrofa domestic</i>)	38
Лошадь (<i>Equus caballus</i>)	64
Як (<i>Bos grunniens</i>)	60
Верблюд двугорбый (<i>Camelus bactrianus</i>)	74
Зубр (<i>Bison bison</i>)	60
Дикий кабан (<i>Sus scrofa scrofa</i>)	36
Котка (<i>Felis catus</i>)	36
Собака (<i>Canis</i>)	78
Куры (<i>Gallus gallus domesticus</i>)	78
Индейки (<i>Meleagris gallopago</i>)	80
Утки (<i>Anas platyrhynchus domesticus</i>)	80
Гуси (<i>Anser anser</i>)	82

Кариотип можно изучить на делящихся клетках любых органов. Наиболее доступным методом изучения кариотипа является метод культуры клеток красного костного мозга или лейкоцитов периферической крови животных. В этих клетках интенсивно происходят процессы деления. Клетки выращивают на питательных средах, обрабатывают колхицином (мутаген), блокируют митоз на стадии метафазы.

Культура клеток костного мозга. Из грудной кости животного специальной шприц-иглой берут 1-2 см³ вытяжки костного мозга и помещают в центрифужные пробирки. Стерильные

пробирки предварительно заполняют питательной средой №199, 0,5 мл гепарина и добавляют 1-2 капли 0,04% раствора колхицина или колцемида. В этом состоянии клетки можно транспортировать и хранить 3-4 ч. При температуре +38°C проводят гипотенизацию 0,75% раствором цитрата натрия в течение 30 мин.

После набухания клеток проводят центрифугирование в течение 10 мин при 800-900 об/мин. Надосадочную жидкость сливают, к осажленным клеткам добавляют осторожно 2 мл фиксатора (три части метиленового спирта и одна часть ледяной уксусной кислоты), охлажденного до +4°C. Ставят в холодильник на 10 мин. Процесс фиксации и центрифугирования повторяют 2-3 раза, пока фиксатор не приобретет прозрачный цвет. Затем добавляют 45% раствор уксусной кислоты при 20-22°C и выдерживают 10-15 мин. Вновь центрифугируют, сливают кислоту. Пастеровской пипеткой вносят 1-2 капли осадка на предметное стекло и высушивают на пламени горелки. Препарат красят по Романовскому (1% раствором ацетоарсеина) или Гимза (азур-эозин). Фиксированный препарат промывают водопроводной водой и смотрят под микроскопом.

Культура клеток лейкоцитов. Этот метод наиболее доступен для изучения хромосом любого животного.

У свиней из передней полой вены (у крупного рогатого скота – из яремной) берут шприцем 10 мл крови и разливают в пенициллиновые стерильные флакончики, содержащие среду: 0,5 мл среды №199 и гепарина. На 1 мл такой среды приливают 4 мл крови, тщательно перемешивают и доставляют в лабораторию. Здесь флакончики помещают на 20-30 минут в холодильник при 4°C. За это время эритроциты оседают, а плазму с лейкоцитами отсасывают 20-граммовым шприцем, куда всасывают среду №199 из расчета 2 мл крови на 6 мл среды и фитагеммоглютин типа М или Р (0,1 мл на 10 мл среды) для активизации митоза.

Все компоненты перемешивают и стерильные пенициллиновые флаконы на 2-3 мл ставят в термостат на 72 ч при 37-38°C. За 2-4 ч до окончания инкубации добавляют 0,04% раствор колхицина (по 0,1-0,15 мл во флакон), блокирующий митоз на стадии метафазы и вновь ставят в термостат при той же температуре на 3-4 ч. Через 72 ч инкубации содержимое флаконов переливают в пробирки и центрифугируют при 800 об/мин 10 мин, что способствует осаждению лейкоцитов. Жидкость сливают, а в осажленные лейкоциты добавляют 5 мл гипотонического раствора (поваренная

соль или одна часть раствора Хенкса и три части дистиллированной воды), нагретого до 37-40°C на 20-30 мин. Этот процесс способствует набуханию клетки и переходу в рыхлое состояние хромосом. Затем пробирки вновь центрифугируют, удаляя гипотонический раствор, осадок фиксируют 5 мл охлажденного фиксатора (4°C) в течение 45 мин. Фиксатор удаляют центрифугированием и вновь добавляют 0,5 мл свежего фиксатора для удаления метанола. Несколько капель суспензии наносят на предметное стекло и окрашивают ацетоарсеином или азур-эозином в течение 30 мин. Краситель смывают 45% уксусной кислотой, накрывают покровным стеклом, и препарат готов для исследования. Фотографируют 10-15 пластинок и проводят изучение кариотипа.

Хромосомы каждого вида растений и животных имеют свои морфологические особенности и определенные размеры. Изучение строения хромосом проводится в метафазе митоза, когда все хромосомы лежат в одной плоскости, образуя метафазную пластинку. Форму метафазной хромосомы определяет положением центромеры. Центромера может находиться в разных частях хромосом.

Митотическая активность тканей определяется отношением числа клеток, находящихся в митозе, к общему числу клеток на данном участке ткани, например, в зоне деления в конусе нарастания корешка лука. Это отношение выражают в процентах или в виде показателя, который получил название митотического индекса (МИ). Митотический индекс чаще всего выражают в промилле (‰), т. е. в числе митозов на 1000 клеток исследуемого участка ткани.

У человека в большинстве случаев используют препараты из клеток костного мозга, кратковременной культуры крови или из длительной культуры фибробластов. Наиболее простым и доступным является метод культивирования клеток крови. Пункция костного мозга или биопсия кожи для культивирования фибробластов технически сложнее, и к тому же аспирация костного мозга – весьма неприятная процедура. Препараты из костного мозга имеют, однако, то преимущество, что дают возможность изучать митозы *in vivo*.

Приготовление и окрашивание препаратов метафазных хромосом. Препараты хромосом можно приготовить из всех тканей и клеточных суспензий, содержащих делящиеся клетки. В большинстве случаев используют препараты из клеток костного

мозга, кратковременной культуры крови или из длительной культуры фибробластов.

В норме в крови нет делящихся клеток. Однако митоз этих клеток можно стимулировать искусственно, например, обработав их фитогемагглютинином (ФГА). Спустя один час после инкубации с ФГА в малых (Т-) лимфоцитах отмечается синтез РНК, а через 24 ч начинается синтез ДНК. Суспензию лейкоцитов выращивают в культуральной среде 72 ч и затем готовят препараты хромосом. Чтобы остановить клетки в прометафазе, подавляют образование веретена деления веществами с колхициноподобным действием, предпочтительно колцемидом. В специальных условиях время культивирования можно сократить до 48 ч. Для свободного распределения хромосом в плоскости препарата клетки обрабатывают в течение 10-30 мин гипотоническим раствором, а затем фиксируют смесью этанола и уксусной кислоты. Каплю такой суспензии наносят на стекло, высушивают на воздухе и окрашивают.

Процедура приготовления препаратов несколько отличается от процедуры, описанной выше. Культуру фибробластов получают из материала биопсии кожи. Ее измельчают и выращивают в культуральной среде таким образом, чтобы кусочки были прикреплены к поверхности культурального сосуда. Через 10 дней клетки начинают расти по этой поверхности, через 21 день готовят суспензию и делают препараты.

Окрашивание. Наиболее простой способ окрашивания – красителем Гимза или 2% ацетоорсеином, или 2% ацеткармином. Эти красители окрашивают хромосомы целиком, равномерно и интенсивно. Для некоторых диагностических целей (например, для выявления численных аномалий хромосом) этот метод вполне достаточен. Для получения более детальной картины структуры хромосом и идентификации отдельных хромосом или их сегментов используются различные способы дифференциального окрашивания.

Дифференциальное окрашивание. Многие исследователи отмечали в хромосомах, окрашенных по обычной методике, некоторую неоднородность в плотности окрашивания отдельных участков. Этот факт оставался без внимания, пока Касперсон с сотрудниками (1968) не обнаружили, что после обработки акрихинипритом флуоресценция по длине хромосомы распределена не равномерно, а в виде сегментов. Затем было показано, что каждую хромосому человека можно надежно идентифицировать

с помощью такого метода окрашивания. Вскоре после этого стало ясно, что очень сходный рисунок сегментации можно получить и с помощью красителя Гимза, если дополнить процедуру окрашивания некоторыми приемами. Многие исследователи предложили методики для окрашивания прицентромерных районов. Было показано, что частичная тепловая денатурация также приводит к выявлению сегментов в хромосомах. На Парижской конференции по стандартизации и номенклатуре хромосом человека в 1971 г. полученные к тому времени данные были сопоставлены, и оказалось, что все методы выявляют в принципе одни и те же структуры, но каждый из них специфичен в отношении определенных хромосомных сегментов.

Общепринятые методы. Различные типы сегментов обозначают по методам, с помощью которых они выявляются наиболее отчетливо:

- Q-сегменты (quinacrine, акрихин) – участки хромосом, флуоресцирующие после окрашивания акрихин-ипритом или сходными соединениями.

- G-сегменты (Giemsa, Гимза) выявляются при окрашивании красителем Гимза в сочетании с дополнительными процедурами, которые способствуют тому, что краситель адсорбируется наиболее интенсивно на определенных участках, Q- и G-сегменты идентичны. В большинстве лабораторий в повседневной работе предпочитают G-метод, поскольку он не требует использования флуоресцентного микроскопа и окрашенные препараты можно длительно хранить. Однако специфическое преимущество Q-метода состоит в том, что он позволяет даже в интерфазном ядре идентифицировать Y-хромосому человека по яркой флуоресценции.

- R-сегменты (reverse, обратные) окрашиваются после контролируемой тепловой денатурации. Они располагаются между Q (или G-) сегментами.

- C-сегменты (constitutive heterochromatin, конститутивный гетерохроматин) ограничивают прицентромерные районы в обоих плечах хромосомы.

- T-сегменты (telomeric, теломерные) расположены в теломерных районах хромосом.

Детальное описание этих методов можно найти в многочисленных публикациях. Многие лаборатории используют свои собственные модификации.

Химические различия, выявляемые методами дифференциального окрашивания. Природа химических различий, выявляемых этими методами, еще только исследуется. Обычно обсуждается две основные гипотезы: так называемая ДНК-я и белковая. Первая исходит из данных о том, что различные участки хромосом человека отличаются по количественному содержанию А-Т (аденин-тимин) и G-C (гуанин-цитозин) пар оснований. Акрихин-иприт связывается преимущественно с АТ-богатыми участками. Акридиновый оранжевый, соединяясь с одноцепочечной ДНК, дает красную флуоресценцию. После контролируемой денатурации R-сегменты окрашиваются в красный цвет. На основании этих данных можно предложить следующую гипотезу:

- Q-сегменты соответствуют участкам, богатым А-Т-парами.
- R-сегменты соответствуют участкам, богатым G-C-парами, которые более устойчивы к тепловой денатурации, чем А-Т-богатые участки.

Эта гипотеза не объясняет, однако, все особенности рисунка сегментации. С другой стороны, белковая гипотеза исходит из данных о том, что протеолитическая обработка индуцирует появление G-сегментов. Но поскольку разные ДНК связаны в хромосомах с разными белками, можно полагать, что рисунок сегментации тем или иным образом зависит от особенностей целостного комплекса ДНК-белок.

Окрашивание серебром районов ядрышкового организатора (ЯОР). Метод серебрения специфичен для ядрышко образующих районов. Они видны как темные пятна на желто-коричневом фоне хромосом. При этом окрашиваются только те ЯОР, которые функционировали в предшествующей интерфазе.

Хромосомы в сперматозоидах человека. Несколько лет назад был предложен метод приготовления препаратов хромосом непосредственно из сперматозоидов человека. Для этого сперму сначала инкубировали с ооцитами золотистого хомячка, лишенными блестящей оболочки, чтобы индуцировать митозы. Этот метод весьма важен для прямого определения хромосомных аномалий в сперматозоидах человека. Однако его воспроизводимость очень плохая. В одном исследовании частота хромосомных аномалий в сперматозоидах оказалась равной 8,5%. В крови здоровых людей (или больных, но не лейкозами) нет делящихся клеток. Однако митоз этих клеток можно стимулировать искусственно, например,

обработав их фитогемагглютинином ФГА. Спустя один час после инкубации с ФГА в малых (Т-) лимфоцитах отмечается синтез РНК, а через 24 часа начинается синтез ДНК. Суспензию лейкоцитов выращивают в культуральной среде 72 часа и затем готовят препараты хромосом. Чтобы остановить клетки в прометафазе, подавляют образование веретена деления веществами с колхициноподобным действием, предпочтительно колцемидом. В специальных условиях время культивирования можно сократить до 48 часов. Для свободного распределения хромосом в плоскости препарата клетки обрабатывают в течение 10-30 минут гипотоническим раствором, а затем фиксируют смесью этанола и уксусной кислоты. Каплю такой суспензии наносят на стекло, высушивают на воздухе и окрашивают. Препараты клеток костного мозга получают из материала пункции грудины или подвздошной кости. Клетки культивируют только 2 часа с колцемидом. Процедура приготовления препаратов несколько отличается от процедуры, описанной выше. Культуру фибробластов получают из материала биопсии кожи. Ее измельчают и выращивают в культуральной среде таким образом, чтобы кусочки были прикреплены к поверхности культурального сосуда. Через 10 дней клетки начинают расти по этой поверхности, через 21 день готовят суспензию и делают препараты.

За последние три с небольшим десятилетия развитие цитогенетики характеризовалось внедрением различных методов анализа хромосом, что позволило исследователям из разных стран установить все хромосомы наборов (число и их размеры), локализацию хромосомных структур, идентифицировать основные нарушения кариотипов и изучить хромосомный полиморфизм у основных видов сельскохозяйственных животных. Успешному внедрению цитогенетических методов в практику животноводства способствовало прикладное значение исследований хромосомных наборов животных.

Согласно экспериментально установленным данным аномалии хромосом являются причиной снижения признаков продуктивности и воспроизводительных качеств животных в связи с эмбриональной смертностью, рождением плодов с уродствами и падением плодовитости у носителей aberrантных хромосом и у их потомков. Так, у крупного рогатого скота эмбриональные, плодные и перинатальные потери варьируются в широких пределах и

составляют 35-44%. По некоторым данным до 37% эмбрионов у этого вида сельскохозяйственных животных гибнут до рождения из-за разнообразных хромосомных аномалий.

Введение в практику скотоводства современных приемов селекции ведет к возрастанию влияния ограниченного числа производителей на генофонд стада. При этом существенно повышается риск распространения в популяциях различных наследственных патологий. В первую очередь к ним относят числовые нарушения хромосом.

Числовые мутации хромосом, к которым относят гаплоидию, гипер- и гипоплоидию, у крупного рогатого скота представлены в основном трисомиями в системе аутосом и половых хромосом, а также различными мозаичными вариантами этих патологий.

Нарушения числа отдельных хромосом (трисомия, моносомия) возникают вследствие нерасхождения хроматид во время второго мейотического деления или хромосом при первом мейотическом делении. Трисомия и моносомия могут также возникать и в результате нарушения расхождения или утраты митотических хромосом в самом начале либо в течение эмбриогенеза. Анеуплоидия хромосом приводит к значительным изменениям в генотипе организма, что в свою очередь обуславливает гибель или рождение с множественными пороками развития.

Как правило, анеуплоидии по аутосомам у крупного рогатого скота, так же как и у других млекопитающих, возникают снова, поскольку моносомиики и трисомиики (за исключением отдельных случаев) не выживают и не оставляют потомства.

У крупного рогатого скота трисомии по аутосомам в большинстве своем легальны, вследствие эмбриональной или перинатальной смертности особей. В отдельных случаях не установлено летального эффекта трисомий. Интересен факт рождения фенотипически и кариотипически нормального теленка ($2n = 60, XY$) у коровы с трисомией по 22 паре хромосом. Животное с трисомией имело пупочную грыжу, свищ мочевого прохода и слабо выраженную прогнатию нижней челюсти. Данная форма трисомии не была летальной и даже не оказала влияние на фертильность животного.

В отличие от трисомий, моносомии аутосом у крупного рогатого скота, вероятно, приводят к ранней эмбриональной гибели.

Известны случаи обнаружения эмбрионов с моносомией первой аутосомы в возрасте 13 дней.

Числовые аномалии половых хромосом составляют значительную часть хромосомных нарушений, описанных у крупного рогатого скота и представленных в основном трисомией по X-хромосоме, синдромом XXУ (бычий гипогонадизм), различными формами мозаицизма и химеризмом.

Особь с избытком или недостатком половых хромосом характеризуется, как правило, нарушениями плодовитости, а в некоторых случаях – жизнеспособности. Выживаемость животных с дисбалансом в системе половых хромосом связана, по-видимому, с механизмами, которые обеспечивают постоянство активных X-хромосом за счет инактивации одной или более X-хромосом при патологических состояниях.

Трисомия половых хромосом выявлена в различных породах крупного рогатого скота и сопровождается иногда явным нарушением фенотипа животного. G. Rieck описал корову с трисомией X, которая имела искривление позвоночника (кифоз) и общее недоразвитие организма. В других случаях выявлены животные с недоразвитыми яичниками, у которых наблюдалось полное или частичное снижение плодовитости. В ряде случаев трисомии по половым хромосомам, достигая половозрелого возраста, способны оставлять потомство. При исследовании телки с гипоплазией яичников в ее кариотипе было обнаружено два хромосомных нарушения – трисомия по половым хромосомам и робертсоновская транслокация 1/29. Исследованное животное имело кариотип $2n = 60, XXX, t(1/29)$.

Животные с кариотипом 61, XXУ встречаются реже, чем животные с кариотипом 61, XXX, так как быки интенсивнее выбраковываются в раннем возрасте из-за существенного нарушения роста и развития. У взрослых особей наблюдается гипоплазия семенников, некроспермия или олигоспермия и ряд других дефектов. Описана сложная мутация у быка с аномалиями наружных половых органов и отсутствием сперматозоидов. В кариотипе животного с синдромом Клайнфельтера присутствовала робертсоновская транслокация ($2n = 61, XXУ, t(1/29)$).

Более распространенными мутациями в системе половых хромосом у крупного рогатого скота являются мозаицизм и химеризм, которым часто сопутствует интерсексуальность.

Гоносомальный мозаицизм в различных вариантах: 60, XY/61, ХХУ; 60, ХХ/61, ХХУ; 60, XY/60, ХХ, 61, ХХУ; 60, ХХ/61, ХХУ; 60, 4Y/61, ХХУ/78, ХХУ и другие обнаруживают у животных с нарушением половых рефлексов, снижением подвижности сперматозоидов, с гипогонадизмом, крипторхизмом, фримартинизмом, мускулинизацией гонад.

Несмотря на близость мозаицизма и химеризма, следует различать эти понятия. Мозаицизм предполагает наличие клеток в организме с различным набором хромосом при условии, что все они ведут начало от одной зиготы. При химеризме клоны клеток с различными наборами хромосом происходят от двух или более зигот. Мозаицизм возникает в результате нарушения митоза во время раннего дробления при делении зиготы.

Химеризм по половым хромосомам у крупного рогатого скота встречается с частотой в среднем около 2,2%. Эта аномалия возникает в результате обмена стволовыми клетками через анастомозы хориона при многоплодной беременности (постзиготный химеризм) или путем слияния бластоцистов – полиандрия или полигиния (зиготный химеризм). В обоих случаях наблюдается появление у фенотипических самцов определенного числа клеток с женскими ХХ, а у самок – с мужскими половыми хромосомами ХУ, частота которых может изменяться от 0 до 100% и остается константной в постнатальном онтогенезе.

В некоторых случаях химеризм выявляется только у одного родившегося животного, что можно объяснить гибелью второго плода на ранних стадиях эмбрионального развития. Телки-фримартины почти всегда бесплодны. Имеется лишь несколько публикаций, в которых сообщается о фертильных животных. В отношении воспроизводительных функций быков с химеризмом мнения разноречивы. По данным одних авторов, у быков с ХХ/ХУ-химеризмом наблюдается ухудшение качества семени, понижение плодовитости или даже стерильность; по другим – не установлено негативного влияния химеризма по половым хромосомам на воспроизводительные функции производителей.

Химеризм по половым хромосомам у гетеросексуальных двоен возникает не всегда. Известны случаи появления телок из разнополовых двоен с кариотипом 60, ХХ.

Феномен нестабильности хромосом в соматических клетках человека и животных известен на протяжении многих лет.

Хромосомная нестабильность или неспецифические хромосомные изменения кариотипа – это нарушения, которые присутствуют в небольшой части клеток организма. Неспецифические хромосомные aberrации, возникающие в митозе или мейозе, выражаются в появлении анеуплоидов, разрывов, ди- и трицентрических хромосом и других аномалий. Хромосомная нестабильность кариотипа свойственна в той или иной мере практически всем особям в популяции и служит одним из показателей для оценки естественной мутабельности хромосом.

Причиной образования хромосомной нестабильности в клетках является ее связь с нарушением работы одного или нескольких ферментов, ответственных за поддержание структурной целостности генома. По мнению Н. П. Дубинина, неспецифические хромосомные aberrации являются следствием нарушения в системах репарации или репликации хромосом. Угнетение иммунитета и иммунные конфликты могут приводить к увеличению в организме числа клеток с цитогенетическими нарушениями.

Спонтанные нарушения хромосомного набора в клетках соматических тканей человека и сельскохозяйственных животных представлены широким спектром изменений, затрагивающих как число, так и структуру хромосом (анеуплоидия, полиплоидия, делеции, транслокации и др.).

Обобщая результаты о частоте клеток с aberrациями хромосом у человека (без учета пробелов и гэпов), на основании данных многих исследователей можно констатировать, что она составляет около 1-3%. Aberrации хроматидного типа (в основном одиночные фрагменты) составляют 50-70% от всех aberrаций.

Уровень спонтанных нарушений хромосом у крупного рогатого скота находится в широких пределах – от 0,17 до 36,0%.

У животных черно-пестрой, симментальской, холмогорской, швицкой, красной степной пород частота анеуплоидии в соматических клетках равна 6,3-9,9%. В период выращивания до 18 месяцев у телок помесей первого поколения черно-пестрой и голштинской пород уровни гиперплоидии составляют 2,49-3,89%, гипоплоидии – 25,07-35,71%, полиплоидии – 1,85-2,24%, клеток со структурными aberrациями – 0,58-0,81%. Структурные мутации у крупного рогатого скота встречаются с частотой 0,40%, геномные мутации – 9,01%.

Несмотря на распространенность этого феномена, вопрос о связи спонтанной изменчивости кариотипа с продуктивными и репродуктивными качествами, отдельными болезнями и врожденными патологиями у сельскохозяйственных животных изучен в меньшей степени, чем влияние на эти признаки конституциональных аномалий.

Имеются сведения о положительной корреляции между уровнем полиплоидных клеток в крови и степенью гипертрофии мышц у быков кианской и шаролезской пород.

Полиплоидизация клеток является характерной чертой для ряда органов и тканей организма. Соматическая полиплоидия связана с интенсивностью пролиферативных и обменных процессов, с увеличением объема и массы клеток животных.

Повышение уровня спонтанных аномалий кариотипа в соматических тканях связано со снижением репродуктивных качеств у животных.

У крупного рогатого скота возрастает нестабильность хромосом у животных с пониженной воспроизводительной функцией. Существуют различия в репродуктивных качествах коров в зависимости от уровня их кариотипической изменчивости.

Отмечено возрастание нестабильности хромосом у животных, больных лейкозом, бруцеллезом. При цитогенетическом обследовании крупного рогатого скота с клинической формой лейкоза выявлено повышение в 5 раз уровня полиплоидии у больных животных в сравнении со здоровыми.

В литературе описаны случаи о наличии связи целого ряда патологических состояний у животных с повышением частот полиплоидных и анеуплоидных клеток, фрагментов и разрывов хромосом.

А. Герцог опубликовал результаты многолетних исследований телят с различными врожденными пороками развития. Им установлено повышение частоты хроматидных и изохроматидных разрывов у телят, больных паракератозом. Отмечается также, что у отцов и матерей телят с клиническими признаками паракератоза число хромосомных разрывов достоверно выше – 11,1 и 9,5% соответственно, чем у родителей здоровых телят – 1,4%. Автор предлагает использовать число хромосомных разрывов как маркер гетерозиготности по наследственному паракератозу. Он же сообщил о высокой частоте тетраплоидных клеток у 24 телят

с врожденными аномалиями центральной нервной системы и у 25 телят – носителей синдрома общей карликовости.

Анализ частоты хромосомных aberrаций у быков, различающихся по уровню перинатальной смертности потомства, выявил возрастание смертности потомков у производителей с высокой частотой хромосомных нарушений (коэффициент корреляции +0,46).

У телки черно-пестрой породы с каудоректоурогенитальным синдромом и санкообразностью конечностей был установлен высокий уровень полиплоидии (26,3%). Высокая частота тетраплоидных клеток найдена у теленка с врожденным укорочением шеи. Для телят с врожденной атаксией характерны разрывы и фрагментация хромосом. Выраженную ассоциативность расположения хромосом и мозаицизм по центрическим слияниям хромосом наблюдали у бычков черно-пестрой породы с врожденной деформацией передних конечностей.

Частые перегулы у животных, повторные аборт, рождение мертвого и нежизнеспособного приплода могут быть показаниями для проведения кариотипического анализа у таких особей.

Иногда у животного с высокой частотой aberrантных клеток рождается потомок с той же особенностью. D. Di Berardino описал корову фризской породы с 8% aberrантных клеток (в контроле 3%), у которой родился теленок с врожденным уродством передних конечностей и с 25% aberrантных клеток в кариотипе (разрывы хроматид и хромосом, центрические слияния, хромосомные фрагменты и делеции). По мнению авторов, здесь имела место наследственная передача хромосомной нестабильности.

В некоторых случаях при цитогенетических исследованиях животных с разнообразными врожденными патологиями (паракратозом, аномалиями центральной нервной системы, удвоением лицевой части черепа, атрезией анального отверстия, пропорциональной карликовостью, гигантизмом и другими патологиями) не выявлено каких-либо отклонений от кариотипической нормы.

Представляет интерес изучение вопроса о возможности экстраполяции величин спонтанной хромосомной нестабильности в соматических тканях на зародышевые клетки организма, участвующие в оплодотворении.

Имеющиеся сведения о наличии либо отсутствии параллелизма мутационных процессов, происходящих в клетках

соматической и генеративной тканей, не позволяют пока прийти к определенному мнению на этот счет. В то же время точно установлено, что в половых клетках в 2-3 раза больше числовых и структурных мутаций хромосом в сравнении с клетками крови. Частота aberrаций хромосом в эмбриональной ткани в 2,5-3,2 раза больше, чем в лейкоцитах беременных. В костном мозге больше структурных aberrаций и хромосомных отставаний в анафазе, чем в сперматоцитах. Установлен параллелизм возрастного увеличения мутаций хромосом в гаметах и соматических клетках при старении.

Таким образом, лабильность кариотипа присуща всем организмам независимо от видовой, половой и возрастной принадлежности, а также морфофункционального состояния.

Контрольные вопросы

1. Что такое кариотип? Каковы его особенности у животных разных видов?
2. По каким характеристикам изучают кариотипы?
3. В чем отличие соматических клеток от половых?
4. Назовите диплоидное число хромосом у сельскохозяйственных животных?
5. Чем характеризуется метафазная пластинка?
6. Что такое дифференциальное окрашивание?
7. Расскажите о методе серебрения для ядрышкообразующих районов.

7. Концепция гена

Ген – функциональная единица наследственного материала. Ген (от греч. *genos* – род, происхождение) – участок молекулы геномной нуклеиновой кислоты, характеризуемый специфической для него последовательностью нуклеотидов, представляющий единицу функции, отличной от функций других генов, и способный изменяться путем мутирования от гипотетических дискретных наследственных факторов до локализованных в хромосомах и молекулах ДНК генов. Долгое время ген рассматривали как минимальную часть наследственного материала (генома), обеспечивающую развитие определенного признака у организмов данного вида. Однако каким образом функционирует ген, оставалось неясным. Термин ген предложен В. Иогансенем в 1909 г., однако проникновение в его сущность связано с именем Г. Менделя, который еще в 1860-х гг. ввел термин «наследственный фактор» и на основе точных экспериментов сделал гениальные обобщения относительно свойств и поведения наследственных факторов при передаче информации от родителей потомкам, которые в последующем легли в основу теории гена. Это следующие фундаментальные свойства наследственных факторов – генов:

1) наличие альтернативных наследственных факторов для развития каждого конкретного признака организма (в современном представлении доминантный и рецессивный аллели гена);

2) парность наследственных факторов, определяющих развитие признака (у диплоидного организма). Существенный вывод: наследуются не признаки, а от родителей к потомкам передаются вместе с гаметой гены. Из этих двух положений был развит принцип аллелизма. Мендель не имел никаких сведений о местонахождении наследственных факторов в клетке, и тем более об их химической природе и механизме влияния на признак, т. е. наследственный фактор в начале двадцатого века выступал как условная единица наследственности.

Дальнейшая конкретизация представлений о гене связана с работами школы американского биолога Т. Х. Моргана. Введя в генетические исследования плодовую мушку-дрозофилу, удалось существенно увеличить разрешающую способность генетического анализа и на основе синтеза генетических и цитологических

представлений доказать существование материальной структуры наследственности – хромосом, в которых локализованы гены. Доказательствами хромосомной локализации генов явились: открытие генов, наследующихся сцеплено с полом (локализация генов в половых хромосомах, X или Y); сцепленное наследование группы признаков. Было показано наличие определенного числа групп сцепления генов соответственно гаплоидному числу хромосом конкретного биологического вида. Кроме того, были получены генетические и цитологические доказательства кроссинговера – обмена генами между гомологичными хромосомами, приводящего к рекомбинации генов. Величина генетической рекомбинации (процент кроссинговера-перекреста) отражает расстояние между генами одной группы сцепления: чем дальше отстоят друг от друга гены, тем больше процент кроссинговера. Таким образом было доказано, что гены в хромосоме располагаются в линейном порядке, и каждый ген имеет свое определенное местоположение – локус. Соответственно открылась возможность построения плана взаимного расположения в хромосоме известных генов с указанием относительных расстояний между ними, выраженных в процентах перекреста (генетические карты) и идентифицировать местоположение гена в хромосоме (цитологические карты).

В 1945 г. Дж. Бидлом и Э. Татумом была сформулирована гипотеза, которую можно выразить формулой «Один ген – один фермент». Согласно этой гипотезе, каждая стадия метаболического процесса, приводящая к образованию в организме (клетке) какого-то продукта, катализируется белком-ферментом, за синтез которого отвечает один ген. Позднее было показано, что многие белки имеют четвертичную структуру, в образовании которой принимают участие разные пептидные цепи. Поэтому формула, отражающая связь между геном и признаком, была несколько преобразована: «Один ген – один полипептид».

Изучение химической организации Э. Чаргаффом наследственного материала и процесса реализации генетической информации привело к формированию представления о гене как о фрагменте молекулы ДНК, транскрибирующемся в виде молекулы РНК, которая кодирует аминокислотную последовательность пептида или имеет самостоятельное значение (тРНК и рРНК). Также ценные сведения о структуре ДНК дали результаты рентгеноструктурного анализа. Рентгеновские лучи, проходя через

кристалл ДНК, претерпевают дифракцию, т.е. отклоняются в определенных направлениях. Степень и характер отклонения зависят от структуры самой молекулы. Рентгенограммы позволили выявить в ДНК 3 главных периода: 0,34, 2 и 3,4, которые оказались размерами в модели ДНК, предложенной Дж. Уотсоном и Ф. Криком. 0,34 нм – расстояние между последовательными нуклеотидами, 2 нм – толщина цепи, 3,4 нм – расстояние между последовательными витками спирали. В конце двадцатых годов советские генетики

А. С. Серебровский и Н. П. Дубинин экспериментально показали, что ген не является единицей мутации, что он имеет сложную структуру: состоит из нескольких субъединиц, способных самостоятельно мутировать (ступенчатый аллелизм, или центровая теория гена). Весь ген (базиген) может состоять из отдельных центров, трансгенов, каждый из которых несет сходную функцию. Мутация может нарушать деятельность одного из трансгенов, не затрагивая других. Несколько позже идея о сложном строении гена была подкреплена экспериментами по внутригенному кроссинговеру на дрозофиле по локусам *lozenge*, *white* и др. (работы Э. Льюиса, М. Грина и др.). Таким образом, к 1950 г. ген представлялся как участок хромосомы, контролирующий развитие определенного признака, имеющий определенную линейную протяженность и способный мутировать в разных участках и быть разделенным кроссинговером. Ген комплексен, так как его отдельные участки могут различаться по функциям, и в их совместной деятельности существует определенная субординация.

Ген представляет собой последовательность нуклеотидов ДНК размером от нескольких сотен до миллиона пар нуклеотидов, в которых закодирована генетическая информация о первичной структуре белка (число и последовательность аминокислот). Для регулярного правильного считывания информации в гене должны присутствовать: кодон инициации, множество смысловых кодонов и кодон терминации. Три подряд расположенных нуклеотида представляют собой кодон, который и определяет, какая аминокислота будет располагаться в данной позиции в белке. Например, в молекуле ДНК последовательность оснований ТАС является кодоном для аминокислоты метионина, а последовательность ТТТ кодирует фенилаланин. В молекуле иРНК вместо тимина (Т) присутствует основание урацил (У). Таблица генетического кода во

всех руководствах представлена именно символами иРНК. Из 64 возможных кодонов смысловыми являются 61, а три триплета – УАА, УАГ, УГА – не кодируют аминокислоты и поэтому были названы бессмысленными, однако на самом деле они представляют собой знаки терминации.

Для прокариот характерна относительно простая структура генов. Так, структурный ген бактерии, фага или вируса, как правило, контролирует одну ферментативную реакцию. Специфичным для прокариот является оперонная система организации нескольких генов. Гены одного оперона (участка генетического материала, состоящего из 1, 2 и более сцепленных структурных генов, которые кодируют белки (ферменты), осуществляющие последовательные этапы биосинтеза какого-либо метаболита; в оперон эукариот входит, как правило, 1 структурный ген; оперон содержит регуляторные элементы) расположены в кольцевой хромосоме бактерии рядом и контролируют ферменты, осуществляющие последовательные или близкие реакции синтеза (лактозный, гистидиновый и др. опероны). Структура генов у бактериофагов и вирусов в основном схожа с бактериями, но более усложнена и сопряжена с геномом хозяев. Например, у фагов и вирусов обнаружено перекрывание генов, а полная зависимость вирусов эукариот от метаболизма клетки-хозяина привела к появлению экзон-интронной структуры генов. Эукариотические гены, в отличие от бактериальных, имеют прерывистое мозаичное строение. Кодирующие последовательности (экзоны) перемежаются с некодирующими (интронами). Экзон [от англ. ex(pressi)on – выражение, выразительность] – участок гена, несущий информацию о первичной структуре белка. В гене экзоны разделены некодирующими участками – интронами. Интрон (от лат. inter – между) – участок гена, не несущий информацию о первичной структуре белка и расположенный между кодирующими участками – экзонами. В результате структурные гены эукариот имеют более длинную нуклеотидную последовательность, чем соответствующая зрелая иРНК, последовательность нуклеотидов в которой соответствует экзонам. В процессе транскрипции информация о гене списывается с ДНК на промежуточную иРНК, состоящую из экзонов и интронов. Затем специфические ферменты – рестриктазы – разрезают эту промежуточную иРНК по границам экзон-интрон, после чего экзонные участки ферментативно соединяются вместе, образуя зрелую

иРНК (так называемый сплайсинг). Количество интронов может варьировать в разных генах от нуля до многих десятков, а длина – от нескольких пар оснований до нескольких тысяч.

Ген может кодировать различные РНК-продукты путем изменения иницирующих и терминирующих кодонов, а также альтернативного сплайсинга. Альтернативная экспрессия гена осуществляется и путем использования различных сочетаний экзонов в зрелой иРНК, причем полипептиды, синтезированные на таких иРНК, будут различаться как по количеству аминокислотных остатков, так и по их составу. Наряду со структурными и регуляторными генами обнаружены участки повторяющихся нуклеотидных последовательностей, функции которых изучены недостаточно, а также мигрирующие элементы (мобильные гены), способные перемещаться по геному. Найдены также так называемые псевдогены у эукариот, которые представляют собой копии известных генов, расположенные в других частях генома и лишённые интронов или инактивированные мутациями.

Накопленные знания о структуре, функциях, характере взаимодействия, экспрессии, мутабельности и других свойствах генов породили несколько вариантов классификации генов. По месту локализации генов в структурах клетки различают расположенные в хромосомах ядра ядерные гены и цитоплазматические гены, локализация которых связана с хлоропластами и митохондриями. По функциональному значению различают структурные гены, характеризующиеся уникальными последовательностями нуклеотидов, кодирующих свои белковые продукты, которые можно идентифицировать с помощью мутаций, нарушающих функцию белка, и регуляторные гены – последовательности нуклеотидов, не кодирующие специфические белки, а осуществляющие регуляцию действия гена (ингибирование, повышение активности и др.). По влиянию на физиологические процессы в клетке различают летальные, условно летальные, супервитальные гены, гены-мутаторы, гены-антимутаторы и др.

Следует отметить, что любые биохимические и биологические процессы в организме находятся под генным контролем. Так, деление клеток (митоз, мейоз) контролируется несколькими десятками генов; группы генов осуществляют контроль восстановления генетических повреждений ДНК (репарация). Онкогены и гены-супрессоры опухолей участвуют в процессах нормального деления

клеток. Индивидуальное развитие организма (онтогенез) контролируется многими сотнями генов. Мутации в генах приводят к измененному синтезу белковых продуктов и нарушению биохимических или физиологических процессов. Гомеозисные мутации у дрозофилы позволили открыть существование генов, нормальной функцией которых является выбор или поддержание определенного пути эмбрионального развития, по которому следуют клетки. Каждый путь развития характеризуется экспрессией определенного набора генов, действие которых приводит к появлению конечного результата: глаза, голова, грудь, брюшко, крыло, ноги и т. д. Исследования генов комплекса *bithorax* дрозофилы американским генетиком Льюисом показали, что это гигантский кластер тесно сцепленных генов, функция которых необходима для нормальной сегментации груди (*thorax*) и брюшка (*abdomen*). Подобные гены получили название гомеобоксных. Гомеобоксные гены расположены в ДНК группами и проявляют свое действие строго последовательно. Такие гены обнаружены и у млекопитающих, и они имеют высокую гомологию (сходство).

В процессе реализации наследственной информации, заключенной в гене, проявляется целый ряд его свойств. Определяя возможность развития отдельного качества, присущего данной клетке или организму, ген характеризуется дискретностью действия (от лат. *discretus* – разделенный, прерывистый), прерывностью (интроны и экзоны). Дискретность наследственного материала, предположение о которой высказал еще Г. Мендель, подразумевает делимость его на части, являющиеся элементарными единицами – гены. В настоящее время ген рассматривают как единицу генетической функции. Он представляет собой минимальное количество наследственного материала, которое необходимо для синтеза тРНК, рРНК или полипептида с определенными свойствами. Ген несет ответственность за формирование и передачу по наследству отдельного признака или свойства клеток, организмов данного вида. Кроме того, изменение структуры гена, возникающее в разных его участках, в конечном итоге приводит к изменению соответствующего элементарного признака.

Ввиду того что в гене заключается информация об аминокислотной последовательности определенного полипептида, его действие является специфичным. Однако в некоторых случаях одна и та же нуклеотидная последовательность может детерминировать

синтез не одного, а нескольких полипептидов. Это наблюдается в случае альтернативного сплайсинга у эукариот и при перекрывании генов у фагов и прокариот. Очевидно, такую способность следует оценить как множественное, или плейотропное, действие гена (хотя традиционно под плейотропным действием гена принято понимать участие его продукта – полипептида – в разных биохимических процессах, имеющих отношение к формированию различных сложных признаков). Определяя возможность транскрибирования мРНК для синтеза конкретной полипептидной цепи, ген характеризуется дозированнойностью действия, т.е. количественной зависимостью результата его экспрессии от дозы соответствующего аллеля этого гена. Примером может служить зависимость степени нарушения транспортных свойств гемоглобина у человека при серповидно-клеточной анемии от дозы аллеля HbS. Наличие в генотипе человека двойной дозы этого аллеля, приводящего к изменению структуры β -глобиновых цепей гемоглобина, сопровождается грубым нарушением формы эритроцитов и развитием клинически выраженной картины анемии вплоть до гибели. У носителей только одного аллеля HbS при нормальном втором аллеле лишь незначительно изменяется форма эритроцитов и анемия не развивается, а организм характеризуется практически нормальной жизнеспособностью.

Контрольные вопросы

1. Что такое ген в современном понимании?
2. Назовите свойства, присущие гену.
3. Каким образом сохраняется наследственная информация?
4. Какова структура генов?
5. Какова роль экзонов, интронов?
6. Что такое ступенчатый аллелизм?

8. Пути реализации генетической информации

Химическую структуру ДНК расшифровали в 1953 г. американский биохимик Дж. Уотсон и английский физик Ф. Крик.

Общая структура ДНК. Молекула ДНК состоит из 2 цепей, которые закручены в спираль одна вокруг другой и вокруг общей оси (рис. 8.1). Молекулы ДНК могут содержать от 200 до 2×10^8 пар нуклеотидов. Вдоль спирали молекулы ДНК соседние нуклеотиды располагаются на расстоянии 0,34 нм друг от друга. Полный оборот спирали включает 10 пар нуклеотидов. Его длина составляет 3,4 нм.

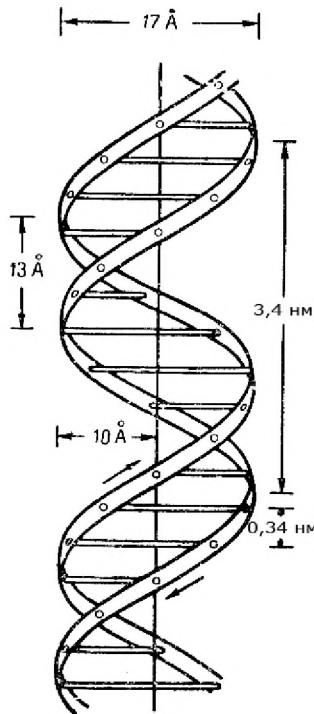


Рис. 8.1. Схема строения ДНК (двойная спираль)

Полимерность молекулы ДНК. Молекула ДНК – биополимер состоит из сложных соединений – нуклеотидов.

Строение нуклеотида ДНК. Нуклеотид ДНК состоит из 3 звеньев: одно из азотистых оснований (аденин, гуанин, цитозин, тимин); дезоксирибоза (моносахарид); остаток фосфорной кислоты.

Различают 2 группы азотистых оснований:

- пуриновые – аденин (А), гуанин (Г), содержащие два бензольных кольца;
- пиримидиновые – тимин (Т), цитозин (Ц), содержащие одно бензольное кольцо.

В состав ДНК входят следующие виды нуклеотидов: адениновый (А); гуаниновый (Г); цитозинный (Ц); тиминный (Т). Названия нуклеотидов соответствуют названиям азотистых оснований, входящих в их состав: адениновый нуклеотид – азотистое основание аденин; гуаниновый нуклеотид – азотистое основание гуанин; цитозинный нуклеотид – азотистое основание цитозин; тиминный нуклеотид – азотистое основание тимин.

Соединение двух цепей ДНК в одну молекулу. Нуклеотиды А, Г, Ц и Т одной цепи соединены соответственно с нуклеотидами Т, Ц, Г и А другой цепи водородными связями. Между А и Т формируется две водородные связи, а между Г и Ц – три водородные связи ($A=T$, $G\equiv C$).

Пары оснований (нуклеотидов) А – Т и Г – Ц называют комплементарными, т. е. взаимно соответствующими. Комплементарность – это химическое и морфологическое соответствие нуклеотидов друг другу в парных цепочках ДНК.

Цепи в молекуле ДНК антипараллельны, т. е. направлены в противоположные стороны, так что 3'-конец одной цепи располагается напротив 5'-конца другой цепи. Генетическая информация в ДНК записана в направлении от 5' конца к 3' концу. Эта нить называется смысловой ДНК, поскольку здесь расположены гены. Вторая нить – 3'/5' служит эталоном хранения генетической информации.

Соотношение между числом разных оснований в ДНК установлено Э. Чаргафтом, который выявил, что у ДНК различных видов количество аденина равно количеству тимина, а количество гуанина – количеству цитозина.

Правило Э. Чаргаффа:

- в молекуле ДНК количество А (адениновых) нуклеотидов всегда равно количеству Т (тиминовых) нуклеотидов или отношение

$$\frac{\Sigma A}{\Sigma T} = 1;$$

- сумма Г (гуаниновых) нуклеотидов равна сумме Ц (цитозин-
новых) нуклеотидов или отношение

$$\frac{\Sigma Г}{\Sigma Ц} = 1;$$

- сумма пуриновых оснований (А+Г) равна сумме пиримиди-
новых оснований (Т+Ц) или отношение

$$\frac{\Sigma(A+Г)}{\Sigma(T+Ц)} = 1.$$

Способ синтеза ДНК – репликация. Репликация – это процесс самоудвоения молекулы ДНК, осуществляемый в ядре под контролем ферментов. Самоудвоение молекулы ДНК происходит на основе комплементарности – строгого соответствия нуклеотидов друг другу в парных цепочках ДНК. В начале процесса репликации молекула ДНК раскручивается (деспирализуется) на определенном участке, при этом освобождаются водородные связи (рис. 8.2).

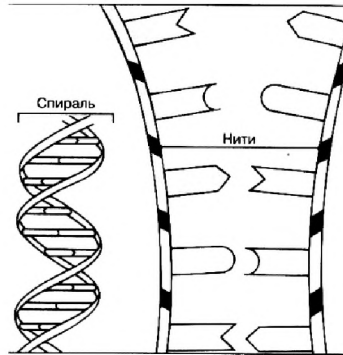


Рис. 8.2. Деспирализация молекулы ДНК с помощью фермента

На каждой из цепей, образовавшихся после разрыва водородных связей, при участии фермента ДНК-полимераза, синтезируется дочерняя цепь ДНК. Материалом для синтеза служат свободные нуклеотиды, содержащиеся в цитоплазме клеток. Эти нуклеотиды выстраиваются комплементарно нуклеотидам двух материнских цепей ДНК. Фермент ДНК-полимераза присоединяет комплементарные нуклеотиды к матричной цепи ДНК. Например, к нуклеотиду А матричной цепи полимераза присоединяет нуклеотид Т и,

соответственно, к нуклеотиду Г – нуклеотид Ц. Сшивание комплементарных нуклеотидов происходит с помощью фермента ДНК-лигазы. Так путем самоудвоения синтезируются две дочерние цепи ДНК (рис. 8.3).

Образовавшиеся две молекулы ДНК из одной молекулы ДНК представляют собой полуконсервативную модель, поскольку состоят из старой материнской и новой дочерней цепей и являются точной копией материнской молекулы. Биологический смысл репликации заключается в точной передаче наследственной информации от материнской молекулы к дочерней.

Фермент ДНК-полимераза может двигаться вдоль цепи ДНК только в направлении от 3'-конца к 5'-концу. Поскольку комплементарные цепи в молекуле ДНК направлены в противоположные стороны, и фермент ДНК-полимераза может двигаться вдоль цепи ДНК только в этом направлении, то и синтез новых цепей идет антипараллельно (по принципу антипараллельности).

Место локализации ДНК. ДНК содержится в ядре клетки, в матриксе митохондрий и хлоропластов.



Рис. 8.3. Репликация – образование двух молекул ДНК из одной молекулы ДНК:

1 – дочерняя молекула ДНК; 2 – материнская (родительская) молекула ДНК

Функции ДНК:

- Хранение и передача ряду поколений генетической информации молекулам и РНК;

- Структурная. ДНК является структурной основой хромосом (хромосома на 40% состоит из ДНК);

- Видоспецифичность ДНК. Нуклеотидный состав ДНК служит критерием вида.

РНК – строение и функции. РНК – линейный биополимер, состоящий из одной полинуклеотидной цепи. Различают первичную и вторичную структуры РНК. Первичная структура представляет собой одноцепочечную молекулу, вторичная структура имеет форму креста и характерна для т-РНК. Полимерность молекулы РНК. Молекула РНК может включать от 70 нуклеотидов до 30 000 нуклеотидов. Нуклеотиды, входящие в состав РНК: адениловый (А), гуаниловый (Г), цитидиловый (Ц), урациловый (У). В составе РНК тиминовый нуклеотид замещен на урациловый (У).

Строение нуклеотида РНК. Нуклеотид РНК включает 3 звена:

- азотистое основание (аденин, гуанин, цитозин, урацил);
- моносахарид – рибоза (в рибозе присутствует кислород при каждом атоме углерода);
- остаток фосфорной кислоты.

Способ синтеза РНК – транскрипция. Транскрипция, как и репликация, – реакция матричного синтеза (рис. 8.4).

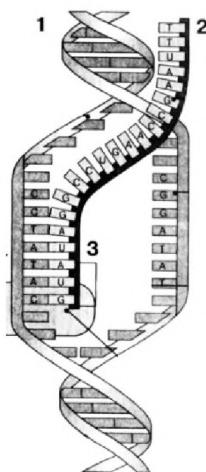


Рис. 8.4. Схема транскрипции:

1 – молекула ДНК (двойная цепочка); 2 – молекула РНК; 3 – кодоны,
4 – промотор

Матрицей является молекула ДНК. Реакция протекает по принципу комплементарности на одной из цепей ДНК. Процесс транскрипции начинается с деспирализации молекулы ДНК на определенном участке. На транскрибируемой цепи ДНК имеется промотор – группа нуклеотидов ДНК, с которой начинается синтез молекулы РНК. К промотору присоединяется фермент РНК-полимеразы. Фермент активизирует процесс транскрипции. По принципу комплементарности достраиваются нуклеотиды, поступающие из цитоплазмы клетки к транскрибируемой цепи ДНК. РНК-полимеразы активизирует выстраивание нуклеотидов в одну цепь и формирование молекулы РНК.

В процессе транскрипции выделяют четыре стадии:

- 1) связывание РНК-полимеразы с промотором;
- 2) начало синтеза (инициация);
- 3) элонгация – рост цепи РНК, т. е. происходит последовательное присоединение нуклеотидов друг к другу;
- 4) терминация – завершение синтеза и-РНК.

В 1972 г. американские ученые – вирусолог Х. М. Темин и молекулярный биолог Д. Балтимор на вирусах в опухолевых клетках открыли обратную транскрипцию. Обратная транскрипция – переписывание генетической информации с РНК на ДНК. Процесс протекает с помощью фермента обратной транскриптазы.

Виды РНК по функции. Информационная, или матричная РНК (и-РНК, или м-РНК), переносит генетическую информацию с молекулы ДНК к месту синтеза белка – в рибосому. Синтезируется в ядре при участии фермента РНК-полимеразы. Она составляет 5% от всех видов РНК клетки. и-РНК включает от 300 нуклеотидов до 30 000 нуклеотидов (самая длинная цепь среди РНК).

Транспортная РНК (т-РНК) транспортирует активированные аминокислоты к месту синтеза белка, – в рибосому. Имеет форму креста и состоит из 70-85 нуклеотидов. Ее количество в клетке составляет 10-15 % РНК клетки. Различные т-РНК содержат от 74 до 93 азотистых оснований, это самые короткие нуклеиновые кислоты; т-РНК напоминают клеверный листок, состоящий из трех петель. Средняя петля несет антикодон, т.е. триплет, взаимодействующий с и-РНК на рибосоме. Противоположный антикодону акцепторный конец т-РНК несет триплет ЦЦА,

к которому прикрепляются активированные аминокислоты. Число т-РНК больше числа аминокислот (рис. 8.5).

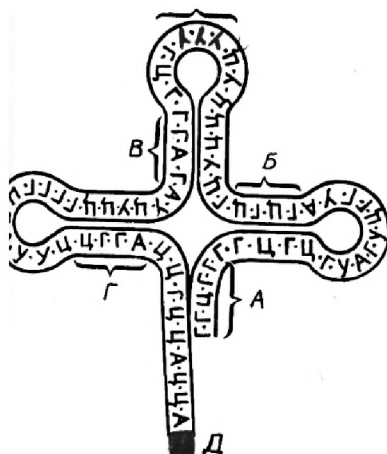


Рис. 8.5 Схема строения т-РНК:

А-Г – пары нуклеотидов, соединенные с помощью водородных связей;
Д – место прикрепления аминокислоты (акцепторный участок)

Рибосомная РНК (р-РНК) синтезируется в ядрышке и входит в состав рибосом. Включает примерно 3000 нуклеотидов. Составляет 85% РНК клетки. Этот вид РНК содержится в ядре, в рибосомах, на эндоплазматической сети, в хромосомах, в матриксе митохондрий, а также в пластидах.

Генетический код. Ген – участок молекулы ДНК, содержащий генетическую информацию о первичной структуре одного определенного белка.

Экзон-интронная структура гена эукариот:

1) промотор – участок ДНК (длиной до 100 нуклеотидов), к которому присоединяется фермент РНК-полимераза, необходимый для осуществления транскрипции;

2) регуляторная зона – зона, влияющая на активность гена;

3) структурная часть гена – генетическая информация о первичной структуре белка.

Последовательность нуклеотидов ДНК, несущая генетическую информацию о первичной структуре белка – экзон. Они также входят в состав и-РНК. Последовательность нуклеотидов ДНК,

не несущая генетическую информацию о первичной структуре белка – интрон. Они не входят в состав и-РНК. В ходе транскрипции с помощью специальных ферментов происходит вырезание копий интронов из и-РНК и сшивание копий экзонов при образовании молекулы и-РНК. Этот процесс называется сплайсинг (рис.8.6).

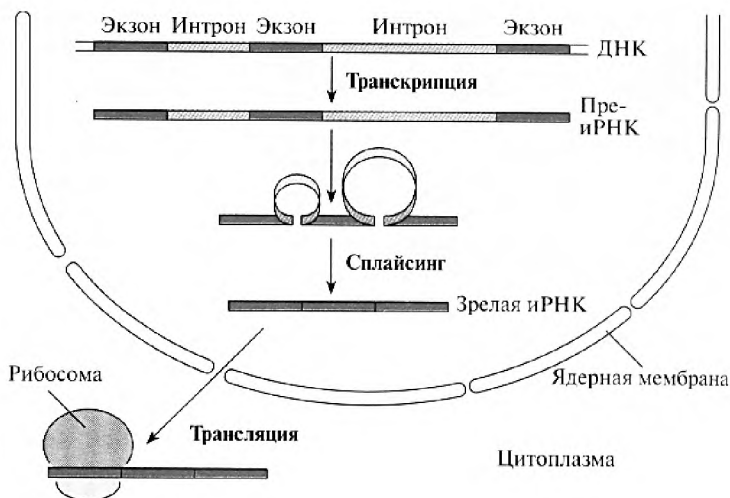


Рис. 8.6. Схема сплайсинга (формирование зрелой и-РНК у эукариот)

Генетический код – система последовательности нуклеотидов в молекуле ДНК, или и-РНК, которая соответствует последовательности аминокислот в полипептидной цепи.

Свойства генетического кода:

1. *Триплетность* (АЦА – ГТГ – ГЦГ...). Генетический код является триплетным, так как каждая из 20 аминокислот кодируется последовательностью трех нуклеотидов (триплетом, кодоном).

Существует 64 вида триплетов нуклеотидов ($4^3 = 64$).

2. *Однозначность* (специфичность). Генетический код является однозначным, так как каждый отдельный триплет нуклеотидов (кодон) кодирует только одну аминокислоту, или один кодон всегда соответствует одной аминокислоте.

3. *Множественность* (избыточность, или вырожденность). Одна и та же аминокислота может кодироваться несколькими

триплетами (от 2 до 6), т. к. белокобразующих аминокислот – 20, а триплетов – 64.

4. *Непрерывность.* Считывание генетической информации происходит в одном направлении, слева направо. Если произойдет выпадение одного нуклеотида, то при считывании его место займет ближайший нуклеотид из соседнего триплета, что приведет к изменению генетической информации.

5. *Универсальность.* Генетический код характерен для всех живых организмов, и одинаковые триплеты кодируют одну и ту же аминокислоту у всех живых организмов.

6. *Имеет стартовые и терминальные триплеты (стартовый триплет – АУГ, терминальные триплеты УАА, УГА, УАГ).*

Эти виды триплетов не кодируют аминокислоты.

7. *Неперекрываемость (дискретность).* Генетический код является неперекрывающимся, так как один и тот же нуклеотид не может входить одновременно в состав двух соседних триплетов. Нуклеотиды могут принадлежать только одному триплету, а если переставить их в другой триплет, то произойдет изменение генетической информации (табл. 4).

Таблица 4

Генетический код					
Основания кодонов					
Первое	Второе	Третье			
		У	Ц	А	Г
У	У	Фен	Фен	Лей	Лей
	Ц	Сер	Сер	Сер	Сер
	А	Тир	Тир	–	–
	Г	Цис	Цис	–	Три
Ц	У	Лей	Лей	Лей	Лей
	Ц	Про	Про	Про	Про
	А	Гис	Гис	Гли	Гли
	Г	Арг	Арг	Арг	Арг
А	У	Иле	Иле	Иле	Мет
	Ц	Тре	Тре	Тре	Тре
	А	Асп	Асп	Лиз	Лиз
	Г	Сер	Сер	Арг	Арг
Г	У	Вал	Вал	Вал	Вал
	Ц	Ала	Ала	Ала	Ала
	А	Асп	Асп	Глу	Глу
	Г	Гли	Гли	Гли	Гли

Примечание: сокращенные названия аминокислот даны в соответствии с международной терминологией.

Биосинтез белка. Биосинтез белка – вид пластического обмена веществ в клетке, происходящий в живых организмах под действием ферментов. Биосинтезу белка предшествуют реакции матричного синтеза (репликация – синтез ДНК; транскрипция – синтез РНК; трансляция – сборка молекул белка на рибосомах). В ходе транскрипции генетическая информация, заключенная в ДНК, находящейся в хромосомах ядра, передается молекуле РНК. По завершении процесса транскрипции и-РНК выходит в цитоплазму клетки через поры в мембране ядра, располагается между 2 субъединицами рибосомы и участвует в биосинтезе белка. *Трансляция* – процесс перевода генетического кода в последовательность аминокислот. Трансляция осуществляется в цитоплазме клетки на рибосомах, которые располагаются на поверхности ЭПС (рис. 8.7, 8.8). Рибосомы – сферические гранулы, диаметром, в среднем, 20 нм, состоящие из большой и малой субъединиц. Молекула и-РНК располагается между двумя субъединицами рибосомы. В процессе трансляции участвуют аминокислоты, АТФ, и-РНК, т-РНК, фермент аминоацил т-РНК-синтетаза.

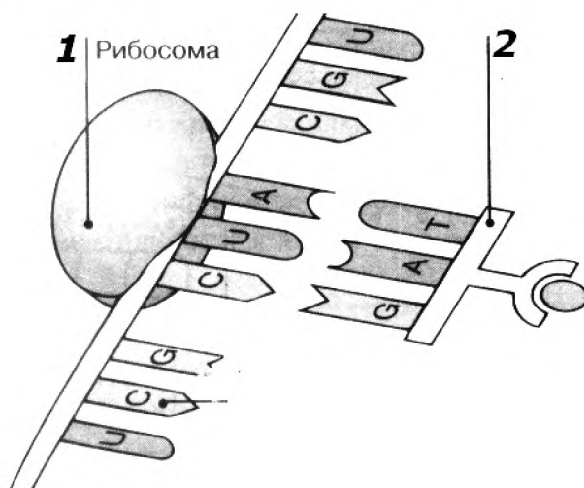


Рис. 8.7. Фаза трансляции: кодон и-РНК притягивается к антикодону т-РНК соответствующими комплементарными нуклеотидами (основаниями):
 1 – кодон и-РНК; кодоны UCG – УЦГ; CUA – ЦУА; CGU – ЦГУ;
 2 – антикодон т-РНК; антикодон GAT – ГАТ

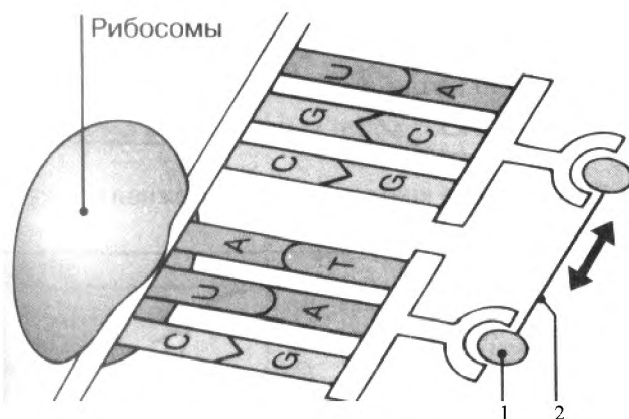


Рис. 8.8. Фаза трансляции. Комплементарность кодона и-РНК и антикодона т-РНК: обе т-РНК принесли аминокислоты и временно соединились с и-РНК. Две аминокислоты соединены с помощью пептидной связи:

1 – т-РНК с присоединенной аминокислотой; 2 – образование пептидной связи между двумя аминокислотами

Кодон – участок молекулы ДНК, или и-РНК, состоящий из трех последовательно расположенных нуклеотидов, кодирующий одну аминокислоту.

Антикодон – участок молекулы т-РНК, состоящий из трех последовательно расположенных нуклеотидов и комплементарный кодону молекулы и-РНК. Кодоны комплементарны соответствующим антикодонам и соединяются с ними с помощью водородных связей.

Синтез белка начинается со стартового кодона АУГ. От него рибосома перемещается по молекуле и-РНК, триплет за триплетом. Аминокислоты поступают по генетическому коду. Встраивание их в полипептидную цепь на рибосоме происходит с помощью т-РНК. Первичная структура т-РНК (цепочка) переходит во вторичную структуру, напоминающую по форме крест, и при этом в ней сохраняется комплементарность нуклеотидов. В нижней части т-РНК имеется акцепторный участок, к которому присоединяется аминокислота. Активизация аминокислоты осуществляется при помощи фермента аминоацил т-РНК-синтетазы. Суть этого процесса состоит в том, что данный фермент взаимодействует

с аминокислотой и с АТФ. При этом формируется тройной комплекс, представленный данным ферментом, аминокислотой и АТФ. Аминокислота обогащается энергией, активизируется, приобретает способность образовывать пептидные связи с соседней аминокислотой. Без процесса активизации аминокислоты полипептидная цепь из аминокислот сформироваться не может.

В противоположной, верхней, части молекулы т-РНК содержится триплет нуклеотидов антикодон, с помощью которого т-РНК прикрепляется к комплементарному ему кодону.

Первая молекула т-РНК, с присоединенной к ней активизированной аминокислотой, своим антикодоном прикрепляется к кодону и-РНК, и в рибосоме оказывается одна аминокислота. Затем прикрепляется вторая т-РНК своим антикодоном к соответствующему кодону и-РНК. При этом в рибосоме оказываются уже 2 аминокислоты, между которыми формируется пептидная связь. Первая т-РНК покидает рибосому, как только отдаст аминокислоту в полипептидную цепь на рибосоме. Затем к дипептиду присоединяется 3-я аминокислота, ее приносит третья т-РНК и т. д. Синтез белка останавливается на одном из терминальных кодонов – УАА, УАГ, УГА (рис. 8.9).

По завершении биосинтеза полипептидная цепочка отделяется от и-РНК и погружается в канал ЭПС, где приобретает вторичную, третичную или четвертичную структуру. Молекула белка, состоящая из 200-300 аминокислот, в бактериальной клетке собирается за 1-2 минуты. Таким образом, трансляция – перевод последовательности кодонов и-РНК в последовательность аминокислот. Она осуществляется благодаря перемещению рибосомы вдоль молекулы и-РНК, а также подбору каждому ее кодону комплементарного антикодона т-РНК, а затем включению в цепь аминокислоты, доставленной т-РНК. Комплекс из и-РНК и рибосом называется полисома. На полисомах и происходит процесс трансляции.

В ходе биосинтеза белка взаимоотношения ДНК, РНК и белка можно показать схематически: репликация ДНК → транскрипция РНК → трансляция → полипептид (белок).

Одним из основных свойств материала наследственности является его способность к самокопированию – *репликация*.

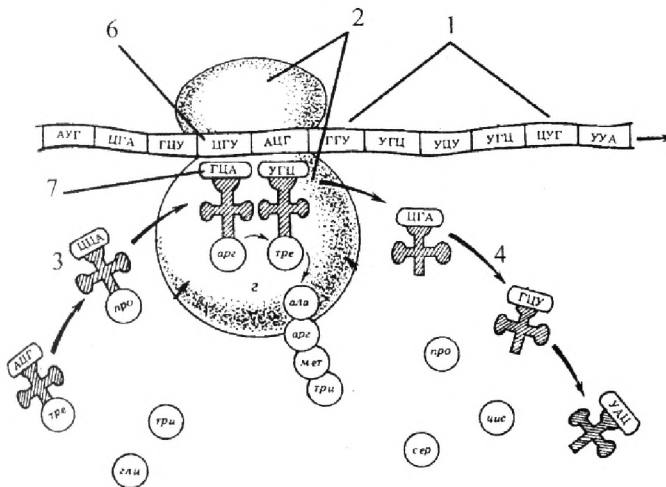


Рис. 8.9. Общая схема биосинтеза белка:

1 – кодоны и-РНК; 2 – малая и большая субъединицы рибосомы; 3 – поступление в рибосому аминокислоты с помощью т-РНК; 4 – высвободившиеся т-РНК (без аминокислоты); 5 – растущая полипептидная цепь; 6 – кодон; 7 – антикодон

Наследственная информация, заложенная в молекулах ДНК, не передается прямо к системе синтеза белка, сначала она переносится на молекулу информационной РНК. Процесс передачи информации с ДНК на и-РНК называется транскрипцией. Транскрипция осуществляется с обязательным присутствием в клетке фермента РНК-полимеразы.

Отмечают три этапа во время синтеза ДНК: *инициацию*, связанную с началом образования полимера из двух мономеров (начало транскрипции); *элонгацию*, которая характеризуется наращиванием полинуклеотидной цепи (наращивание цепи и-РНК), и *терминацию* (окончание транскрипция). На этапе инициации РНК-полимераза прикрепляется к промотору, начинается расплетание молекулы ДНК. Промотор – небольшой участок молекулы ДНК, расположенный в ее начале. Транскрипция идет только на одной из двух нитей молекулы ДНК, ее называют смысловой. После расплетания молекула ДНК оказывается доступной для спаривания с поступающими рибонуклеозидтрифосфатами. Начинается элонгация. РНК-полимераза, продвигаясь по ДНК, обеспечивает образование и-РНК, которое идет строго комплементарно: к аденину

пристраивается урацил, к гуанину – цитозин. Рост и-РНК продолжается в направлении 5'/-3' и начинается с 5' конца. Таким образом, и-РНК несет полную информацию ДНК для синтеза специфического белка.

Процессинг. Сплайсинг. У эукариот при транскрипции вначале образуется про-и-РНК – предшественник зрелой и-РНК. Затем начинается процесс созревания и-РНК (процессинг). В молекуле про-и-РНК имеются два типа участков: экзоны и интроны. *Экзоны* – это кодирующие последовательности гена, несущие информацию о синтезе белка. *Интроны* – некодирующие последовательности и-РНК. В результате процессинга из про-и-РНК вырезаются интроны. Процесс вырезания интронов называют *сплайсингом*. После сплайсинга экзоны соединяются ферментом лигазой. Зрелые и-РНК выходят из ядра и могут присоединяться к рибосоме. Синтез белковых полипептидных цепей из аминокислот происходит на специфических органоидах цитоплазмы – рибосомах. Рибосомы состоят из двух субъединиц, одна из которых имеет участок контакта с и-РНК, а другая – участок, на котором в полипептидную цепь включаются аминокислоты. В биосинтезе белка существенное значение имеют оба этапа перехода генетической информации от гена к структуре полипептидной цепи, то есть транскрипция и трансляция. Синтезированные и-РНК не обязательно сразу используются в качестве матрицы для синтеза белка. Присутствие в цитоплазме долгоживущих РНК позволяет провести грань между транскрипцией – процессом подготовки матрицы для синтеза белка и трансляцией – собственно синтезом белковых нитей по матрице РНК.

Перед синтезом белка в цитоплазме происходит активация аминокислот, которые соединяются с АТФ и затем с соответствующими им т-РНК с помощью ферментов арсаз. Далее происходит трансляция аминокислоты в полипептидную цепь белка. Транспортная РНК соединяется своим антикодоном с соответствующим кодоном и-РНК, аминокислота при таком положении т-РНК оказывается в том месте большой субъединицы рибосомы, где происходит синтез полипептидной цепи. Контакт матрицы РНК в любой момент синтеза возможен только с той т-РНК, антикодон которой комплементарен кодону и-РНК, находящемуся в определенном участке малой субъединицы рибосомы, где такой контакт возможен. Это обеспечивает точность перевода генетической

информации в структуру белковой цепи. После объединения аминокислоты с т-РНК включения ее в растущий полипептид субъединицы рибосомы поворачиваются относительно друг друга вокруг длинной оси рибосомы и выносят триплет и-РНК вместе с т-РНК за пределы рибосомы. На участке контакта и-РНК с т-РНК оказывается очередной кодон. К нему подходит соответствующая т-РНК со своей аминокислотой и происходит включение этой очередной аминокислоты в цепь белка.

Контрольные вопросы

1. Каково биологическое значение ДНК?
2. В чем заключается различие молекул ДНК и РНК?
3. Что такое транскрипция и трансляция?
4. Что такое кодон и антикодон?
5. По какой схеме идет синтез белка?
6. Как в клетке закодирована наследственная информация?

9. Генная инженерия

Генетическая инженерия. Выдающиеся достижения биотехнологии в конце XX в. привлекли внимание к ней всей мировой общественности.

Биотехнология – междисциплинарная область знаний, которая базируется на микробиологии, биологической химии, вирусологии, иммунологии, генетике, инженерных науках и электронике. Важнейшим разделом биотехнологии является генетическая инженерия.

Генетическая инженерия – это конструирование искусственным путем *in vitro* функционально-активных генетических структур (рекомбинантных ДНК) и наследственно измененных организмов. Суть генетической инженерии состоит в целенаправленном конструировании особых гибридных молекул вне организма с последующим их введением в живой организм. При этом рекомбинантные молекулы ДНК становятся составной частью генетического аппарата данного организма. В результате наследственная программа организма изменяется и ему сообщаются новые генетические, биохимические и физиологические свойства. Таким образом, цель генетической инженерии – создание рекомбинантных ДНК, которые придавали бы организму новые для человека свойства. Термин «генетическая инженерия» появился в 1970 г., а генетическая инженерия как самостоятельная дисциплина – в декабре 1972 г., когда П. Берг и сотрудники Стэнфордского университета (США) получили первую рекомбинантную ДНК, состоящую из ДНК вируса SV40 и бактериофага *hdvyl*.

Основные методы исследований генной инженерии. Бурное развитие генетической инженерии связано с разработкой новейших методов исследований, среди которых необходимо выделить следующие:

– *расщепление ДНК (рестрикция)* – необходимо для выделения генов и манипуляций с ними;

– *гибридизация нуклеиновых кислот*, при которой, благодаря их способности связываться друг с другом по принципу комплементарности, можно выявлять специфические последовательности ДНК и РНК, а также совмещать различные генетические

элементы. Используется в полимеразной цепной реакции для амплификации ДНК *in vitro*;

– *клонирование ДНК* – осуществляется путем введения фрагментов ДНК или их групп в быстрореплицирующиеся генетические элементы (плазмиды или вирусы), что дает возможность размножать гены в клетках бактерий, дрожжей или эукариот;

– *определение нуклеотидных последовательностей (секвенирование)* в клонируемом фрагменте ДНК. Позволяет определить структуру генов и аминокислотную последовательность кодируемых ими белков;

– *химико-ферментативный синтез полинуклеотидов* – часто необходим для целенаправленной модификации генов и облегчения манипуляций с ними.

Расщепление ДНК (рестрикция). Выделить ген можно, используя рестрикцию ДНК, которая достигается с помощью специфических ферментов – *рестриктаз*. Рестриктазы представляют собой эндонуклеазы бактериального происхождения, предназначенные для защиты клеток бактерий от чужеродной (вирусной) ДНК. При изучении ДНК большое значение имеют две важные особенности рестриктаз. Первая особенность фермента – узнавание специфических коротких нуклеотидных последовательностей в ДНК. Вторая – существование большого количества различных эндонуклеаз рестрикции, каждая из которых узнает специфическую последовательность. Выделяют три типа рестриктаз. Рестриктазы I типа разрывают цепи ДНК случайным образом на значительном расстоянии от участка узнавания, в результате продукты расщепления оказываются гетерогенными, что затрудняет их использование в генной инженерии.

Рестриктазы II типа являются основным инструментом при конструировании рекомбинантных молекул ДНК и при анализе структуры ДНК. Эти ферменты способны узнавать специфические короткие нуклеотидные последовательности, связываться с ними и делать двухцепочные разрезы по фосфодиэфирным связям или в пределах самого сайта узнавания, или на вполне определенном небольшом расстоянии от него. Эти разрезы могут быть либо симметричными, или несимметричными. В первом случае образуются «тупые концы», а во втором «липкие концы». Рестриктаза EcoRI делает ступенчатые двухцепочные разрезы, при этом образуются «липкие» концы, которые способны спариваться (как бы

слипаться) друг с другом. Фрагменты двух разных ДНК (например, ДНК *E.coli* и дрожжей) могут соединяться с помощью «липких концов». Рестриктазы III типа сходны с ферментами I типа. Они расщепляют ДНК в стороне от сайтов узнавания на расстоянии 24-25 пер нуклеотидов.

В генетической инженерии помимо рестриктаз используют и другие ферменты. Рекомбинантные молекулы ДНК получают объединением *in vitro* сегментов ДНК из различных источников. Для этого используют ДНК-лигазу, способную сшивать фрагменты ДНК как с «липкими», так и с «тупыми концами». В 1964 г. Г. Темин выдвинул гипотезу о существовании специфических для РНК-содержащих ретровирусов ферментов, способных синтезировать ДНК на матрице РНК. Эта РНК-зависимая ДНК-полимераза получила название «обратная транскриптаза», или «ревертаза». В генетической инженерии ревертаза широко используется для целенаправленного синтеза на матричных РНК комплементарных молекул ДНК.

Гибридизация нуклеиновых кислот. Реакцию гибридизации используют в генной инженерии для создания гибридных молекул ДНК, а также метод для выявления определенных последовательностей в ДНК и РНК. При нагревании водного раствора ДНК до 96-100°C и сильного защелочения (рН>13) ДНК диссоциирует на отдельные цепи. Этот процесс *денатурации* ДНК обратим, т.к. если выдержать две изолированные цепи ДНК определенное время при 65°C, то они вновь соединяются, образуя двойную спираль, что называют *ренатурацией* или *гибридизацией*.

Существует два метода конструирования гибридных ДНК: коннекторный и рестриктазно-лигазный. *Коннекторный метод* – создаются условия для гибридизации продуктов рестрикции разных геномов путем наращивания на их концах комплементарных олигонуклеотидных участков. *Рестриктазно-лигазный метод* наиболее прост и популярен в генетической инженерии. В этом методе с использованием одной рестриктазы типа II, дающей фрагменты рестрикции с «липкими концами», гибридизация между фрагментами хромосомной ДНК и ДНК-плазмидой осуществляется без дополнительной процедуры наращивания комплементарных концов. После окончания гибридизации остается только сшить полинуклеотидные фрагменты с помощью ДНК-лигазы.

Клонирование ДНК. Клон вируса или клеток – это некая популяция, каждый член которой ведет происхождение от одного репродуцирующегося вириона или от одной клетки, соответственно. Все члены клона идентичны вирусу или клетке, которые дали началу клона. С помощью клонирования получают чистый препарат одного генома, т.к. у всех клонов идентичные ДНК.

В основе молекулярного клонирования лежит встраивание нужного фрагмента ДНК (вставки) в другую молекулу ДНК (вектор). В качестве вектора чаще всего используют бактериальные плазмиды, бактериофаги и вирусы. Плазмиды – это кольцевые молекулы двухцепочной ДНК, встречающиеся в клетках бактерий и дрожжей, где они реплицируются в процессе пролиферации клеток. Обычный размер плазмиды – 3-10 тыс. нуклеотидных пар. Если на клетки подействовать антибиотиком *хлорамфениколом*, то число копий плазмиды возрастет в них от нескольких штук до 3000. При этом увеличивается доза нужного гена, что позволяет получать вставленный в плазмиду ген в больших количествах. В плазмиду можно вставлять фрагменты чужеродной ДНК размером не более 10-15 тыс. пар нуклеотидов. Когда необходимо клонировать более крупные фрагменты ДНК, используют векторы на основе умеренного бактериофага *h*. Он очень пластичен и в него можно встраивать до 23 тыс. нуклеотидных пар. Другим типом вектора являются *космиды* – полученные путем объединения небольших фрагментов бактериофага *h* и плазмид. В них включают вставки длиной в 35-40 тыс. пар нуклеотидов.

С помощью космид и всех других векторов гены вводятся в бактериальные клетки, но бактериальные плазмиды не размножаются в животной клетке. В качестве векторов животных и человека используются различные вирусы. Вектор на основе вируса вводит в клетку до 100 тыс. молекул генов. Применяют векторы на основе вирусов папилломы, герпеса, осповакцины, и адено- и ретровирусов. В структуре ретровируса имеются длинные концевые повторы на концах молекулы ДНК-вируса. Эти повторы и дают возможность гибридной молекуле встроиться в хромосому клетки-хозяина.

Ферменты генетической инженерии – это ферменты, позволяющие проводить различные манипуляции с молекулами ДНК: разрезать в определенных местах, соединять различные по происхождению фрагменты, синтезировать новые, не существующие в

природе последовательности, и т.д. Рассмотрим основные ферменты генетической инженерии.

ДНК-полимеразы. Одним из наиболее часто используемых в генетической инженерии ферментов является ДНК-полимераза I, выделенная из *E. coli* или фага T₄. ДНК-полимераза I обладает способностью удлинять цепь ДНК в направлении 5→3 путем присоединения комплементарного нуклеотида. Это свойство ДНК-полимераз используется в генной инженерии для построения второй комплементарной цепи: при добавлении фермента к одноцепочечной ДНК-матрице в присутствии праймера произойдет ее удвоение. ДНК-полимераза применяется также для заполнения «бреши» в цепи ДНК, например, при застраивании фрагментов с выступающими 5 концами. Экзонуклеазная активность ДНК-полимераз используется для введения радиоактивной метки во фрагмент ДНК.

Использование специфических термостабильных ДНК-полимераз – *Tth*- и *Taq*-полимераз – выделенных из бактерий, живущих в гейзерах, позволило проводить *амплификацию* – множественную наработку любого фрагмента ДНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Метод ПЦР, в основу которого положена *Taq*-полимераза, не только упростил некоторые старые методики генной инженерии, но и позволил проводить молекулярное маркирование как отдельных генов, так и целых геномов.

ДНК-лигаза осуществляет одну функцию – соединение фрагментов ДНК путем восстановления фосфодиэфирных связей между соединениями нуклеотидами. Этот процесс называется лигированием. Наиболее часто для лигирования в генной инженерии используют ДНК-лигазу фага T₄. С помощью лигазы T₄ соединяют любые фрагменты ДНК с любыми концами: «липкими» или «тупыми». Это один из наиболее часто используемых ферментов.

Нуклеазы – это большая группа ферментов, катализирующих реакцию гидролиза молекул нуклеиновых кислот. В результате действия нуклеаз молекула ДНК или РНК распадается на фрагменты или отдельные нуклеотиды. Исходная функция нуклеаз в клетке – деградация ненужных в данный момент жизнедеятельности молекул (например, деградация м-РНК после трансляции) и защита от чужеродных молекул нуклеиновых кислот (расщепление фаговой ДНК бактериальными нуклеазами при заражении бактерии фагом).

Нуклеазы по типу их действия можно поделить на группы. Нуклеазы могут действовать только на молекулы и ДНК, и РНК одновременно (нуклеаза золотистой фасоли). Нуклеазы избирательно могут действовать на одноцепочечную (нуклеаза S_1), или двуцепочечную (экзонуклеаза III) молекулы ДНК, или на гибридную ДНК – РНК-молекулу (рибонуклеаза H). Кроме того, нуклеазы можно разделить на два типа: на *экзонуклеазы* и *эндонуклеазы*. Экзонуклеазы обычно гидролизуют молекулы с 5'-или 3'-свободных концов, а эндонуклеазы могут расщеплять внутри последовательности фрагмента или кольцевой молекулы ДНК.

Рестриктазы. Отдельную группу, особенно с утилитарной точки зрения ее применения в генной инженерии, представляют специфические эндонуклеазы – *рестриктазы*.

В основе метода, позволившего непосредственно приступить к манипуляциям с генами, лежит открытие ферментов, названных рестрикционными эндонуклеазами (рестриктазами). Еще в 1953 г. было обнаружено, что ДНК определенного штамма *E. Coli*, введенная в клетки другого штамма (например, ДНК штамма В в клетки штамма С), не проявляет, как правило, генетической активности, так как быстро расщепляется на фрагменты ДНК-специфическими ферментами – рестриктазами. К настоящему времени из разных микроорганизмов выделено более тысячи различных рестриктаз. В генетической инженерии наиболее широко используются коло 200.

Рестриктазы представляют собой особый класс эндонуклеаз, которые гидролизуют ДНК строго по определенным специфическим последовательностям, называются *сайтами рестрикции*. Каждая из рестриктаз узнает свой сайт рестрикции и разрезает ДНК либо внутри последовательности сайта рестрикции, либо в непосредственной близости от него. Таким образом, при действии конкретной рестриктазы одна и та же последовательность ДНК будет всегда образовывать одинаковый набор фрагментов. Обозначение рестриктаз складывается из начальных букв латинского названия вида бактерий, из которого был выделен фермент, и дополнительного обозначения, так как из бактерий одного вида может быть выделено несколько различных рестриктаз:

Eschrichia coli – *EcoRI*, *EcoRV*.

Haemophilus influenzae – *Hinf I*.

Streptomices albus – *Sal I*.

Рекомбинантная ДНК – это искусственно полученная молекула ДНК. Она имеет форму кольца, включает ген, составляющий объект генетических манипуляций, и так называемый **вектор**, обеспечивающий размножение рекомбинантной ДНК и синтез в клетке хозяина определенного продукта, кодируемого внесенным геном. Векторами являются те компоненты рекомбинантных ДНК, которые способны акцептировать чужеродные гены и обеспечить их репликацию в клетках хозяина. Векторы должны обладать следующими особенностями: иметь свойства репликона; нести субстратные участки для рестриктаз, иначе невозможна встройка ДНК; содержать один или несколько маркирующих генов, чтобы по фенотипу можно было определить факт его передачи.

В основе молекулярного клонирования лежит встраивание нужного фрагмента ДНК (вставки) в другую молекулу ДНК (вектор), которая способна переносить в клетку чужеродную ДНК и обеспечивать там ее амплификацию. В качестве векторов чаще всего используют бактериальные плазмиды, бактериофаги и вирусы животных. Плазмиды представляют собой кольцевые молекулы двухцепочной ДНК, встречающиеся в клетках бактерий и дрожжей, где они реплицируются в процессе пролиферации клеток как самостоятельные единицы.

При работе с *E.coli* чаще всего используют плазмиду PBR322. Этот вектор был сконструирован с помощью классических генетических методов (*in vivo*) и методов, применяемых при работе с рекомбинантными ДНК, и имеет многие свойства идеального плазмидного вектора для клонирования. Установлена полная нуклеотидная последовательность этого вектора. Обычный размер плазмиды – 3-10 тыс. нуклеотидных пар. Некоторые плазмиды обладают еще одной очень важной особенностью: если на клетки, в которых содержится этот вектор, подействовать антибиотиком хлорамфениколом, то число копий плазмиды в них возрастет от нескольких штук до 3000. При этом увеличивается доза нужного гена, что позволяет получать вставленный в плазмиду ген в больших количествах. В плазмиду можно вставлять фрагменты чужеродной ДНК размером не более 10-15 тыс. пар нуклеотидов.

Когда нужно клонировать более крупные фрагменты ДНК, удобнее использовать векторы на основе умеренного бактериофага λ . Молекула ДНК фага λ содержит область начала репликации, а также гены структурных вирусных белков и ферментов,

участвующих в репликации ДНК, лизисе инфицированных клеток и установлении лизогении. Данный фаг очень пластичен: без нарушения развития фага из него можно убрать до 25% ДНК или пристроить до 6% лишней ДНК. В этот фаговый вектор можно встраивать до 23 тыс. нуклеотидных пар.

Плазмиды и бактериофаги – наиболее часто используемые векторы. Но существуют другие типы векторов, и прежде всего это *космиды* – векторы, полученные путем объединения небольших фрагментов бактериофага λ и плазмид. Они содержат гены, позволяющие им размножаться в бактерии, ген устойчивости к тетрациклину и особый участок ДНК из бактериофага λ под названием «cos», который содержит все необходимое для упаковки рекомбинантной ДНК в белковую головку фага. Космиды позволяют получать гибридные молекулы с длиной вставки в 35-40 тыс. пар нуклеотидов.

С помощью космид и других векторов гены вводят в бактериальные клетки. Для клеток животных и человека они непригодны. Дело в том, что молекулярные механизмы реализации генетической информации у прокариот и эукариот различны, и бактериальная плаزمид не способна размножаться в животной клетке.

В генетической инженерии используют реакцию гибридизации для создания гибридных молекул ДНК и для выявления последовательностей нуклеотидов в ДНК и РНК.

Водный раствор ДНК нагревают до +96°C при pH>13,0 (сильная щелочь). ДНК диссоциирует на отдельные цепи – это денатурация ДНК. Процесс этот обратим, если две изолированные цепи ДНК выдержать определенное время при температуре +65°C, то они вновь спариваются, образуя двойную цепь (спираль) – это называется ренатурация или гибридизация (отжиг). Гибридизация идет в том случае, если цепи имеют комплементарные последовательности нуклеотидов. Она идет между одинарными цепями ДНК или РНК. В результате образуются дуплексы разного состава: ДНК:ДНК; РНК:РНК; ДНК:РНК.

Для проведения гибридизации или конструирования гибридных ДНК используют рДНК, полученные двумя методами:

1. Коннекторный метод. Получают фрагменты ДНК путем рестрикции разных геномов. К фрагментам, путем наращивания к концам, присоединяют комплементарные олигонуклеотидные участки. Гибридизация (отжиг) этих фрагментов

с олигонуклеотидными участками ведет к образованию гибридных молекул ДНК. В этом методе используют 3 фермента: 5'-экзонуклеазу, терминальную нуклеотидилтрансферазу (термиальная трансфераза) и ДНК-лигазу.

2. Рестриктазно-лигазный метод наиболее прост и популярен в генетической инженерии. В этом методе используется одна рестриктаза II типа, дающая фрагмент с липкими концами. Гибридизация между фрагментами хромосомной ДНК и ДНК-плазмидной осуществляется без дополнительного наращивания комплементарных концов. После гибридизации концы полинуклеотидных фрагментов сшиваются ДНК-лигазой.

Гибридизацию используют для нахождения числа определенных нуклеотидных последовательностей (генов) в ДНК. Для этой цели применяют ДНК-зонды – радиоактивные фрагменты ДНК, меченые с известной нуклеотидной последовательностью или химически меченые зонды, при синтезе которых используют нуклеотиды, содержащие боковую цепь биотина, которую после гибридизации окрашивают стрептовидином. Зонд гибридизируется только с теми фрагментами, которые содержат гомологичную ему последовательность ДНК. Фрагменты, с которыми связалась метка, выявляют радиоавтографией. По полученным на радиоавтографе полосам судят о присутствии анализируемого фрагмента в геноме, изменениях в последовательности (инверсии), а по интенсивности определяют число копий гена в геноме.

Блоттинг-гибридизация. Для выявления определенных нуклеотидных последовательностей в смеси рестрикционных фрагментов ДНК используется гибридизация – блоттинг (blot – промокать). Например, присутствие чужеродного гена в геноме трансгенных растений, копийность гена, изменение нуклеотидной последовательности и т.д. Анализ ДНК блот-гибридизацией основан на идентификации определенных фрагментов ДНК путем их гибридизации со специфическими мечеными зондами. Он состоит из следующих этапов:

- рестрикция ДНК;
- перенос рестрицированных фрагментов из геля на нейлоновый фильтр и их иммобилизация;
- гибридизация с меченым зондом.

Высокомолекулярную хромосомную ДНК расщепляют одной или несколькими рестриктазами. Фрагменты разделяют

электрофорезом в агарозном геле и на предварительно денатурированный (0,4М NaOH) гель помещают лист нейлонового фильтра. Фильтр покрывают слоями фильтровальной бумаги. Под действием капиллярных сил ДНК-фрагменты переносятся на фильтр и связываются с ним (иммобилизуются). Электрофорез позволяет разделить до 500 фрагментов, отличающихся по размеру всего на один нуклеотид. Такой перенос и называется блоттинг. В результате на фильтре получается отпечаток с геля (реплика). Затем фильтр помещают в раствор с меченым зондом (ДНК-зонды – радиоактивные фрагменты ДНК с известной нуклеотидной последовательностью). Метку в зонд вводят методом НИК-трансляции. Это метод, который позволяет выявить один-единственный ген в клетке. Так выявляют уникальные гены, а также гены, представленные в геноме сотнями копий.

Полимеразно-цепная реакция (ПЦР). Метод был предложен К. Мюллисом (США) в 1983 г. Этим методом увеличивают число копий фрагментов ДНК и РНК (до миллионов), даже если они присутствуют в препарате в виде одной молекулы, за счет амплификации (распространение, увеличение) *in vitro*.

Вся ПЦР осуществляется с использованием ДНК-полимеразы и олигонуклеотидных праймеров комплементарных двум 3'-концам участков, ограничивающих амплифицирующей дуплексный участок (сегмент). Для этого надо знать нуклеотидную последовательность того участка, который необходимо амплифицировать, чтобы можно было синтезировать соответствующие олигонуклеотидные праймеры.

В ПЦР используют термоустойчивую ДНК-полимеразу из термофильной бактерии *Thermus aquaticus* (Таг-полимераза), которая в присутствии всех четырех нуклеотидов и коротких 20-30-членных затравок осуществляет синтез комплементарных последовательностей.

Реакция ПЦР цикличная, каждый цикл амплификации состоит из трех этапов.

1. Денатурация. Двухцепочечную ДНК-матрицу нагревают до +93-95°C на 0,5-2 мин, чтобы цепи ДНК разошлись. Эта стадия называется денатурацией, так как разрушаются водородные связи между двумя цепями ДНК. Обычно, перед первым циклом проводят длительный прогрев реакционной смеси в течение 2-5 мин для полной денатурации матрицы и праймеров.

2. Отжиг (гибридизация праймеров на ДНК при +64°C). Когда цепи разошлись, температуру понижают, чтобы праймеры могли связаться с одноцепочечной матрицей. Эта стадия называется отжигом. Температура отжига зависит от состава праймеров и обычно выбирается равной температуре плавления праймеров.

Праймеры подбирают так, что они ограничивают (фланкируют) искомый фрагмент и комплементарны противоположным цепям ДНК.

Отжиг происходит в соответствии с правилом комплементарности Чаргаффа, означающим, что в двухцепочечной молекуле ДНК напротив аденина всегда находится тимин, а напротив гуанина – цитозин. Если это условие не соблюдено, то отжига праймеров не происходит.

После отжига праймеров Таq-полимераза начинает достраивание второй цепи ДНК с 3'-конца праймера.

3. Элонгация (синтез). На третьем этапе температуру в реакционной смеси доводят до оптимума работы Таq-полимеразы (+75°C), и начинается синтез комплементарной цепи ДНК.

При многократном повторении циклов нагревания и охлаждения проб число копий фрагментов ДНК увеличивается по экспоненте.

Повторяя циклы 30-40 раз за 1-1,5 часа получают миллионы копий фрагментов ДНК ПЦР, что имеет важное значение при определении характера мутации.

Одним из важных направлений клеточной инженерии является гибридизация соматических клеток. Сущность ее заключается в соединении клеток с хромосомными наборами систематически далеких форм. Впервые гибриды соматических клеток обнаружил в 1960 г. французский биолог Ж. Барский. В культуре ткани клеток двух линий мышей он выявил третий тип клеток. Клетки эти оказались гибридными, они содержали хромосомы клеток обеих исходных линий. Морфологические и биохимические признаки гибридных клеток были промежуточными между признаками исходных. Спонтанное слияние клеток наблюдается редко. В связи с этим разработана техника гибридизации соматических клеток с использованием вируса Сендай. Этот вирус инактивируют лучами ультрафиолета или алкилирующим мутагеном. Инактивированный вирус вносят в смешанную культуру двух типов клеток. Некоторые клетки при этом сливаются с образованием одной

с двумя ядрами. После митотического деления их двухъядерной клетки формируются две одноядерные гибридные соматические клетки. В каждой гибридной клетке содержится по одному набору хромосом каждого типа родительских клеток.

Соматическая гибридизация может быть использована для картирования хромосом, а также для изучения регуляции действия генов, дифференцировки клеток в онтогенезе и механизма взаимодействия ядра и цитоплазмы.

Трансгенез – экспериментальный перенос генов, выделенных из определенного генома или искусственно синтезированных, в другой геном. Животные, в геном которых интегрируют чужеродные гены, называют трансгенными. В ряде исследований было установлено, что мыши, развивающиеся из зиготы, в которую была введена чужеродная ДНК, содержат в своем геноме фрагменты этой ДНК, а иногда у них происходит и экспрессия чужеродных генов. В 1980 г. Дж. Гордон впервые показал возможность трансформации мыши путем введения в пронуклеус оплодотворенной яйцеклетки мыши рекомбинантных молекул, содержащих ген тимидинкиназы (ген ТК) вируса герпеса. Лучшие результаты были получены при микроинъекции рекомбинантной ДНК в мужской более крупный пронуклеус. Успешные опыты с мышами способствовали проведению работ по получению трансгенных кроликов и сельскохозяйственных животных. Схема получения трансгенных животных в основном такая же, как и при работе с мышами. Она состоит из следующих этапов: выбор, получение и клонирование чужеродного гена; получение зигот и выявление пронуклеусов; микроинъекция определенного числа копий генов в видимый пронуклеус; трансплантация зиготы в половые пути гормонально подготовленной самки; оценка родившихся животных по генотипу и фенотипу: интеграция чужеродной ДНК, экспрессия ДНК, влияние на признак (например, высокая интенсивность роста), установление наследования гена.

При работе с крупным рогатым скотом, для того чтобы обнаружить пронуклеусы, применяют ДНК-специфические флуоресцентные окраски и центрифугирование зигот. В 1987 г. родился первый трансгенный теленок молочно-мясного типа.

В перспективе предполагается получение трансгенных животных для производства новых продуктов, которые будут

производить в промышленном масштабе, если они будут полезны с медицинской точки зрения.

Химерное животное (аллофенное животное) – это составное животное. Сущность метода получения химер заключается в искусственном объединении эмбриональных клеток двух и более животных. Животные могут быть как одной породы, так и разных пород и даже разных видов. Современная микрохирургия позволяет получать химер, имеющих 3-4 и более родителей. Химеры обладают признаками животных разных генотипов.

Существует два основных метода получения химер искусственным путем: *агрегационный* – объединение двух и более морул или бластоцист в один эмбрион; *инъекционный* – микроинъекция клеток внутриклеточной массы (ВКМ) бластоцисты доноров в бластоцель эмбриона-реципиента. В обоих случаях получают особей, ткани и органы которых построены их клонов клеток объединенных эмбрионов. Первыми созданы химеры лабораторных мышей между линиями агути (кремовые) и не агути (черные), они выглядели крапчатыми.

Несмотря на это, при усовершенствовании методов получения химер, они могут представлять большой интерес для практики животноводства. Таким путем можно получить животных с более высокой резистентностью к ряду болезней и с признаками, которые обычно плохо сочетаются в одном организме.

Контрольные вопросы

1. Что такое генетическая инженерия? Каковы её цели?
2. Что такое трансгеноз?
3. Для каких целей получают трансгенных животных?
4. Какие промоторы способны активировать присоединенные к ним гены?
5. Где может быть использована соматическая гибридизация?
6. Назовите методы гибридизации ДНК.
7. Что такое полимеразная цепная реакция? Для чего она используется?
8. Охарактеризуйте этапы амплификации.

10. Изменчивость и методы ее изучения

Онтогенетическая изменчивость заключается в модификациях фенотипа многоклеточных эукариотических организмов на разных этапах онтогенеза. Значение фенотипической изменчивости определяется, прежде всего, тем, что в пределах индивидуальной нормы реакции обеспечивается та или иная возможность физиологических адаптаций организма к меняющимся условиям среды.

Комбинативная изменчивость связана с появлением новых сочетаний генов и хромосом. Механизмы ее следующие: 1) рекомбинация генов при кроссинговере (рекомбинация генов при кроссинговере в первом делении мейоза, то есть образование кроссоверных хромосом); 2) независимое расхождение хромосом и хроматид при мейозе (независимое расхождение хромосом в мейозе при созревании половых клеток); 3) случайное сочетание гамет при оплодотворении (случайное сочетание генов материнской и отцовской гамет при оплодотворении).

Комбинативная изменчивость является важнейшим источником бесконечно большого наследственного разнообразия, которое наблюдается у живых организмов. В ее основе лежит половое размножение живых организмов, вследствие которого возникает огромное разнообразие генотипов. Число генов у каждого организма исчисляется тысячами, поэтому комбинирование генов при половом размножении приводит к формированию нового уникального генотипа. У любого организма можно обнаружить признаки, типичные для его родителей. Тем не менее даже среди близких родственников не найти двух абсолютно одинаковых особей, за исключением однояйцовых близнецов. Причиной такого разнообразия и является комбинативная изменчивость. Мутационная изменчивость основана на возникновении стойких нарушений в первичном генетическом материале (генах, хромосомах) организмов под воздействием факторов среды, называемыми мутагенами (мутагенными факторами). Появляющиеся при этом изменения называют мутациями. Мутагенные факторы условно можно подразделить на эндогенные факторы внутренней среды организма и экзогенные факторы окружающей среды. В качестве причин эндогенного характера рассматривают одноцепочечные разрывы либо случайные ошибочные встраивания не комплементарных

нуклеотидов, которые могут произойти во время репликации ДНК. Обычно такие нарушения устраняются с помощью редактирующих ферментов (ДНК-полимеразы 1, ДНК-лигазы), то есть имеет место исправление нарушений структуры и ее возврат в исходное состояние. Однако в результате возможных редких ошибок в работе самой системы репарации появляются те или иные мутационные изменения в нуклеотидной последовательности ДНК. В некоторых случаях может происходить химическая модификация обычных (нормальных) пуриновых или пиримидиновых оснований, присутствующих в клетке. Это приводит к появлению их вариантов с измененным характером комплементарного спаривания с основаниями матричной цепи ДНК, что увеличивает число ошибок при репликации.

Мутагенные факторы в зависимости от их природы принято классифицировать на физические, химические и биологические. К физическим мутагенным факторам относят различные виды излучений, температуру, влажность и т. д. Механизм действия физических мутагенных факторов состоит: 1) в нарушении структуры генов и хромосом; 2) образовании свободных радикалов, которые вступают в химическое взаимодействие с ДНК; 3) разрыве нитей хроматинового деления; 4) образовании диметров.

К химическим мутагенам относятся: 1) химические соединения, используемые в сельском хозяйстве (гербициды и пестициды), в медицине в качестве лекарств и антисептиков (антибиотики, формалин и т. д.), в производстве (консерванты продуктов, тяжелые металлы и др.); 2) природные органические и неорганические вещества (нитриты, нитраты, алкалоиды, гормоны, ферменты и др.); 3) продукты промышленной переработки природных соединений (уголь, нефть); 4) синтетические вещества, ранее не встречающиеся в природе (пестициды, инсектициды, пищевые концентраты, лекарственные вещества); 5) некоторые метаболиты человека.

Химические мутагены обладают большой понижающей способностью, вызывают преимущественно генные мутации и действуют в период репликации ДНК. Известны соединения, получившие названия «супермутагены», которые способны повышать частоту мутаций в тысячи раз и более (нитрозомочевина, нитрозогуанидин).

Механизм действия химических мутагенов состоит: 1) в дезаминировании (отщеплении аминогрупп); 2) алкилировании (метилирование, этилирование и т. д.) (алкилирование – это реакция введения алкильных радикалов (метильных, этильных) в молекулу органического соединения). В результате при репликации ДНК нарушается принцип комплементарности, и происходит замена нуклеотидных пар: ГЦ → АТ; ГЦ → ЦГ; ГЦ → ТА; 3) замене азотистых оснований их аналогами, то есть веществами, сходными с «обычными» азотистыми основаниями. Однако они способны образовывать комплементарные пары с разными «нормальными» основаниями, например, при репликации ДНК напротив гуанина вместо цитозина достраивается 5-бромурацил (аналог тимина). В дальнейшем напротив 5-бромурацила достраивается аденин, а напротив аденина – обычный тимин. Этот же процесс может идти и в противоположную сторону. В результате происходят замены: ГЦ → АТ или АТ → ГЦ; 4) ингибировании (торможении) синтеза предшественников нуклеиновых кислот.

К биологическим мутагенам относятся: 1) вирусы краснухи, кори, гриппа; 2) невирусные паразитарные агенты (микоплазмы, бактерии, риккетсии, простейшие, гельминты).

Механизм действия биологических мутагенов: 1) вирусы встраивают свою ДНК в ДНК клеток хозяина; 2) продукты жизнедеятельности паразитов возбудителей болезней – действуют как химические мутагены.

Учитывая характер действия мутагенных факторов, мутации можно классифицировать: 1. По характеру изменения генома: а) геномные изменение числа хромосом; б) хромосомные изменение структуры хромосом; в) генные изменение генов. 2. По проявлению в гетерозиготе: а) доминантные; б) рецессивные. 3. По отклонению от нормы: а) прямые приводят к отклонению признаков от так называемого дикого типа, наиболее распространенного в природе, например, изменение в окраске норок на звероферме насчитывает 30 мутаций, а дикий тип в природе имеет коричневый мех; б) обратимые приводят к полному или частичному восстановлению дикого типа (одичавшие собаки чаще всего по внешнему виду напоминают их предков волков и шакалов). 4. В зависимости от причин, вызывающих мутации: а) спонтанные (самопроизвольные) мутации происходят под действием естественных мутагенных факторов внешней среды без вмешательства человека;

б) индуцированные (искусственные) мутации являются результатом направленного воздействия определенных мутагенных факторов, например, ионизирующей радиации и других. 5. По локализации в клетке: а) ядерные затрагивают хромосомы ядра; б) цитоплазматические затрагивают генетический материал органоидов цитоплазмы (митохондрии, пластиды и др.). 6. По отношению к возможности наследования: а) генеративные мутации происходят в половых клетках, передаются по наследству при половом размножении; б) соматические мутации происходят в соматических клетках, проявляются у самой особи и передаются по наследству только при вегетативном размножении. 7. По фенотипическому проявлению: а) летальные; б) морфологические; в) биохимические; г) поведенческие; д) устойчивости или чувствительности к повреждающим агентам; е) положительные и другие. Мутации генов и хромосом могут приводить к появлению наследственных болезней человека и животных.

Применение вариационно-статистического метода. Вариационная статистика – наука о способах применения математических (статистических) методов для изучения живых организмов. Предметом вариационной статистики служит группа биологических объектов. Группа определенных объектов составляет совокупность. Совокупностями являются породы, стада животных, линии, семейства, дочери определенного производителя, количество эритроцитов в каком-то объеме крови животного и т. д.

Количественные и качественные признаки. В селекции признаки делятся на простые (1-й категории), строго дифференцированные действием одного или нескольких генов, и сложные (2-й категории), обусловленные влиянием большого числа генов.

Признаки первой категории носят название качественные, или моногенные, например, окраска волоса, рогатость и комолость, полиморфные системы белков и ферментов, группы крови, некоторые наследственные уродства, второй категории – количественные, или полигенные, например, яйценоскость, молочная продуктивность, состав молока, промеры тела, показатели воспроизводительной способности и т. д. Принципиальных различий между качественными и количественными признаками нет, если не считать того, что в случае качественного описания есть хорошо различимые альтернативы, а в случае количественной оценки, как правило, выстраивается непрерывный ряд фенотипических проявлений

признака. Количественным признакам невозможно дать точной качественной характеристики. По таким признакам между индивидуумами наблюдаются постепенные малозаметные переходы, а при расширении не образуются четко выделяемые фенотипические классы. Другими словами, изменчивость подобных признаков является непрерывной.

Непрерывная вариация количественного признака в популяции объясняется, прежде всего, действием многих генов, которые носят название полигены. Каждый из полигенов оказывает незначительное влияние на изменчивость количественного признака. Среди полигенных признаков выделяют пороговые признаки, которые проявляются лишь при достижении минимального порога действия генов. При обработке массовых данных количественных признаков применяют вариационно-статистический метод. Он позволяет систематизировать и обрабатывать данные специальных экспериментов, первичные данные учета в животноводстве и других областях сельского хозяйства. Математический анализ массовых данных находит широкое применение при решении теоретических и практических вопросов генетики, селекции и племенного дела.

Средние величины. Средняя арифметическая (\bar{X}) показывает, какое значение признака наиболее характерно в целом для данной совокупности. Средняя арифметическая используется для сравнения пород, стад, производителей по какому-либо признаку.

Мода (M_o) – наиболее часто встречающаяся варианта в совокупности.

Медиана (M_e) – варианта, расположенная в середине (центре) ряда и делящая его на две равные части.

Средняя арифметическая (\bar{X}) – показатель средней величины признака данной группы особей. При $n = 30$ сначала составляют вариационный ряд, а вычисление средней арифметической производят методом отклонения от условной средней по формуле:

$$\bar{X} = A + K \frac{\sum fa}{n},$$

где A – условная средняя;

a – отклонение классов от класса, в котором находится условная средняя;

fa – поправка или величина, на которую отличается условная средняя (A) от средней арифметической (\bar{X});

К – классовый промежуток;

n – число вариант.

Показатели изменчивости признака в совокупностях. Средняя величина характеризует одним общим показателем всю группу в целом, поэтому совершенно не учитывает разнообразия особей по изучаемому признаку. Всякая группа состоит из неодинаковых особей, отличающихся друг от друга по каждому признаку. Различия эти иногда очень велики, иногда они почти незаметны; практически невозможно найти даже двух особей абсолютно одинаковых. Поэтому объединение неодинаковых особей – основное групповое свойство, называемое разнообразием. В начале создания новых пород, породных групп, линий важно знать степень разнообразия исходного материала, так как чем разнообразнее племенные группы, тем больше возможностей для отбора и подбора. При завершении этих работ наряду с повышением среднего качества хозяйственно полезных признаков требуется уменьшение разнообразия, создание однородных групп по экстерьерным признакам, по качеству шерсти и т. д. Поэтому недостаточно одних средних показателей при изучении групп скота, необходимы еще и показатели разнообразия.

Используются три показателя разнообразия: лимиты, среднее квадратическое отклонение и коэффициент вариации. Лимиты показывают размах значений и тем самым характеризуют разнообразие признака в группе. Они отмечают наивысший показатель продуктивности, имеющийся в исследуемой группе, что представляет значительный интерес при обследовании животных с точки зрения хозяйственно полезных признаков: обильномолочности, жирномолочности, мясности, шерстности и т. д. В то же время лимиты отмечают и наличие наименее продуктивных животных, нерентабельных для хозяйства. Поэтому они представляют большой интерес даже при наличии других, более точных показателей разнообразия.

Среднее квадратическое отклонение (σ) служит основным показателем разнообразия значений признака в группе. Используется и как самостоятельный показатель, и как основа для конструирования многих других показателей биометрии – коэффициента вариации, ошибок репрезентативности, различных показателей распределения, коэффициентов корреляции и регрессии, элементов дисперсионного анализа, формул регрессии.

Среднее квадратическое отклонение – показатель именованный и выражается в тех же единицах, что и средняя величина. Чем больше среднее квадратическое отклонение, тем выше изменчивость признака. Это свидетельствует об отклонении вариант от средней арифметической как в положительную, так и в отрицательную сторону. При небольшом числе вариант вычисляется по формуле:

$$\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum(x-\bar{X})^2}{n-1}}$$

Определение среднего квадратического отклонения в больших выборках. Среднее квадратическое отклонение при больших выборках ($n > 30$) определяют с помощью вариационного ряда по формуле

$$\sigma = \pm K \sqrt{\frac{\sum f a^2}{n} - \left(\frac{\sum f a}{n}\right)^2},$$

где K – классовый промежуток;

f – число особей (частот) в каждом классе;

a – условное отклонение классов от среднего (нулевого) класса;

n – число особей (вариант) в выборке.

Определение коэффициента изменчивости. Поскольку среднее квадратическое отклонение – величина именованная, а не относительная, то по ней можно судить о величине изменчивости лишь одноименных признаков. При сравнении же изменчивости различных признаков используют относительный показатель изменчивости (коэффициент вариации) – Cv , определяемый путем деления среднего квадратического отклонения σ на среднюю величину \bar{X} :

$$Cv = \frac{\sigma \times 100}{\bar{X}} (\%).$$

Коэффициент вариации выражает степень изменчивости признака в процентах от величины средней арифметической.

Ошибки средних величин. Исследование больших групп животных может быть разным. Можно использовать всех животных данного массива или изучить лишь небольшую отобранную часть животных (выборочное исследование).

Количество интересующих исследователей особей (вариант) называется генеральной совокупностью.

Объем генеральной совокупности определяется задачами исследования. Если требуется изучить какую-нибудь породу,

то генеральной совокупностью будет весь скот этой породы, если же надо изучить, например, живую массу бычков этой породы в возрасте 1 года, то генеральной совокупностью будут только годовалые бычки данной породы.

В производственных условиях чаще всего проводится выборочное исследование, например, надо определить удои дочерей быка и сделать заключение, получают ли от данного производителя потомство с более высокой молочной продуктивностью по сравнению с потомством, полученным от другого быка-производителя, и решить вопрос о дальнейшем его использовании в данном хозяйстве. Практически произвести сплошное обследование всех дочерей этого быка невозможно. В данном случае применяется выборочное исследование. По отношению к имеющимся дочерям вычисленные средние величины будут точными, но, характеризуя этими средними всех дочерей данного быка с учетом рождения, допускается определенная ошибка. Эти ошибки называются ошибками выборочного метода, так как они свойственны только выборочному биометрическому методу исследования. Вычисление этих ошибок необходимо для правильного суждения о средних величинах \bar{X} , σ , Cv при характеристике ими всего массива особей. Вариационной статистикой установлено, что средняя арифметическая генеральной совокупности $\bar{X}_{ген}$ лежит в пределах $\pm m$ от средней арифметической выборочной совокупности $\bar{X}_{выб}$ (то же для σ и Cv). Ошибка средней арифметической (\bar{X}) вычисляется по формуле:

$$m_{\bar{X}} = \pm \frac{\sigma}{\sqrt{n}}.$$

Ошибка зависит от изменчивости и численности вариант. Чем больше изменчивость, тем больше ошибка, и, наоборот, чем больше численность, тем меньше ошибка указанных величин. Ошибка среднего квадратического отклонения вычисляется по формуле

$$m_{\sigma} = \frac{\sigma}{\sqrt{2n}}.$$

Ошибка выборочной разности. В биометрических исследованиях исключительное значение имеет разность – результат вычитания одной величины из другой. По разности производится сравнение отдельных животных или групп между собой и намечается дальнейшее их использование. По разности между признаками потомков и признаками матерей (или других групп) определяют качество производителей. По разности между контрольной и

опытной группами судят об эффективности опыта и т. д. Вопрос достоверности разности не возникает там, где сравниваются две генеральные совокупности, но это необходимо, когда сравнение проводят между двумя выборками. Для правильного суждения о разности необходимо вычислить ошибку выборочной разности:

$$t_d = \frac{d}{m_d},$$

где t_d – критерий достоверности разности;

d – разность между средними арифметическими;

m_d – ошибка выборочной разности.

Достоверность разности определяется по таблице Стьюдента, в которой приведены значения числа степеней свободы (V), равные

$$V = n_1 + n_2 - 2.$$

За минимальный порог достоверности принимается первый порог. Если критерий достоверности разности равен или превышает первый порог, то это означает, что надежность не менее 0,95 (то есть разность достоверна в 95 случаях из 100). Если критерий равен или превышает второй или третий порог, то надежность равна 0,99 и 0,999 (то есть разность достоверна в 99 случаях из 100 или достоверна в 999 случаях из 1000).

Контрольные вопросы

1. Какие вы знаете виды изменчивости?
2. Какие показатели характеризуют изменчивость?
3. Что такое биометрия?
4. Какие статистические показатели характеризуют совокупность?
5. Как оценить достоверность разности между средними арифметическими двух выборочных совокупностей?

11. Генетические основы иммунитета

Иммунитет – невосприимчивость организма к инфекционным агентам и генетически чужеродным веществам антигенной природы. Главная функция иммунитета – иммунологический надзор за внутренним постоянством организма. Следствие этой функции – распознавание, а затем специфическое блокирование, нейтрализация или уничтожение генетически чужеродных веществ (бактерий, вирусов, раковых клеток и т.д.). За сохранение генетически обусловленной биологической индивидуальности отвечает *иммунная система организма* – совокупность всех лимфоидных органов и скоплений лимфоидных клеток. Она состоит из центральных и периферических органов. Центральные органы иммунной системы включают: тимус, сумку Фабриция (у птиц) и ее аналог у млекопитающих, костный мозг, пейеровы бляшки и миндалины. К периферическим органам относят лимфатические узлы, селезенку и кровь. Иммунная система организма и ее главные исполнители – лимфоциты – обеспечивают специфическую реакцию организма на чужеродные антигены.

К неспецифическим факторам защиты относят кожные и слизистые покровы, фагоциты (нейтрофилы, тканевые макрофаги), естественные иммуноглобулины, систему комплемента (включающую около 20 белков), интерферон, лизоцим, пропердин, лактоферрин и т.д. Неспецифические факторы защиты действуют в широком спектре, хотя ряд из них может быть в большей или меньшей степени направлен против некоторых групп микроорганизмов.

Клеточная и гуморальная системы иммунитета. Стволовые лимфоидные клетки, мигрировавшие в тимус, превращаются в *T-лимфоциты (T-клетки)*, которые ответственны за клеточную форму иммунного ответа, а сформированные в сумке Фабриция (у птиц) или ее в аналоге у млекопитающих становятся *B-лимфоцитами (B-клетки)*, которые ответственны за реализацию гуморального иммунного ответа. *T-клетки* образуют субпопуляцию *T-хелперов, T-супрессоров, T-киллеров*. Т-хелперы способствуют превращению В-лимфоцитов в плазматические клетки, Т-супрессоры блокируют антителообразование В-лимфоцитами и участвуют в становлении и поддержании иммунологической

толерантности, Т-киллеры разрушают клетки чужеродных трансплантантов и злокачественные клетки.

Многообразие иммунологических реакций является следствием кооперации Т- и В-лимфоцитов и макрофагов, в результате чего образуются антитела (иммуноглобулины). Синтез антител осуществляется в плазматических клетках, происходящих из В-лимфоцитов. На поверхности В- и Т-лимфоцитов имеются рецепторы иммуноглобулиновой природы, причем на В-лимфоцитах их в десятки и сотни раз больше. *Рецепторы* – это макромолекулярные структуры клеточной поверхности, с помощью которых клетки узнают антигены. Поэтому проблема специфических рецепторов – одна из центральных в иммунологии, так как благодаря этому происходит распознавание генетически «своего» и «чужого». Синтез и специфичность рецепторов контролируется генетически.

Иммуноглобулины – семейство белков, специфически реагирующих с антигеном, который индуцировал их образование. Основным моментом в процессе иммунного ответа – узнавание антителом химического маркера, характерного «чужому» веществу в отличие от «своего». Поэтому главная биологическая функция антител – их способность вступать в специфическую и быструю реакцию с антигеном, в результате чего образуется *комплекс антиген – антитело* (иммунный комплекс). Иммунный комплекс образуется в результате связывания активного центра антитела (*паратона*) с детерминантами антигена (*эпитона*). Эти взаимодействия могут проявляться в виде реакций агглютинации, преципитации, лизиса, нейтрализации.

Специфичность иммунитета проявляется в том, что антитела действуют только на тот антиген, под влиянием которого они образовались. Организм, имеющий антитела, может оставаться в течение различного времени иммунным против антигена. Следовательно, гуморальный, как и клеточный, иммунитет обладает *иммунологической памятью* – способностью при повторном контакте с антигеном узнавать и отвечать на него иммунологической реакцией. В определенных условиях возникает повышенная чувствительность организма (гиперчувствительность) на повторное попадание данного антигена. Она проявляется в виде аллергии немедленного типа (астма, анафилаксия), т.е. патологической повышенной реакции на антиген, который у нормальных особей не вызывает

болезненных явлений. Существует и повышенная чувствительность замедленного типа (при туберкулезе, бруцеллезе) – это клеточно опосредованный иммунологический способ повышенного реагирования на чужеродные вещества. Антитела участвуют в первой форме иммунного реагирования – гуморальном иммунитете. Вторая форма больше связана с клеточным иммунным ответом в виде гиперчувствительности замедленного типа. Иммуноглобулин может иметь несколько антигенсвязывающих центров, комплементарных нескольким отличным по структуре антигена, а многие типы антител комплементарны к одной антигенной детерминанте. Антитело способно функционировать и как антиген. Специфическая популяция антител может состоять из иммуноглобулинов разной специфичности. Очень небольшие изменения в первичной структуре антител могут вызвать различия в их специфичности.

Одна из главных и интересных проблем иммунологии – это объяснение природы происхождения громадного разнообразия антител. Ведь организмы в течение жизни могут встречаться с десятками тысяч антигенов и должны отличать «чужеродные» агенты от «своих».

Установлено, что разнообразие антител может быть обеспечено следующими факторами:

- 1) наличием ограниченного числа гаметных генов;
- 2) сборкой и экспрессией генов в соматических клетках из ограниченного набора зародышевых сегментов;
- 3) неточностью аппарата сплайсинга РНК;
- 4) соматическими гипермутациями генов антител.

Иммунный ответ, или *иммунологическая реактивность*, – высокоспецифическая форма реакции организма на чужеродные вещества (антигены). При иммунном ответе происходят распознавание чужеродного агента и его элиминация. При введении антигена возникает *первичный иммунный ответ* – приблизительно через 2 дня в крови образуются антитела, титр которых возрастает, достигает максимума (к 4-6 дню), а затем падает. *Вторичный иммунный ответ* возникает на повторное введение того же антигена и характеризуется более высоким и быстрым нарастанием титра антител. Подобная реакция более усиленного образования антител на повторное введение антигена называется *иммунологической памятью*, обусловлена наличием клеток иммунологической памяти и

может сохраняться в течение многих месяцев и даже лет. Иммунный ответ зависит от генотипа особи.

В регуляции иммунитета на внутриклеточном уровне принимают участие Ig-гены. На межклеточном уровне в регуляции участвуют различные вещества, выделяемые Т-лимфоцитами и в меньшей мере В-лимфоцитами. Антитела также выполняют регуляторные функции. На уровне организма регуляция осуществляется нейрогуморальной системой.

Из многих теорий иммунитета наибольшее признание получила *клонально-селекционная теория* Ф. Бернета. Она основана на четырех основных принципах: 1) в организме имеется большое число лимфоидных клеток; 2) популяция лимфоидных клеток гетерогенна, и в результате интенсивного деления клеток образуется большое число клонов (популяция клеток, происходящая от одного предшественника); 3) небольшое количество антигена стимулирует клон клеток к размножению; 4) большое количество антигена элиминирует соответствующий клон.

Согласно этой теории антиген, взаимодействуя с рецептором клетки (В-клетки), вызывает ее интенсивную пролиферацию (деление), в результате чего образуется клон, синтезирующий антитела одной специфичности. Все клетки клона имеют один и тот же генотип. При соматических мутациях одного клона могут возникать новые клоны.

Сетевую теорию регуляции иммунитета предложил Н. Эрне. Согласно этой теории антитела не только узнают антиген, но и сами являются антигенами. Такая ситуация возникает потому, что в период дифференцировки организм с антителами не встречался, поэтому они выступают в роли антигена, на который вырабатываются антитела. Считают, что антигенные детерминанты антител (*идиотипы*) – важный фактор регуляции системы иммунитета. Во время иммунологической реакции повышение концентрации идиотипов стимулирует антиидиотипическую активность. Антиидиотипические реакции осуществляют ауторегуляцию иммунного ответа. Нарушение регуляции иммунного ответа приводит ко многим болезням, и прежде всего аллергическим, предрасположенность к которым зависит и от генотипа организма.

При первой пересадке сердца человека, сделанной в 1967 г. К. Барнардом, и последующих, хирурги столкнулись с проблемой отторжения трансплантата. Оказалось, что главная трудность

заключается не в технике операции, которая разработана очень хорошо, а в несовместимости тканей, обусловленной иммунологическими механизмами. Например, у людей выживание трансплантатов реципиентов, взятых от случайного донора, составляет 10,5 дня, тогда как трансплантаты, обмененные между однояйцовыми близнецами (*изотрансплантаты*), приживаются. Это происходит благодаря наличию на поверхности клеток антигенов, называемых *трансплантационными антигенами* или *антигенами гистосовместимости*. Большинство трансплантационных антигенов расположены на лейкоцитах, но они имеются и на всех других ядродержащих клетках кожи, легких, печени, почек, кишечника, сердца и т.д.). Гены, кодирующие эти антигены, называются *генами тканевой совместимости*. Система генов, контролирующая трансплантационные антигены лейкоцитов, названа главным комплексом гистосовместимости (англ. *Major Histocompatibility complex* – МНС). Гены гистосовместимости кодоминантны.

Эффективность трансплантации зависит не только от лейкоцитарных и эритроцитарных антигенов, но и от *минорной системы гистосовместимости*. Трансплантаты между монозиготными близнецами приживаются. Однако у братьев и сестер при совпадении по МНС-гаплотипам, но несовпадении по минорным системам гистосовместимости происходит отторжение трансплантатов кожи.

После иммуноглобулинов и рецепторов Т-клеток, белки главного комплекса гистосовместимости самые разнообразные из всех белков. Различают два класса белков МНС. Белки класса I находятся на поверхности почти всех клеток. Молекула белка состоит из двух полипептидных цепей: большой и малой. Белки МНС класса II имеются на поверхности некоторых клеток (В-лимфоциты, макрофаги, специализированные эпителиальные клетки) а их молекула состоит из примерно равных полипептидных цепей. Белки МНС имеют некоторое сходство с иммуноглобулинами. Основная роль белков МНС состоит не в отторжении чужой ткани, а в направлении реакции Т-клеток на антиген. Цитотоксические Т-клетки могут узнавать антиген, если он расположен вместе с белками МНС класса I на поверхности одной клетки. Т-хелперы узнают антиген в комбинации с белками МНС класса II. Такое двойное стимулирование называется МНС-ограничением.

Некоторые заболевания коррелируют с антигенами главного комплекса гистосовместимости. У человека наиболее четкая взаимосвязь существует между анкилозирующим спондилитом (болезнь Бехтерева) и антигеном HLA В₂₇. Это хроническое системное заболевание суставов позвоночника, которое часто приводит к неподвижности (окостенению) всего позвоночного столба. Предрасположены к болезни лица с антигеном HLA В₂₇. Антиген В₂₇ встречается у 93% больных анкилозирующим спондилитом, а в контрольной популяции – у 8%.

У свиней, гомозиготных по некоторым аллелям SLA, наблюдается повышенная смертность. У джерсейского скота установлено, что аллели W₁ и W₃ связаны с резистентностью к лейкозу. Норвежский молочный скот с аллелем W₂ более устойчив к маститу, а с аллелем W₁₂ восприимчив к нему. У овец предполагают наличие связи комплекса OLA с одним из локусов устойчивости или восприимчивости к скрепи.

Лимфоцитарный антиген лошадей ELY-1 не сцеплен с главным комплексом гистосовместимости. Выявлено два аллеля – ELY-1⁺ и ELY-1⁻. Частота аллеля ELY-1⁺ была выше у лошадей, больных бронхитом и хромотой, чем у здоровых. Предполагают, что с ELY-1 связаны определенные иммунологические реакции.

Существует взаимосвязь МНС не только с болезнями, но и с признаками продуктивности. Так, у свиней крупной белой породы пониженная скорость роста связана с гаплотипом SLA 5, 20, 4. Однако в настоящее время у животных ещё недостаточно изучена связь МНС с болезнями и признаками продуктивности. Можно надеяться, что гены МНС и другие гены гистосовместимости могут быть генетическими маркерами устойчивости и восприимчивости к болезням.

Нарушения в различных звеньях иммунной системы приводят к многообразным патологическим иммунным реакциям. *Гиперчувствительность* (аллергия) возникает в результате чрезмерной иммунной реакции на чужеродные антигены. Иногда иммунные реакции направлены и против структур собственного организма (*аутоиммунные реакции*). Нарушение иммунного ответа может быть вызвано и в результате неполноценного развития и созревания клеток иммунной системы. Обычно поражение одного звена иммунной системы не затрагивает функционирования других. Выделяют первичные и вторичные иммунодефициты.

Первичные иммунодефициты – это генетически обусловленная неспособность организма реализовать то или иное звено иммунного ответа.

Вторичные иммунодефициты являются приобретенными при индивидуальном развитии организма (онтогенез). Они возникают в результате недостаточного кормления, воздействия ионизирующего излучения, заболевания лейкозом и т.д.

В США в 1981 г. обнаружено заболевание иммунной системы – СПИД (синдром приобретенного иммунодефицита). Болезнь вызывается вирусом (LAV), в основном поражающим лимфоциты Т-хелперы, и характеризуется длительным инкубационным периодом – более 5 лет. Роль наследственности в реакции организма на приобретенный иммунодефицит отчасти выражается в том, что только около 10% носителей вируса заболевают СПИДом.

Недостаточность иммунной системы может быть обусловлена недостаточностью фагоцитов, клеточного иммунитета, гуморального иммунитета, системы комплемента, а также комбинированным иммунодефицитом.

У сельскохозяйственных животных наследственные иммунодефициты изучены недостаточно, но в соответствии с законом гомологических рядов в наследственной изменчивости Н. И. Вавилова можно найти иммунодефициты, подобные тем, которые описаны у человека.

Летальный фактор А-46. Известен у скота черно-пестрой, датской и фризской пород и является аутосомно-рецессивным. Телята рождаются нормальными, а к 4-8 неделе у них наблюдаются поражение кожи, сыпь, алоpecia (выпадение волос), паракератоз (аномальное ороговение) вокруг рта, глаз, нижней челюсти. Животные более чувствительны к вирусным инфекциям вследствие снижения клеточного иммунитета. Синтез Ig всех классов и иммунный ответ нормальны. Без лечения животные погибают в 4-месячном возрасте. Предполагают, что у гомозиготных по рецессивному гену телят необычайно повышена потребность в цинке, который нужен для поддержания нормального развития и функционирования Т-лимфоцитов.

Комбинированный иммунодефицит (CID). Известен у человека, жеребят арабской породы и длинношерстной таксы. Связан с генетическим нарушением образования и функционирования Т- и В-лимфоцитов. Наследуется по аутосомно-рецессивному

типу. Это подтверждается тем, что у пораженных жеребят матери, и отцы здоровы, однако ни один жеребенок не доживает до репродуктивного возраста без трансплантации костного мозга. Болезни встречается у самок и самцов. У новорожденных жеребят очень мало или нет циркулирующих лимфоцитов, а в сыворотке крови почти отсутствуют иммуноглобулины. Животные не способны отвечать на иммунизацию. Жеребята остаются здоровыми до 2-месячного возраста, а после уменьшения количества материнских Ig погибают к 5-месячному возрасту от различных инфекций.

Агаммаглобулинемия – дефект гуморальной системы (В-лимфоцитов), встречается у человека и лошадей. Признак сцеплен с полом (Х-хромосомой). Болезнь описана у жеребят пород американский рысак и английская чистокровная верховая. Животные не способны синтезировать иммуноглобулины всех классов, но функция Т-лимфоцитов нормальная. Больные особенно восприимчивы к бактериальным инфекциям, но чувствительность к вирусным инфекциям не повышена. Жеребята доживают до 17-18 мес., тогда как с комбинированным иммунодефицитом (CID) – до 5 мес. Это указывает на важную роль Т-лимфоцитов в резистентности животных.

Давно известны факторы устойчивости и восприимчивости некоторых видов, пород, родственных групп и отдельных особей к тем или иным болезням. Наследственная резистентность, или восприимчивость, возникают при эволюции микро- и макроорганизмов в результате мутационного процесса. Подтверждением этому служит существование видовой почти абсолютной устойчивости.

Промышленные технологии, все чаще применяемые в животноводстве, увеличивают потребность в новом селекционном материале. С точки зрения здоровья, они должны быть устойчивы к стрессам и болезням. Создателем таких пород и линий в первую очередь является селекционер. Прежде всего, специалист должен хорошо усвоить основные понятия и терминологию в отношении болезней с наследственной предрасположенностью.

Пороговые признаки. По фенотипу животных в отношении наследственно-средовых болезней можно разделить на два альтернативных класса: больные и здоровые. Более 90% этих болезней обусловлено действием многих локусов, т. е. принадлежит к группе полифакториальных (мультифакториальных, полигенных)

заболеваний. По устойчивости и восприимчивости генотипы непрерывно варьируют, а фенотипы образуют два класса.

В резистентных и восприимчивых группах животных одинаково встречаются и здоровые, и больные, хотя частота больных и здоровых особей сильно различается. Кривые распределения в резистентных семействах, линиях и т. д. смещаются влево, что объясняется увеличением в них числа индивидов с повышенной концентрацией генов, контролирующей резистентность. В восприимчивых к болезни группах увеличивается доля особей, имеющих пороговое число генов предрасположенности. Следовательно, генетический порог восприимчивости по резистентности в группах животных остается одинаковым, а частота больных и здоровых различается.

Иная картина наблюдается в изменяющихся условиях среды. Например, с ухудшением условий среды генетический порог предрасположенности сдвигается влево. Это значит, что в изменившихся условиях среды для возникновения заболевания требуется меньшее число аллелей предрасположенности. Поэтому в плохих условиях изменяются генетический порог болезни и распределение фенотипов.

При мультифакториальных болезнях наблюдается большая изменчивость в клиническом проявлении признака. В данном случае происходит непрерывный переход от нормы, крайних вариантов нормы, к субклиническим формам болезни, а от них к типичным формам. В свою очередь, типичные манифестные формы болезни варьируют от легких клинических форм к промежуточным и смешанным клиническим вариантам и далее к тяжелым клиническим формам.

Целесообразно разделить наследственно-средовые болезни на две группы: незаразные и вызываемые различными патогенами. К первой группе относится ряд заболеваний сердечно-сосудистой, желудочно-кишечной (язва желудка), нервной и других систем, болезни полового аппарата (киста яичников), болезни обмена веществ и другие, ко второй группе относятся болезни, вызываемые бактериями, вирусами, гельминтами, грибами и т. д. Генетические системы, обуславливающие предрасположенность и устойчивость к болезням второй группы, могут быть более сложными и разнообразными. Наследственно восприимчивые особи не заболевают, если отсутствует заражение паразитом этой болезни,

т. е. животные с любыми генотипами остаются здоровыми. В случае незаразных болезней у индивидуумов с генотипами, обуславливающими подверженность заболеванию, в любых условиях среды (даже благоприятных) сохраняется повышенный риск возникновения патологии (болезни).

Наследование резистентности и восприимчивости. Генетическая природа наследственно-средовых болезней малоизучена. Это связано с тем, что для этой группы болезней характерны:

- мультифакториальное (обусловленное многими факторами) контролирование резистентности и восприимчивости;
- влияние условий среды;
- непрерывный переход от нормы до выраженных форм патологии;
- часто наличие трудно выявляемых многих отдельных клинико-генетических, нозологических форм в пределах одной болезни;
- высокая распространенность, часто незначительные генетические различия между популяциями;
- большая изменчивость возраста при проявлении болезни и половые различия;
- незначительная конкордантность в парах однояйцевых близнецов.

Предрасположенность и резистентность к большинству наследственно-средовых болезней контролируются многими генами, и только небольшую часть из них можно отнести к моногенным болезням.

Простое наследование устойчивости и восприимчивости. Известно, что признаки резистентности и восприимчивости поддаются количественному измерению и контролируются одним главным геном. Больные и здоровые животные образуют два отдельных распределения, но может наблюдаться и частичное их перекрытие (трангрессия). В случае доминирования резистентности при скрещивании контрастных форм все гибриды будут резистентными. Если доминирует восприимчивость, то потомство также будет восприимчивым. При анализирующем скрещивании (скрещивании рецессивной формой) наблюдаются бимодальное раздельное распределение и соотношение 1:1 резистентных и восприимчивых особей. У кур определено аутосомно-доминантное

наследование устойчивости к лимфоидному лейкозу. При этом выделяют два уровня генетической резистентности:

- клеточная резистентность к вирусной инфекции;
- резистентность к развитию опухоли у инфицированных вирусом птиц.

Отмечаются особенности наследования к определенным субгруппам вирусов. Однако устойчивость к развитию опухоли проявляется комплексно, но с меньшей субгрупповой специфичностью. Резистентность к вирусу гриппа у мышей также кодируется аутомно-доминантным геном. Устойчивость к вирусу мышинного гепатита обусловлена рецессивным геном. Некоторые штаммы кишечной палочки вызывают у свиней диарею (понос) новорожденных. Однако часть поросят может быть резистентной к штаммам кишечной палочки. Наличие рецепторов является простым наследственным признаком.

Нематоды. Имеются данные, что устойчивость овец к нематозу наследуется как простой доминантный признак. В неселекционированной популяции отсутствует способность к изгнанию нематод из организма, поэтому гельминты достигают половой зрелости.

Полигенное наследование устойчивости и восприимчивости. Как было показано выше, более 90% наследственно-средовых болезней контролируется многими локусами (у человека около 94%). Термин «полигенное наследование» следует понимать более широко, чем это изложено в теории Мазера.

Большинство наследственно-средовых болезней является полигенными, и поэтому следует при возможности детализировать тип наследования. Видимо, существуют заболевания с преобладающим действием аддитивных генов или неаддитивным эффектом. Возможно одновременное участие 1-3 главных генов и 10-20 и более со слабым действием. Для пороговых признаков характерно то, что изменение генотипов особей до определенного порога не ведет к заметному изменению фенотипа. Только после накопления определенного числа генов возникает заболевание. Мультифакториальное заболевание может быть более частым среди лиц определенного пола.

Например, пилоростеноз чаще встречается у мужчин, чем у женщин. Можно предположить, что генетическая подверженность идентична для обоих полов, но положение порога на шкале

подверженности разное. В результате пораженные мужчины в среднем проявляют признак с меньшей генетической подверженностью, чем в среднем пораженные женщины. Следовательно, частота такого признака среди родственников пробандов мужского пола ожидается ниже, чем среди родственников пробандов женского пола, которые несут больше генов предрасположенности, чем пораженные мужчины. Этот феномен иногда называют «эф-фектом Картера».

Бактериальные болезни. Мастит (воспаление молочной железы). Причинами заболевания могут быть биологические (стафилококки, стрептококки, энтерококки), кормление и содержание, механические, термические, химические и физиологические факторы. Происходит браковка животных, уменьшается генетический прогресс стада. Существуют межпородные различия по резистентности и восприимчивости. Наивысшая заболеваемость – у голштинских коров, до 58%, симментальская порода – 25-28%, холмогорская – 12,3%, айрширская 4-6%. Наименьшая заболеваемость у буйволиц и зебу – 0,5%. Выявлены значительные расхождения по заболеваемости в потомстве разных производителей. А. И. Желтиков (1992) установил коэффициент наследуемости устойчивости коров к маститу 0,05-0,80.

Бруцеллез (хроническая инфекционная болезнь животных и человека, вызываемая бактериями группы *Bruccella*). У многих животных проявляется абортom, задержанием последа и расстройством плодовитости. Имеются видовые и породные различия. Высокочувствительны к этому заболеванию морские свинки, белые мыши, суслики; устойчивы белые крысы, гуси и голуби. Культурные европейские породы молочного скота более подвержены бруцеллезу, как и маститу, по сравнению с аборигенными породами (местная серая, симментальская местная, монгольская), зебу и буйволами. Исходя из результатов опытов, проведенных на кроликах, предполагается, что резистентность контролируется аутосомным доминантным геном, а восприимчивость рецессивным.

Туберкулез (инфекционная болезнь, возбудитель – микобактерии). Болезнь млекопитающих, птиц и человека, характеризующаяся образованием в различных органах типичных бугорков-туберкулов, подвергающихся казеозному некрозу. Это заболевание наносит огромный ущерб животноводству и представляет опасность для здоровья человека. Видовые особенности. Наиболее

восприимчивы крупный рогатый скот, свиньи, норки, куры и олени. Большой устойчивостью обладают козы, собаки, утки, гуси. Устойчивы лошади, кошки, овцы.

Межпородные различия: более устойчивы холмогорская, швицкая, местный сибирский скот, буйволы; голландский скот имеет восприимчивость до 100%. Наследование резистентности контролируется полигенно, не менее, чем двумя генетическими системами. Наследуемость резистентности 0,1-0,3.

Лептоспироз (инфекционная природно-очаговая болезнь животных и человека. Возбудителями являются лептоспиры). У животных он проявляется лихорадкой, анемией, гемоглинурией, абортами. Болезнь встречается на всех континентах. Многие молочные породы восприимчивы к заболеванию, исключение – домашний водяной буйвол и желтый скот острова Тайвань.

Генетическая устойчивость и восприимчивость к гельминтозам. Фасциолезы. Трематоды рода *Fasciola*, паразитирующие в печени, вызывают гельминтозы животных и человека. В лабораторных животных выявлены примеры генетически устойчивых линий. Иммуитет тимусдетерминирован, выявлены антипаразитарные антитела.

Нематоды. Гельминтозы, вызываемые нематодами, встречаются повсеместно у всех видов животных. Основная масса нематод паразитирует в пищеварительном тракте. Число яиц в 1 г фекалий служит показателем устойчивости или восприимчивости к гельминтам.

В помесях герефордов и шортгорнов обнаружено 410 яиц, в то время как у резистентных гибридов (британский скот х африкандер) – 180 яиц. Отмечается высокая внутривидовая изменчивость (от 103 до 727 яиц), наследуемость признака 0,1-0,7.

Генетическая устойчивость и восприимчивость протозооза. Бабезиоз. Инвазионная болезнь животных, вызываемая простейшими рода *Babesia*. Протекает с явлениями лихорадки, анемии, желтухи, гемоглинурии. Крупный рогатый скот *Bos Indicus* более устойчив к бабезиозу, чем *Bos tauros*. В схожих условиях содержания у породы африкандер 33%, а у симментальской – 60% положительно реагирующих. Видовые особенности. В зоне, эндемичной по бабезиозу, у собак выявлен высокий титр антител к данному заболеванию, относительно устойчивы фокстерьер, восприимчивы спаниель, доберман.

Трипаносомозы. Трансмиссивные болезни животных и человека, вызываемые жгутиковыми простейшими из рода *Trypanosoma*, проявляются периодическими повышениями температуры, возникновением отеков, парезом конечностей и параличами. Видовые и породные различия. Многие виды млекопитающих Африки отличаются абсолютной невосприимчивостью к трипаносомозу (буйвол, антилопа и др.). Толерантность к трипаносомозу характерна для карликового крупного рогатого скота. Европейские породы более восприимчивы, чем зебу.

Относительной устойчивостью к трипаносомозу отличаются порода западного африканского шортгорнского скота и нубийский черный скот. Овцы и козы некоторых местных пород в Кении более устойчивы к трипаносомозу, чем импортные животные. Условия среды, возраст, пол животных, вирулентность штаммов трипаносом и другие факторы влияют на устойчивость к трипаносомозу.

Кокцидиозы. Инвазионная болезнь животных и человека, вызываемая паразитическими простейшими. Болезнь особенно большой ущерб наносит птицеводческим и кролиководческим хозяйствам.

Выявлены межпородные различия по устойчивости кур к эймериозу: цыплята породы родайланд более устойчивы к болезни, чем породы леггорн и светлый суссекс. Устойчивость проявляется меньшим падежом, выходом ооцист и лучшим приростом живой массы.

В результате 3-4-летней селекции выведена резистентная к эймериозу популяция кур, смертность цыплят которой составила 22,1%, тогда как смертность в чувствительной группе была 60%. Коэффициент инбридинга в двух селекционируемых группах колебался от 12,5 до 18,5%. В резистентной группе смертность потомства отдельных петухов изменялась от 20 до 23%, а в восприимчивой – от 50 до 77%.

Генетическая устойчивость и восприимчивость к клещам. Клещи переносят возбудителей протозойных, вирусных бактериальных и грибковых болезней. Резистентность животных определяется по числу клещей на определенной площади тела.

К клещам устойчиво 95% чистопородных животных породы браман, 45-60% браманских гибридов и породы, происходящие от них; врожденная и приобретенная устойчивость выше у гибридов породы браман. По данным J. Frish, число клещей на единицу

поверхности тела (0,45×0,8 см) было в несколько раз меньше у браманских помесей (198) по сравнению с помесями герефорд × шортгорн (397). Устойчивость к клещам выше у животных с хорошо развитыми подкожными мышцами, с короткой светлой шерстью (клещи летом плохо переносят прямые лучи солнца). За 10 лет разведения герефордов с короткой шерстью смертность от всех причин уменьшилась с 34 до 14%. Коэффициенты наследуемости устойчивости и восприимчивости к клещам в основном колеблются от 0,28 до 0,42, а коэффициенты повторяемости – от 0,27 до 0,67.

Генетическая устойчивость и восприимчивость к вирусным инфекциям. Лейкозы. Опухолевые заболевания кроветворной ткани, характеризующиеся, главным образом, системным размножением незрелых кроветворных клеток в различных органах.

Межвидовые и межпородные различия. Лейкоз чаще встречается у крупного рогатого скота, чем у овец, лошадей и свиней. У лошадей чаще регистрируются злокачественные меланомы.

Среди 34 пород скота нашей страны наиболее восприимчивы к лейкозу животные красных (бурая латвийская, красная датская, красная литовская и др.) и черно-пестрых пород. У пород швицкого происхождения (костромская, лебединская, бурая карпатская) лейкозы появляются редко. Предполагают, что красная горбатовская порода, красный мегрельский, якутский, суксунский и бушуевский скот относительно устойчивы к лейкозу. Инфицированность скота молочных пород значительно выше, чем мясных.

Влияние производителей и линий. Во всех породах между производителями выявлены большие различия по заболеваемости потомства лейкозом. Так, частота поражений дочерей одних быков равна 0-5%, других – 20-50% и выше. Сила влияния отцов на устойчивость дочерей к лейкозу равна 15%, а в некоторых стадах доля влияния составляет 3-5%. От скрещивания резистентных отцов со здоровыми и лейкозными матерями получено в 3 раза меньше больных дочерей, чем от восприимчивых к лейкозу быков.

Цитогенетика лейкоза. Во многих исследованиях обнаружены изменения кариотипа при лейкозах. При всех формах лейкоза крупного рогатого скота часто выявляется повышенный процент анеуплоидии. Изучение кариотипа костного мозга у лейкозных и здоровых животных показало, что у больного скота в 4 раза больше полиплоидных клеток. Наследование устойчивости

и восприимчивости к лейкозу, вероятнее всего, полигенно. Коэффициенты наследуемости устойчивости и восприимчивости к лейкозу в разных стадах изменяются от 0,07 до 0,5.

Гипотезы и теории этиологии лейкозов. Постоянно расширяются знания о злокачественных новообразованиях. Л. А. Зильбер создал вирусогенетическую теорию возникновения опухолей, согласно которой нуклеиновая кислота вируса частично или полностью включается в геном клетки.

О. А. Иванова (1972) считала, что лейкоз обусловлен провирусом (V), ДНК которого входит в геном неблагополучного животного. В геноме также имеется ген-репрессор (R), влияющий на активность провируса. Заболевают особи, у которых имеются провирус и неактивный рецессивный аллель репрессора Wrg, Vvrg и частично WRg.

Лейкемогенез – многостадийный процесс. Считают, что лейкоз вызывается РНК-содержащим вирусом лейкоза крупного рогатого скота (BLV), который относится к группе ретровирусов. Этот вирус интегрирован с геномом кровяной клетки и способен к горизонтальной и вертикальной передаче.

В ретровирусах за индукцию рака ответствен онкоген. Онкогены ретровирусов имеют не вирусное, а клеточное происхождение. Предполагают, что онкоген (протоонкоген) – это измененный нормальный ген. При попадании в геном ретровируса протоонкоген активизируется и превращается в онкоген, который может трансформировать клетки. Известно 17 протоонкогенов. Однако у группы ретровирусов лимфоидного лейкоза крупного рогатого скота онкогены не обнаружены.

Генетическая обусловленность респираторных болезней. Среди респираторных болезней наиболее распространенными у свиней являются пневмония, плевриты и атрофический ринит. Показатель наследуемости устойчивости к пневмонии и плевриту – 0,14, и атрофическому риниту 0,16-0,60. Доказана наследственная предрасположенность к гемиплегии гортани у лошадей.

Также у животных существуют болезни желудочно-кишечного тракта – диарея, тимпания рубца – болезнь жвачных, характеризующаяся большим скоплением газов. Имеются болезни обмена веществ: кетозы, сопровождающиеся расстройством обмена веществ; родильный парез – болезнь, которая проявляется через несколько часов после отела у взрослых животных.

Роль наследственности в предрасположенности животных к болезням конечностей. В условиях промышленного животноводства участились заболевания конечностей. В некоторых странах выбраковка из-за болезней конечностей составляет 2,4-15,0%. У голландского скота дефектам копыт, обуславливающим хромоту, подвержены 6-7% молочных коров. Животные чаще заболевают в возрасте 4-7 лет.

Спастический парез (поражение тазовых конечностей). Болезнь характеризуется рецессивным полигенным наследованием с неполной пенетрантностью рецессивного фактора. Особенно высокая частота болезни у голштинских и абердин-ангусских быков. Существует мнение, что использование инбридинга увеличивает заболеваемость до 12-17%. У свиней изучено 13 признаков, вызывающих слабость ног. Коэффициенты наследуемости (h^2) этих признаков были от 0 до 0,56, а в среднем h^2 слабости ног равен 0,07. Рентгенографические исследования беконных свиней позволили установить, что h^2 остеохондрита конечностей равен 0,4.

Роль наследственности в предрасположенности к бесплодию. Бесплодие – нарушение воспроизводства потомства. Полное или частичное бесплодие зарегистрировано в Швеции у 65% быков. В США и Канаде из 8887 быков молочных пород выбраковано 36% из-за различных нарушений воспроизводительной способности. Различные формы бесплодия встречаются у 20-40% коров. В 32 стадах коров голштинской породы в США метриты зарегистрированы у 18,2% животных, кисты яичников – у 10,4%, задержка последа – у 8,6%, аборт – у 1,4% животных. У норвежского красного скота фенотипические корреляции задержки последа, метритов, молочной лихорадки, маститов, кетоза с бесплодием соответственно равны 0,77; 0,73; 0,69; 0,68; 0,57. Это значит, что все указанные болезни в значительной степени влияют на возникновение бесплодия. Коэффициенты наследуемости бесплодия очень малы – от 0 до 0,1. Установлено также, что среди телок белой масти бесплодных насчитывается 10-15%, среди телок чалой масти – 1-1,75, а среди черных телок – только 0,3%, в потомстве отдельных быков этот показатель может достигать 30%.

Гиполазия – недоразвитие яичников и семенников, *крипторхизм* – один или два семенника лежат в брюшной полости, мошоночная грыжа из-за большого диаметра пахового кольца, соединяющего брюшную полость с мошонкой, петли кишечника

заходят в мошонку; *гермафродитизм* – совмещение мужского и женского пола в одном организме.

Соотношение наследственных и средовых факторов на проявление наследственно-средовых болезней различно. Не полноценное кормление, высокая и низкая температура, скученность животных, воздействие радиации и т.д. ведут к снижению устойчивости организма к болезням.

Приведенные примеры указывают на необходимость учета врожденных дефектов иммунной системы. Недостаточно изучены генетический контроль синтеза иммуноглобулинов, главный комплекс гистосовместимости, гены иммунного ответа у разных видов сельскохозяйственных животных, и генетическая детерминация силы иммунного ответа у них. Интересно дальнейшее изучение у животных первичных дефектов всех звеньев иммунологической системы.

Контрольные вопросы

1. Что такое антиген, антитело?
2. Дайте характеристику Т- и В-лимфоцитов. Какова их роль в иммунной системе?
3. Какова суть направленности генетического контроля иммунного ответа?
4. Каков механизм генетического контроля иммунного ответа?
5. Что вы знаете о главном комплексе гистосовместимости?
6. Какова связь МНС с заболеваниями?
7. Какие теории иммунитета вам известны?

12. Генетические аномалии у сельскохозяйственных животных

Н. И. Вавилов при изучении мировых ресурсов культурных и диких видов растений установил, что наряду с гомологической изменчивостью в пределах отдельных родственных групп параллелизм изменчивости проявляется в семействах, генетически не связанных, даже в разных классах. Он сформулировал закон гомологических рядов в наследственной изменчивости.

Виды и роды, генетически близкие, характеризуются сходными рядами наследственной изменчивости с такой правильностью, что, зная ряд форм в пределах одного вида, можно предвидеть нахождение параллельных форм у других видов и родов. Чем ближе генетически расположены в общей системе роды и виды, тем полнее сходство в рядах их изменчивости.

Этот закон позволяет предугадывать нахождение в природе или получение искусственно путем мутаций, инбридинга и гибридизации соответствующих форм. Например, альбинизм зарегистрирован у многих видов (человека, овец, коз, собак, кроликов, мышей и т.д.). Альбинизм может быть обнаружен и у тех видов, у которых он до настоящего времени не известен. Генетический параллелизм в отношении наследственных аномалий обнаружен у человека и многих видов животных.

Исходя из закона гомологических рядов, наблюдая проявление аномалии у человека, в будущем подобные аномалии можно обнаружить и у сельскохозяйственных животных. В настоящее время у сельскохозяйственных животных изучено всего лишь несколько десятков генетических аномалий. Поэтому существует необходимость в проведении более широких исследований наследственных аномалий и их профилактики у всех видов сельскохозяйственных животных.

Тератология (от греч. *téras*, родительный падеж *tératos* – чудовище, урод, уродство и *-логия* – наука, изучающая уродства). Тератология животных исследует отклонения от нормального строения организма, обусловленные, главным образом, нарушениями зародышевого развития. По характеру проявления уродства представляют собой либо незначительные отклонения, выходящие, однако, за пределы вариаций, наблюдаемых в норме, либо резкие

нарушения нормального строения организма, часто делающие его нежизнеспособным. Научному истолкованию уродств животных и человека способствовало создание в ряде стран тератологических коллекций, что давало возможность сопоставить различные уродства и разработать их классификацию. Одна из первых подобных коллекций была собрана в конце XVII в. голландским анатомом Ф. Рейсом. Петр I во время пребывания в Голландии (1697-1698 гг.) ознакомился с этой коллекцией и в 1717 г. приобрел ее. В 1704 г. он издал указ, запрещающий убивать уродов и предписывавший сообщать о них в Монастырскую канцелярию. В 1718 г. последовал указ, обязывающий доставлять всех обнаруженных живых или мертвых уродов (людей и животных) в Кунсткамеру, что привело к быстрому пополнению открытой для обозрения тератологической коллекции. С целью анализа причин возникновения уродств в начале XIX в. пытались воспроизводить их искусственно. Первая попытка ввести в тератологию экспериментальный метод принадлежит Э. Жоффруа Сент-Илеру. Подобные опыты продолжали французские ученые И. Жоффруа Сент-Илер, Ж. Л. Прево, Ж. Б. Дюма. Однако систематические исследования уродств были проведены позднее: во Франции К. Дарестом и в России П. И. Митрофановым. Особенно широко опыты по искусственному вызыванию уродств развернулись в 1-й половине XX века, когда стала бурно развиваться экспериментальная эмбриология. Механическими воздействиями на дробящееся яйцо земноводных и рыб (позднее также птиц и млекопитающих) удавалось воспроизводить различные уродства: сращенные головными и хвостовыми концами двойники (например, работы В. Ру и Х. Шпемана), циклопию – одноглазие, связанное с нарушениями строения головного мозга (работы Х. Шпемана, Д. П. Филатова и др.). Экспериментальные уродства вызывались также при действии на дробящиеся яйца повышенной или пониженной температурой (работы О. Гертвига), излучениями, изменением химического состава среды (работы Ж. Леба), нарушением нормального дыхания зародыша. Получены многочисленные данные о тератогенном влиянии различных лекарственных веществ (снотворных, антибиотиков и др.), инсектицидов и т.д. Некоторые уродства наследуются.

Современная тератология исследует причины и механизмы возникновения наследственных и ненаследственных врожденных

патологических состояний и пороков развития. Ее основная задача – предотвращение появления у животных и человека врожденных пороков развития. Для их профилактики важное значение имеет выявление тератогенов, с которыми могут сталкиваться животные и человек. Так, все новые лекарства перед их клиническим применением проходят испытания на тератогенность на эмбрионах животных, испытываются также ядохимикаты, применяемые в сельском хозяйстве, и т.д. Тератология представляет интерес и для биологии развития, так как отклонения, возникающие под влиянием тератогенов или мутантных генов, служат одним из способов познания движущих сил и контролирующих механизмов нормального зародышевого развития животных и человека.

Причинами уродства могут быть генетические, физические (ионизирующие облучения, температура, травмы, дефицит кислорода и т. д.), химические (лекарства, соединения свинца, мышьяка, фенольные и др.) и биологические (вирусы, бактерии и т. д.) факторы.

Вещества и организмы, вызывающие отклонения от нормального развития, называют тератогенами.

Понятие «дефект» относится не только к грубым морфологическим изменениям в организме, но и ко всем изменениям, ведущим к снижению жизнеспособности и адаптационной способности. Часто все отклонения от нормы называют аномалиями или дефектами.

Согласно международной классификации все врожденные дефекты развития подразделяются на 4 группы: врожденные пороки развития, дизрупции, деформации и дисплазии.

Внешние факторы-тератогены, действующие в периоды раннего эмбрионального развития, приводят либо к гибели зародыша, либо к аномалиям его строения. Антенатальная (т. е. до рождения) гибель у человека, вызванная нарушениями внутриутробной жизни, достигает 70%. Это означает, что из каждых десяти зачатий семь заканчивается смертью зародыша. К счастью (если здесь вообще уместно это слово), большинство зародышей гибнет в первые дни своего существования;

В качестве основной причины этого называют патологию первых делений дробления зиготы и нарушения имплантации.

Аномалии развития уродства возникают, главным образом, в период органогенеза, т. е. тогда, когда согласно теории

критических периодов, закладки органов наиболее активно развиваются, когда они возникают из группы малоспециализированных клеток, устанавливаются их форма, соотношения частей.

Пороки развития, т. е. тератогенные эффекты, могут проявляться как анатомическими дефектами (собственно уродства), так и генными или цитогенетическими нарушениями (биохимические и функциональные нарушения).

Вредные факторы, вызывающие аномальное развитие плода, называются тератогенными. Их можно разделить на отдельные группы:

- Недостаточное и несбалансированное (неправильное) питание матери, кислородная недостаточность. Различные заболевания матери, особенно острые (коровая краснуха, скарлатина, грипп, вирусный гепатит, паротит и др.) и хронические инфекции (листериоз, туберкулез, токсоплазмоз, сифилис и др.).

- Осложнения беременности – токсикозы и присоединившиеся болезни.

- Различные лекарственные средства, особенно гормональные препараты, применяемые во время беременности.

- Вредные производственные факторы и химические вещества, загрязняющие окружающую среду, высокая температура производственных помещений, шум, пыль, повышенная физическая нагрузка, вынужденное положение тела, напряжение зрения и т. д.

- Ионизирующие излучения.

- Вредные привычки (курение, употребление алкоголя, наркомания, токсикомания).

Классификация форм наследственной патологии. В зависимости от соотношения наследственности и среды все формы болезней можно разделить на четыре группы, между которыми нельзя провести четких границ:

1. Наследственные болезни, обусловленные генетическими факторами. Эти болезни возникают в результате мутаций обычно одного или двух генов, для которых характерно простое наследование. Среда в этом случае может только усилить или ослабить проявления болезней. К этой группе относятся, например, гемофилия, атрезия ануса, а также хромосомные болезни.

2. Наследственные болезни, обусловленные вредными генами, но для проявления которых нужны определенные условия среды (серповидно-клеточная анемия и т. д.).

3. Наследственно-средовые болезни, при которых основным этиологическим фактором являются условия среды, однако проявления болезни обусловлены и генетическими факторами. В эту группу входит большое число болезней: мастит, туберкулез, лейкоз, язва желудка, болезни сердца и т. д. Для разных болезней в этой группе может быть характерна слабая, средняя и высокая степень наследственного предрасположения, и обусловлены они, как правило, полигенами.

4. Средовые (экзогенные) болезни, обусловленные исключительно факторами среды, например, травмы, ожоги, обморожения и т.д. Наследственные факторы оказывают влияние лишь на течение болезни и не могут влиять на ее исход.

Не существует единой формы классификации генетических аномалий. По числу генных локусов, кодирующих аномалии, можно выделить моногенные и полигенные болезни. Полигенное наследование характерно для болезней с наследственной предрасположенностью. Выделяют хромосомные болезни, обусловленные анеуплоидией, хромосомными перестройками и полиплоидией, при которых обычно наблюдаются множественные нарушения в организме. Предлагают классификацию и по преимущественно поражаемой системе органов (системно-органная классификация). Однако при хромосомных болезнях аномалии встречаются во многих системах и органах. Поэтому Н. П. Бочков и его соавторы (1984) более правильной считают классификацию по первичному биохимическому дефекту, обнаруживаемому при наследственных болезнях. К сожалению, известно пока очень мало наследственных болезней с установленным первичным биохимическим изменением, называемым мутацией. Необходимо сказать, что все классификации болезней, аномалий и определения терминов не являются полностью удовлетворительными и окончательными.

Пенетрантность и экспрессивность. Не у всех особей с одинаковым генотипом могут проявляться аномалии. Степень проявления дефекта может быть разной и у организмов одного и того же генотипа.

Пенетрантность определяется по проценту особей популяции из числа несущих данный ген, у которых он проявился. При

полной пенетрантности доминантный или гомозиготно-рецессивный аллель проявляется у каждой особи, а при неполной пенетрантности – у части особей.

На экспрессивность могут влиять гены-модификаторы и факторы среды. У мутантов с неполной пенетрантностью часто изменяется и экспрессивность. Пенетрантность – явление количественное, экспрессивность – качественное.

Видимо, для многих болезней характерна разная степень проявления признака, т. е. экспрессивность. Примером может служить рецессивная синдактилия (слияние пальцев, однопалость) у крупного рогатого скота. Однопалость может быть на одной, двух, трех и четырех конечностях. В качестве примера разной экспрессивности можно назвать полидактилию (многопалость) у кур, дефекты кожи, адактилию (отсутствие одной или более конечностей), пупочные грыжи у животных и др.

Типы наследования аномалий. Прежде чем приступить к рассмотрению этого вопроса, следует обратить внимание на широкоиспользуемый термин «врожденные болезни». К ним относятся все болезни, с которыми рождается особь. Эти болезни могут быть обусловлены как наследственностью, так и различными факторами среды. Под воздействием тератогенных факторов могут возникнуть мозговые грыжи, слияние позвонков и т.д.

Поэтому не всякая врожденная аномалия является наследственной, и термин «врожденная болезнь» не может быть использован как синоним термина «наследственная болезнь».

Часто генетическая аномалия по фенотипу не отличается от наследственного дефекта. Однако возникшее фенотипическое изменение не наследуется, так как сам генотип остался неизменным. Поэтому важно при организации мероприятий по сокращению распространений генетических аномалий в стадах различать фенокпии и наследственные дефекты. Этого можно достигнуть путем использования генеалогического анализа. Так, А. И. Жигачев в двух племенных хозяйствах Ленинградской области в течение 3 лет наблюдал появление уродств, выражающихся в отстаивании роста и развития крестцово-бедренной части скелета у телочек и быков. Эти животные напоминали по внешнему виду гиен, у них отмечались недоразвитие бедренных костей, нарушение гормонального статуса и т.д. Генеалогический анализ животных с «синдромом гиены» показал, что они происходят от отцов,

не связанных общностью происхождения. Сделано заключение, что данная аномалия не наследственная.

Главный метод изучения наследования аномалий у животных с большим интервалом между поколениями – анализ родословных. У птиц и кроликов для этого можно использовать гибридологический анализ. Изучение наследования начинают с диагностики аномалии, потом проводят генеалогический анализ и завершают установлением типа наследования. Клинико-генеалогический анализ дает возможность проследить менделевское расщепление и независимое распределение признаков или их сцепление, изучить монофакториальное наследование, источник распространения аномалии и т.д.

Для исследования составляют родословные и анализ начинают с «пораженного» животного, которого называют пробандом. При составлении родословной можно воспользоваться международной системой условных обозначений у человека. Женская особь обозначается кружком, мужская – квадратом. Обычно у животных при скрещивании слева изображают самку, справа – самца. Поколения нумеруют римскими цифрами (I, II, III и т.д.). В каждом поколении потомков нумеруют арабскими цифрами слева направо. Особи с аномалиями обычно обозначают зачерненными символами, а при изучении нескольких аномалий по одной родословной используют и другие символы.

Аутосомно-рецессивный тип наследования, при котором аномалию обуславливает рецессивный ген, находящийся в аутосоме, поэтому у мужских и женских особей данный дефект проявляется с одинаковой частотой. Для проявления болезни вредный ген должен быть в гомозиготном состоянии и обладать полной пенетрантностью. Гетерозиготные носители аномального гена не отличаются от животных с нормальными аллелями. Однако для некоторых признаков разработаны методы, позволяющие с помощью биохимического анализа выявить гетерозиготных носителей вредного гена. При изучении родословных, иллюстрирующих аутосомно-рецессивный тип наследования аномалии, часто видно, что наследственный дефект проявляется не в каждом поколении, а так называемом «проскакивающим поколении».

Аутосомно-доминантный тип наследования, при котором для аномалий характерны следующие особенности:

1. проявление аномалии в каждом поколении у гетерозиготных особей. Поэтому в отличие от рецессивных дефектов, как правило, не наблюдается «проскакивающего поколения»;

2. не всегда наблюдается полная пенетрантность гена. Поэтому у некоторых гетерозигот признак не проявляется;

3. наблюдается изменчивость в степени выраженности некоторых аномалий (разная экспрессивность). У особей с одинаковым генотипом степень клинического проявления признака различна;

4. встречается позднее проявление некоторых доминантных болезней (известны пока у человека). Например, хорея Геттингтона проявляется у людей в возрасте 41-45 лет;

5. редкая встречаемость в популяциях доминантных летальных аномалий. Это связано с тем, что животные с летальным дефектом не оставляют потомков, поэтому постоянно происходит элиминация доминантных летальных генов, которые вновь появляются только в результате мутаций.

Здесь нужно сказать о доминантных генах, обуславливающих тот или иной признак и обладающих рецессивным летальным действием.

Наследование, сцепленное с X-хромосомой, относится к признакам, гены которых находятся в X-хромосоме. Эти гены могут быть рецессивными и доминантными. Особенность наследования, сцепленного с X-хромосомой, заключается в том, что отсутствует передача признака от отца к сыну, т. е. по мужской линии. Поскольку мужские особи гомозиготны (гены имеются только в X-хромосоме), у них проявляются любые рецессивные гены. Если мы имеем дело с летальной мутацией, то у млекопитающих мужские особи погибают и не могут передать этот ген потомкам. Женские особи в этом случае являются только носителями летального рецессивного гена. О сцепленном с полом наследовании можно узнать и по нарушению соотношения самцов и самок.

Потомки не всегда имеют признак родителей, поскольку не все изменения затрагивают генотип. Поэтому очень важно различать фенкопии и наследственные дефекты, особенно при проведении мероприятий, направленных на сокращение распространения генетических нарушений.

Методы изучения:

генеалогический – у животных с большим интервалом между поколениями; *гибридологический* – у птиц и кроликов.

Методы изучения включают 4 этапа:

- изучение аномалии, ее диагностика;
- генеалогический анализ;
- установление типа наследования;
- построение родословной.

Аутосомно-рецессивный тип наследования. Проявляется и у мужских, и у женских особей в гомозиготном состоянии при полной пенетрантности.

Характерно:

- дефект проявляется не в каждом поколении, а так называемом «проскакивающем поколении».

Аутосомно-доминантный тип наследования

Характерно:

- аномалия появляется в каждом поколении;
- не всегда наблюдается полная пенетрантность гена, у некоторых гомозигот признак отсутствует;
- изменчивость в степени выраженности некоторых аномалий;
- у особей с одинаковым генотипом степень клинически выраженных признаков может быть разной;
- встречается позднее проявления некоторых доминантных болезней, чаще у человека;
- редкая встречаемость таких генов в популяции, так как редко остается потомство.

Наследование, сцепленное с полом (X-хромосомой). Локализация в половой хромосоме доминантных или рецессивных генов.

Характерно:

- отсутствует передача признака от отца к сыну, т. е. по отцовской линии;
- рецессивные гены в любом случае проявляются у мужских особей (гемизиготное состояние);
- у женских особей проявляются признаки только при доминантном состоянии мутированного гена либо при гомозиготном состоянии рецессивного гена;
- возможно нарушение соотношения полов у молодняка.

Летальные гены. Гены и хромосомные нарушения, вызывающие гибель организма до достижения им половой зрелости, называются летальными. Действие летальных генов может проявляться на любой стадии онтогенеза. Чаще действие летальных генов

проявляется в эмбриональный период или вскоре после рождения организма.

Обычно возникшие мутации отрицательно действуют на жизнеспособность организмов. В результате мутаций появляются рецессивные и доминантные гены. Но четкой границы между ними нельзя провести, так как встречаются все формы от рецессивного действия до полного доминирования. Швейцарский ученый Хадорн разделил менделирующие единицы по степени их пенетрантности:

1. летальные гены, вызывающие 100% гибель организмов;
2. сублетальные гены (полулетальные), обуславливающие гибель 50-99% особей;
3. субвитаальные гены, вызывающие гибель менее 50% особей.

Конечно, между этими генами нет четких границ, но такое разделение удобно в систематическом отношении.

При полной пенетрантности рецессивные летальные гены проявляются в гомозиготном состоянии, а если они сцеплены с X-хромосомой, то фенотипически проявляются в гомозиготном состоянии у самцов млекопитающих или самок птицы. Как уже было сказано, летальные доминантные гены в каждом поколении возникают вновь. Животных, носителей летальных генов, не выбраковывают, так как эти гены в гетерозиготном состоянии обуславливают развитие хозяйственно полезного признака.

Известно, что при инбридинге чаще всего наблюдается эмбриональная и постэмбриональная смертность. Иногда эта смертность вызвана летальными, полулетальными и субвитаальными генами. Вредное действие генов может проявиться и в снижении общей приспособленности.

Действие может быть в любой период онтогенеза, чаще в эмбриональный период или вскоре после рождения.

Частота появления вредных аномалий в популяции. Известно, что наследственные аномалии – результаты генных или хромосомных мутаций (нарушение числа хромосом, структурные их нарушения). Частота естественного возникновения мутаций у сельскохозяйственных животных малоизучена, но, видимо, она сопоставима со скоростью мутирования у человека. Частота мутаций для большинства генов составляет $1 \times 10^5 - 1 \times 10^6$ за поколение. Однако имеются гены с более высокой и низкой мутабельностью.

Частота доминантных летальных болезней практически совпадает с частотой спонтанного мутирования. Это связано с тем, что особи с доминантными летальными генами не оставляют потомства, поэтому в каждом поколении эти гены возникают только в результате мутирования. Частоту доминантных летальных болезней можно определить по появлению аномальных особей среди новорожденных.

Суммарная частота всех аутосомно-доминантных болезней на 1000 новорожденных равна 7, аутосомно-рецессивных – 2, а сцепленных с X-хромосомой – 0,4 (Н. П. Бочков и др.). Загрязнение среды химическими и физическими мутагенами повышает частоту мутаций. Около 90% мутагенов обладает и канцерогенными свойствами.

Во внутриутробный период из-за хромосомных аномалий происходит 42% спонтанных аборт. В первом триместре беременности хромосомные аномалии обнаруживаются у 53% аборт, во втором триместре – у 30, а на 20-27-й неделе – у 6,6%. Перинатальная смертность связана с хромосомными отклонениями в 6,2% случаев.

Из всех случаев смертности ягнят около 3,5-7,5% обусловлено наследственными дефектами, что составляет 1% от всех рожденных ягнят.

Хромосомные аномалии имеются, по меньшей мере, у 10% оплодотворенных яйцеклеток и у 5-6% плодов. Обычно хромосомные аномалии вызывают самопроизвольный аборт на 8-11-й неделе беременности, а также могут быть причиной поздних самопроизвольных абортов и мертворождений.

Согласно результатам обследований более чем 65000 новорожденных, проведенных в разных лабораториях, значительные хромосомные aberrации или изменение числа хромосом выявляются примерно у 0,5% детей. По крайней мере, у 1 из 700 детей имеется трисомия по 21, 18 или 13-й хромосоме; приблизительно у 1 из 350 новорожденных мальчиков – кариотип 47,XXY или 47,XYU; у одного ребенка на каждые несколько тысяч новорожденных – моносомия по X-хромосоме; у одного из 500 – хромосомные aberrации, большинство которых генетически компенсировано.

При умственной отсталости существенные хромосомные аномалии находят у 10-15% больных, а если есть сопутствующие

анатомические дефекты – еще чаще. У мужчин, страдающих бесплодием или поведенческими расстройствами, часто имеется лишняя *X*- или *Y*-хромосома. У женщин при бесплодии и пониженной фертильности часто обнаруживают aberrации *X*-хромосомы или моносомию по *X*-хромосоме. При первичной аменорее aberrации *X*-хромосомы находят примерно у четверти женщин. Хромосомные aberrации нередко обнаруживают при бесплодии как у мужчин, так и у женщин.

Генетический груз. Наличие в популяции летальных и других отрицательных мутаций, вызывающих при переходе в гомозиготное состояние гибель особей или снижение их жизнеспособности свидетельствует о присутствии генетического груза. Выделяют три категории груза: мутационный, субституционный (переходный) и сегрегационный. Мутационный груз возникает в результате повторных вредных мутаций. Переходный генетический груз возникает в тех случаях, когда аллель, обеспечивающий адаптационную норму, в измененных условиях среды становится отрицательным. Сегрегационный генетический груз возникает в результате того, что приспособленность гетерозигот выше, чем гомозигот. Примером этого может служить серповидно-клеточная анемия. Ген серповидно-клеточной анемии *HbS* сохраняется в популяции потому, что в зонах, неблагоприятных по малярии, он в гетерозиготном состоянии обеспечивает устойчивость к малярийному плазмодию.

Генетический груз можно обнаружить на этапах онтогенеза путем учета:

- гибели эмбрионов, т. е. пренатального генетического груза;
- аномалий у новорожденных и соотношения полов;
- проявления аномалий в последующие периоды онтогенеза.

Летальный эквивалент – это мутация, ведущая к смерти в 100% случаев, или две мутации, каждая из которых вызывает смерть с 50%-й вероятностью, или три мутации – с 33%-й вероятностью смерти и т. д. Среднее число летальных эквивалентов можно определить по приросту в потомстве вредных дефектов, появившихся при инбридинге, в сравнении с этим показателем при аутбридинге. Предполагают, что у человека имеется 8 вредных генов на индивида. У кур породы леггорн летальный эквивалент равен 4,2. У телят джерсейской породы летальный эквивалент, определенный от рождения до 2-месячного возраста, равен 2,1. Проверка быков-производителей с использованием инбридинга

показала, что нет животных, полностью свободных от вредных генов.

В связи с этим необходимо знать величину генетического груза в популяциях животных, геногеографию аномалий и следить за изменением груза в процессе селекции. Для решения этих задач следует проводить мониторинг.

В популяции животных возможен рост генетического груза вследствие увеличения давления мутагенов среды. Кроме того, в некоторых популяциях возможно изменение генетического груза в результате генетического дрейфа и миграции.

Важность проведения мониторинга генетического груза особенно необходима в связи с широким завозом в нашу страну крупного рогатого скота голштинской и других пород.

Генные аномалии у животных. Изучены десятки наследственных болезней у каждого вида сельскохозяйственных животных, и их число постоянно растет. Эти болезни наследуются в соответствии с законами Менделя. Селекционеру необходимо знать фенотипическое проявление аномалий и тип их наследования. У крупного рогатого скота описано более 90 наследственных дефектов, у свиней зарегистрировано 60 аномалий, у овец – 90, у лошадей – более 15, у кур – более 50. Частота наследственных аномалий может быть различной в разных породах и стадах. В США среди животных красной датской породы 25% гетерозиготны по аллелю, отвечающему за паралич задних конечностей, и 11% – по аллелю, обуславливающему анкилоз суставов. По данным А. И. Жигачева, в костромской породе среди аномальных телят чаще встречаются укорочение челюсти (31%) и искривление конечностей (22%); в ярославской породе – синдактилия, в холмогорской – контрактура мышц, а в черно-пестрой – пупочные грыжи. В ФРГ у крупного рогатого скота чаще регистрируются аномалии центральной нервной системы (21%). В среднем в популяциях частота телят с дефектами составляет 1%.

Маннозидоз – болезнь, обусловленная рецессивным аутосомным геном, вызывает нарушение обмена веществ в результате накопления гликопротеиновых остатков внутри лизосом из-за низкой активности лизосомной маннозидозы. Это одна из немногих наследственных болезней животных, когда можно выявить гетерозиготных носителей.

Тестом для этого служит активность маннозидозы в крови и тканях, которая составляет половину активности в сравнении с нормальными гомозиготными животными. В зарегистрированных стадах крупного рогатого скота ангусской породы в Австралии частота гетерозигот равна 5,7%. У галловейского скота зарегистрировано 17,9% гетерозигот, а у серой муррейской – только 2,8%.

В 49-64% племенных стад выявлены носители болезни. В коммерческих стадах ангусского скота, где раньше регистрировался маннозидоз, гетерозигот было 22%. В коммерческих стадах, где раньше болезни не было, выявлено 7,7% гетерозигот по маннозидозу. Предлагается исключить гетерозиготных животных по маннозидозу из селекционных программ. Однако это следует делать осмотрительно, чтобы сохранить генофонд популяций.

Селекционер иногда разводит животных – носителей вредных генов. Это касается тех случаев, когда гетерозиготы обладают какими-то хозяйственно полезными признаками. Эти признаки обычно обусловлены доминантными генами с рецессивным летальным действием. У черно-пестрых коров голландского происхождения, гетерозиготных по гену «ампутированности» конечностей, отмечены более высокая молочность и жирномолочность. Подобные гены могут быть связаны с лучшей приспособленностью (как при серповидно-клеточной анемии), поэтому их не всегда следует элиминировать у животных.

Таким образом, любая популяция животных насыщена рецессивными вредными генами, которые возникают в результате спонтанного мутационного процесса. Частота мутаций возрастает при увеличении загрязнения среды химическими соединениями и источниками ионизирующих излучений. Примеры распространения наследственных аномалий были приведены выше. Всегда существует вероятность случайного распространения вредных генов в некоторых стадах и породах.

Следует учитывать и тот факт, что при широком применении искусственного осеменения с использованием спермы лучших быков можно получить десятки тысяч потомков. Легко представить последствия, когда один из таких производителей является носителем рецессивного летального гена.

Скрещивание проверяемых производителей с самками из общей популяции – самый распространенный метод выявления

гетерозиготных носителей вредных генов. Поскольку при искусственном осеменении сперма производителей используется во многих хозяйствах, имеется возможность выявления гетерозиготных носителей. Эта возможность тем более увеличивается, чем выше частота вредной аллели в популяции.

Следует еще раз подчеркнуть возможность и необходимость строгого учета дефектных потомков, включая их клиническое, биохимическое, патологоанатомическое, цитогенетическое и гистологическое исследования. О всех случаях появления аномального потомства селекционеры хозяйств должны посылать сведения на племпредприятия. Появление от одного производителя, особенно в нескольких хозяйствах, потомков с одинаковыми дефектами позволит работникам племпредприятий провести более детальный анализ и с большей вероятностью выявить гетерозиготных носителей. Селекционеры хозяйств обязаны также проводить исследования на выявление носителей рецессивных аномалий. Носители рецессивных летальных генов должны быть выбракованы.

Данные о носителях наследственных аномалий (генных и хромосомных) должны регистрироваться в племкарточках, каталогах производителей и государственных племенных книгах.

Селекционные мероприятия позволят значительно снизить частоту рецессивных нежелательных аллелей и контролировать их на низком уровне. Однако полностью элиминировать вредные рецессивные гены в популяциях животных невозможно. Это связано с постоянным возникновением мутаций, трудностью выявления гетерозиготных носителей, особенно когда частота аллелей в популяции очень низкая, а также в некоторых случаях селективным преимуществом гетерозигот.

У сельскохозяйственных животных изучены сотни генетических (наследственных) аномалий, однако их число постоянно увеличивается. Генетикам-селекционерам следует знать фенотипическое проявление аномалий, тип их наследования у сельскохозяйственных животных разных видов. Так, у крупного рогатого скота описано более 400 наследственных аномалий, у лошадей – 30, у овец – 100, у свиней – 150, у кур – 100.

По степени влияния на жизнеспособность наследственные дефекты, или факторы, подразделяются на летальные, полuletальные и субvитальные. *Летальными*, или *смертоносными*, факторами называют такие, которые вызывают смерть особи до

достижения ею стадии половой зрелости. К *подлетальным* (*сублетальным*) факторам относят такие мутации, при которых погибает не менее 50% особей с летальными задатками. Если частота смертности аномальных особей ниже 50%, такой фактор называют *субвитальным*.

Исследования показали, что причина одних аномалий – в основном генетические факторы, других – сочетание генетических факторов с определенными условиями внешней среды, третьих – внешнесредовые, или экзогенные (ненаследственные), факторы. В соответствии с этим аномалии подразделяют: 1) на генетические; 2) наследственно-средовые; 3) экзогенные.

Генетические аномалии – это морфофункциональные нарушения в организме животных, возникающие в результате генных и хромосомных мутаций. Генные мутации могут нарушать морфогенез органов и тканей на разных этапах онтогенеза, отсюда столь широкий спектр врожденных аномалий, связанных с изменениями молекулы ДНК. Изменения числа хромосом в клетках или их структуры приводят обычно к прекращению развития эмбриона или рождению особей с тяжелыми пороками развития, нарушению у животных воспроизводительной функции.

Основная роль в этиологии врожденных аномалий принадлежит летальным и сублетальным генам. Так, у человека известно около 2000 аномалий, обусловленных мутантными генами с летальным или сублетальным действием. Большое число таких же признаков изучено у животных. За последнее время значительно расширились знания о хромосомных aberrациях и их связи с нарушениями жизненно важных функций организма животных. Генетические аномалии представляют собой признаки, контролируемые одной парой аллельных генов (главных генов по Мазеру). Характерной особенностью наследования для этой категории аномалий является мендельский тип распределения, соответствующий доминантным и рецессивным качественным признакам. Для проявления генетической рецессивной аномалии достаточно наличия в обеих хромосомах двух одинаковых мутантных генов.

В отношении определенной категории врожденных аномалий можно говорить, что проявление их примерно в равной степени зависит от эндогенных (генотипа) и экзогенных (внешняя среда) факторов. Это так называемые наследственно-средовые аномалии. Предполагается, что они контролируются полилокусной системой

генов. Фенотипическое проявление этих признаков зависит от количества мутантных генов, обуславливающих аномалию. Существует понятие порога действия таких генов, что соответствует их числу или силе кумулятивного эффекта. Если число генов или сила их действия превышает порог, аномалия проявляется. Если эти показатели ниже порога, животное остается нормальным. Сила кумулятивного действия генов, а соответственно фенотипическое проявление аномалии, очевидно, зависят от условий среды. При изменении последней в худшую сторону вредный эффект генов проявляется, в оптимальных условиях среды порог для проявления аномалии, очевидно, повышается.

В некоторых случаях фенотипически сходные аномалии имеют разную генетическую детерминацию (генокопии). С одной стороны, это указывает на генотипическую гетерогенность аномалий. С другой стороны, как это было впервые показано Гольдшмитом, фенотип генетической аномалии может быть «скопирован» факторами внешней среды у особей с определенным генотипом. Такие аномалии Гольдшмит называл фенокопиями. Впоследствии было установлено, что образование фенокопий происходит под действием одновременно генетических и средовых факторов. Ландауэр, объясняет причину фенокопий более сильной чувствительностью на тератогенные вещества гетерозиготных носителей рецессивных мутаций, а также совместным влиянием генов-модификаторов и факторов среды.

Аномалии могут возникать в результате действия на эмбрион или плод определенных повреждающих факторов внешней среды, которые называются тератогенами. Эти нарушения могут диагностироваться уже после рождения, если тератогенный фактор воздействует в послеутробный период развития.

Аномалии, или пороки развития, возникающие в результате действия на организм факторов внешней среды, являются ненаследственными, или экзогенными. Тератогенные факторы внешней среды можно разделить на физические, химические и биологические. Тератогены одновременно могут быть и мутагенами. Если повреждающий фактор действует на генетический аппарат половых клеток, он вызывает наследуемую мутацию. В другом случае при воздействии на зрелые соматические клетки возникает соматическая мутация, а в третьем варианте, когда мишенью являются незрелые эмбриональные клетки, вредное вещество

проявляет тератогенное действие. Для установления причин врожденных аномалий необходимо провести комплексный анализ на наличие или отсутствие действия тератогенных факторов и влияния наследственности.

Проявление наследственно обусловленных аномалий замыкается в пределах определенных семейств и родственных групп животных. Исходя из этого, основным методом генетического анализа аномалий является семейно-групповой метод в пределах одного или нескольких поколений животных. Важное значение в проведении генетического анализа имеют данные патологической анатомии, гистологии, цитологии, физиологии, биохимии, рентгенологии и других наук. Например, установлено, что аномалия с клиническими признаками нарушения координации движений, агрессивности и летального исхода у телят проявлялась в определенных типах спариваний. Механизм ее возникновения и возможности профилактики открылись благодаря биохимическому анализу. У аномальных животных обнаружили почти полное отсутствие фермента кислой маннозидазы вследствие рецессивной мутации. Гетерозиготные носители мутантного гена содержали в сыворотке крови половину нормы этого фермента. Нарушение воспроизводительной функции у животных могут иметь разные причины. С помощью цитогенетического анализа можно установить, являются ли эти нарушения следствием транслокаций или других аберраций хромосом.

В результате исследований в ветеринарной генетике было установлено, что далеко не при всех формах или даже случаях патология – простой менделирующий признак. Часто она обусловлена действием двух (или нескольких) пар неаллельных генов, при сочетании которых возникает та или иная аномалия. Например, спастический парез у крупного рогатого скота проявляется при взаимодействии не менее пяти пар генов. Полигенное или мультифакториальное наследование может иметь место во многих случаях врожденной патологии животных. Это связано с тем, что развитие даже отдельного признака детерминировано многими парами генов, мутации которых могут приводить к той или иной аномалии развития. При этом патологический фенотип проявляется тогда, когда суммарное действие генетических и средовых факторов достигает определенного уровня, или порога. Выраженность патологического признака может меняться

от нулевого до максимального в зависимости от количества генов, аллелей, появление аберраций хромосом в значительной степени зависит от генетических факторов. Действия нескольких мутантных генов аномалия может возникнуть в результате влияния одного, так называемого главного, гена.

Полигенная модель наследования имеет следующие общие характеристики:

- высокая частота в популяции;
- существование клинических форм, образующих непрерывный ряд от скрытых субклинических до резко выраженных проявлений;
- относительно низкий уровень конкордантности по манифестным проявлениям аномалии у монозиготных близнецов (60% и ниже), тем не менее существенно превышающий соответствующий уровень у дизиготных близнецов;
- несоответствие закономерностей наследования простым мендельским моделям;
- сходство клинических и других проявлений аномалии у ближайших родственников и пробанда, что отражает коэффициент наследуемости (для полигенных аномалий он превышает 50-60%, для моногенных – 100%).

Мультифакториальная модель наследования аномалии (так же, как и выше рассмотренные моногенные) предполагает, что вероятность проявления патологии среди родственников и уже ее имеющих много выше, чем в общей популяции. Вероятность проявления аномалии зависит от степени родства с аномальным родственником.

Известно, что некоторые виды, породы, группы и отдельные животные устойчивы или восприимчивы к тем или иным болезням. Наследственная резистентность или восприимчивость возникает при сопряженной эволюции микро- и макроорганизмов в результате мутационного процесса. Удельный вес генетически обусловленных болезней и аномалий у сельскохозяйственных животных составляет около 6-8%. Имеется другая очень важная группа болезней, генетическая природа которых мало изучена. Это болезни с *наследственной предрасположенностью*, или *наследственно-средовые*, возникающие под воздействием наследственности и факторов среды (лейкоз, мастит, туберкулез, болезни конечностей

и т.д.). Приблизительно они составляют 92% среди всех болезней животных и причиняют огромный экономический ущерб животноводству, а некоторые из них (туберкулез, бруцеллез и др.) представляют опасность и для здоровья человека.

Резистентность – устойчивость организма к действию физических, химических и биологических агентов, вызывающих патологическое состояние. Это понятие несколько шире, чем иммунитет, хотя часто их используют как синонимы.

Восприимчивость – предрасположенность организма к действию физических, химических и биологических факторов, приводящих к патологическому состоянию. Устойчивость и восприимчивость у животных одного вида, как правило, не абсолютная, а относительная. Она может быть высокой, средней и низкой.

Болезнь можно определить как нарушение нормальной деятельности организма. *Заболевание* – возникновение болезни. *Заболеваемость* – это частота заболеваний в популяции или болезненность, болезненное состояние. Возбудители болезней обладают *патогенностью* (болезнетворностью), т.е. способностью паразитировать в организме животного. Патогенность – наследственный признак возбудителя данного вида. *Вирулентность* – степень патогенности в отношении животных определенного вида. Вирулентность может различаться у разных штаммов одного вида возбудителя.

Генетическая природа болезней с наследственной предрасположенностью мало изучена. Для этой группы болезней характерны: 1) полифакториальное (обусловленное многими факторами) контролирование устойчивости и восприимчивости; 2) влияние условий среды; 3) непрерывный переход от выраженных форм болезни до нормы, т.е. от восприимчивости до устойчивости; 4) высокая распространенность, незначительные генетические различия между популяциями; 5) большая изменчивость возраста проявления болезни; 6) часто незначительная конкордантность в парах однояйцевых близнецов.

Устойчивость или восприимчивость относится к *пороговым признакам* – это признаки, распределение которых при расщеплении происходит прерывисто, но наследуются они полифакториально. Следует помнить, что наследственно восприимчивые животные не заболевают, если нет вирулентного возбудителя. Устойчивость или восприимчивость к болезням иногда зависит

от одного или немногих генов, но чаще определяется множеством локусов. Полигенный контроль устойчивости к болезням не дает возможности разграничить фенотипы вследствие маскирующего действия условий среды и небольшого эффекта отдельных генов. При полигенном наследовании в популяции наблюдается нормальное распределение по устойчивости или восприимчивости у родителей и гибридов первого поколения. Генетический контроль резистентности может быть изучен при скрещивании родителей с контрастными фенотипами и анализе гибридов F_1 , а также потомства от скрещивания F_1 с родительскими формами. При полифакториальных болезнях выделяют два основных типа распределения: первый характеризуется многообразием стертых и субклинических вариантов, которые образуют непрерывный переход от нормы до выраженных форм болезни; при втором наблюдают множественные переходные варианты патологии между типичными формами проявления того или иного заболевания.

Существует несколько основных подходов к изучению генетической обусловленности устойчивости и восприимчивости животных к болезням: 1) клинико-генеалогический анализ; 2) близнецовый анализ; 3) выявление породных, межлинейных и межсемейных различий; 4) селекционный эксперимент; 5) популяционно-статистический анализ; 6) анализ связи заболеваний с маркерными генами. При изучении наследственной устойчивости и восприимчивости используют не один, а совокупность указанных методов в различном сочетании.

Клинико-генеалогический анализ. Для проведения этого анализа составляют генеалогические схемы семейств и линий с указанием всех случаев заболеваний. С помощью данного метода можно выяснить природу наследственных болезней, тип наследования, сцепление генов, картирование хромосом, взаимодействие генов, влияние инбридинга на частоту пораженности животных.

Близнецовый метод дает возможность определить соотносительную роль наследственности и среды в этиологии болезни. Для этого определяют конкордантность и дискордантность. *Конкордантность* – присутствие или отсутствие болезни у обоих близнецов, а *дискордантность* – явление, при котором данный признак имеется лишь у одного близнеца. Часто конкордантность у однояйцевых близнецов проявляется не только в наличии болезни, но и в возрасте ее возникновения и клиническом проявлении. Данный

метод позволяет получить доказательство генетической детерминации устойчивости к болезни, но не говорит о типе наследования резистентности (моногенный, полигенный, аутомсомный или сцепленный с полом и т.д.).

Породные, межпородные и межлинейные различия. Анализ этих различий по устойчивости к болезням свидетельствует о роли генетических факторов в детерминации этого признака. Например, шотландские черноголовые овцы более резистентны к гемонхозу, чем животные породы финский дорсет.

Селекционный эксперимент. Если в результате отбора повышается резистентность к заболеванию, то это говорит о генетической обусловленности резистентности и восприимчивости. Чем успешнее селекция, тем с большей вероятностью можно предполагать, что устойчивость или восприимчивость контролируется небольшим числом локусов.

Популяционно-статистический метод используется для изучения генетики устойчивости и восприимчивости мультифакториальных болезней, как и при изучении хозяйственно-полезных признаков. В этом случае структура популяции не может быть охарактеризована частотами отдельных генов и соотношением генотипов. Поэтому используют такие статистические величины, как среднее арифметическое, среднее квадратическое отклонение, варианты. Вычисляют коэффициенты корреляции и регрессии между родственниками.

Связь генетических маркеров с предрасположенностью к болезням. Анализ этой связи – еще один путь доказательства наследственной детерминации устойчивости-восприимчивости к болезням. Более перспективным может быть поиск генетических корреляций с подверженностью к болезням не с одним, а с несколькими маркерами. Так, у человека коэффициент генетической корреляции холестерина плазмы с подверженностью к ишемической болезни сердца равен 0,54.

В основе профилактики аномалий или болезней лежит устранение причин, обуславливающих их. Причинами генетических аномалий являются мутации главных генов (олигогенов). Следовательно, для профилактики генетических аномалий необходимо предотвращать возникновение вредных мутаций в популяциях животных. Снижение частоты индуцированных мутаций можно обеспечить путем жесткого контроля за состоянием окружающей

среды, устранения контактов животных и их гамет с мутагенами. Эффективность таких мероприятий зависит, во-первых, от согласованной деятельности специалистов сельского хозяйства, контролирующих использование пестицидов, удобрений, других ядохимикатов, лекарственных и биологических препаратов; во-вторых, от защиты окружающей среды от попадания в нее вредных отходов промышленного производства.

Наряду с индуцированными возникают и спонтанные мутации. У животных, за тысячелетия существования накоплен определенный груз мутаций, который, находясь в скрытом гетерозиготном состоянии, передается от предыдущего в последующие поколения. Для того чтобы избежать этого, требуется постоянный контроль за генетической структурой популяции. Необходима фиксация в племенных документах каждого случая врожденной аномалии в приплоде, регистрация болезней.

Учет аномального приплода и регистрация его в племенных карточках родителей служат предпосылкой для проведения генетического анализа с целью выявления роли наследственности в этиологии аномалий. Генетический анализ при этом осуществляют в следующей последовательности:

1) определить происхождение аномальных животных по племенным карточкам;

2) определить достоверность происхождения по группам крови и полиморфным системам белков и ферментов;

3) составить родословные на аномальных особей для определения типа спаривания родителей (инбридинг, аутбридинг) и родства между аномальными особями (поиск общих предков);

4) определить тип наследования аномалий (моногоенный, полигенный, аутосомный, сцепленный с полом, доминантный, рецессивный);

5) изучить кариотип у аномальных особей и их родителей с целью обнаружения хромосомных и геномных мутаций как причины аномалий;

6) сделать анализ генотипов по аллелям групп крови, полиморфным системам ферментов и белков для поиска маркеров мутации;

7) изучить уровень ферментов и их структуры у аномальных и нормальных животных для обнаружения фенотипического проявления мутантного гена.

В условиях крупномасштабной селекции животных, основным содержанием которой прежде всего является интенсивное использование отдельных производителей благодаря методу искусственного осеменения, накоплению миллиона доз семени, необходима проверка генотипа каждого производителя не только по продуктивным показателям, но и на гетерозиготное носительство вредных рецессивных аллелей. Это осуществляется следующими методами:

1) спаривание проверяемого производителя с аномальными самками (анализирующее скрещивание);

2) спаривание проверяемого производителя с самками, о которых известно, что они являются гетерозиготными носителями мутантного гена;

3) спаривание проверяемого производителя с собственными дочерьми (инцест-тест);

4) спаривание с дочерьми известных гетерозиготных производителей;

5) спаривание производителя с самками неизвестного генотипа.

Знание роли наследственности в этиологии болезней необходимо для разработки селекционных программ повышения устойчивости животных. Для этого селекционеры и ветеринарные врачи должны выполнять следующие мероприятия: 1) организовать диагностику болезней, в племенных карточках должны учитываться и описываться все аномалии; 2) проводить генеалогический анализ стада и давать комплексную оценку генофонда семейств, выявлять семейства, устойчивые и восприимчивые к болезням; 3) отбирать молодняк для племенных целей от матерей, устойчивых к болезням и длительным продуктивным использованием; 4) постоянно оценивать производителей по устойчивости и восприимчивости потомства к болезням и признакам продуктивности; 5) получать производителей следующего поколения от высокопродуктивных матерей из семейств, обладающих комплексной устойчивостью, и отцов, оцененных по резистентности потомства; 6) применять трансплантацию эмбрионов как один из методов повышения эффективности селекции на устойчивость к болезням; 7) включать в селекционные индексы информацию о резистентности животных к болезням; 8) применять в комплексе прямой и непрямой отбор, включающий массовый отбор, отбор семейств, оценку производителей по устойчивости потомства к болезням, использовать

маркеры; 9) проводить комплексную оценку иммунной системы организма, включающую показатели гуморального и клеточного иммунитета и неспецифической резистентности; 10) выявлять показатели отбора, в том числе генетические и биохимические маркеры устойчивости, позволяющие вести селекцию без заражения животных; 11) использовать методы биотехнологии, в том числе генетической и клеточной инженерии, что позволит успешно проводить селекцию на устойчивость к болезням, стрессоустойчивость и длительность продуктивного использования животных.

Контрольные вопросы

1. Что такое резистентность?
2. Что такое пороговые признаки?
3. Что такое восприимчивость, вирулентность, заболевание, болезнь?
4. Расскажите о простом и полигенном наследовании устойчивости к болезням.
5. Что затрудняет селекцию на устойчивость к болезням?
6. Для чего используется оценка генофонда пород, линий и семейств?

Рекомендуемая литература

1. Бакай, А. В. Генетика : учебник для вузов / А. В. Бакай, И. И. Кочиш, Г. Г. Скрипниченко. – М. : КолосС, 2007. – 448 с.
2. Бакай, А. В. Практикум по генетике : учебник для вузов / А. В. Бакай, И. И. Кочиш, Г. Г. Скрипниченко [и др.]. – М. : КолосС, 2010. – 301 с.
3. Рожков, Ю. И. Общая биология: популяции, виды, эволюция : учебное пособие : в 2 т. / Ю. И. Рожков, А. В. Проняев. – М. : РГАЗУ, 2014. – Т. 1. – 264 с.
4. Рожков, Ю. И. Общая биология: популяции, виды, эволюция : учебное пособие : в 2 т. / Ю. И. Рожков, А. В. Проняев. – М. : РГАЗУ, 2014. – Т. 2. – 260 с.
5. Кадзаева, З. А. Ветеринарная генетика : учебное пособие / З. А. Кадзаева. – Владикавказ : Горский ГАУ, 2021. – 128 с.
6. Генетика животных : сборник задач / А. Г. Максимов, В. В. Федюк, Н. В. Иванова, Н. А. Максимов. – Персиановский : Донской ГАУ, 2021. – 142 с.
7. Шишкина, Т. В. Ветеринарная генетика : учебное пособие / Т. В. Шишкина. – Пенза : ПГАУ, 2020. – 174 с.
8. Общая генетика : учебное пособие / сост. М. В. Ульянова [и др.]. – 2-е изд., доп. и перераб. – Кемерово : КемГУ, 2019. – 78 с.
9. Иммуногенетика и генетический полиморфизм белков : учебно-методическое пособие / Г. В. Уливанова, Г. Н. Глотова. – Рязань : РГАТУ, 2015. – 79 с.

Алфавитно-предметный указатель

- А**
Абберация 36
Автополиплоидия 48
Аллелизм 66
Аллополиплоидия 49
Амплификация 89
Анеуплоидия 46
Антигены 110
Аутосома 47
- Б**
Бабезиоз 122
Базиген 68
Биотехнология 88
Бруцеллёз 111
- В**
Вакуоли 9
Вирус 18
В-лимфоциты 109
- Г**
Гаметы 27
Гаплоидия 39
Ген 27
Геном 27
Гены-модификаторы 133
- структурные 68
Генотип 26
Гетерозигота 26
Гетероплоидия 46
Гибридизация нуклеиновых кислот 88
Гистоны 6
Главный комплекс гистосовместимости 127
Гомозигота 138
Груз генетический 138
- Д**
Делеция 36
Денатурация ДНК 95
ДНК 95
ДНК-полимераза 75
- Дупликация 37
- З**
Закон гомологических рядов 128
- единообразия гибридов первого поколения 25
- независимого наследования 25
- расщепления признаков у гибридов второго поколения 25
Зигота 49
- И**
Идиограмма 24
Изменчивость признака 107
Иммунитет 62
Имуноглобулины 110
Инверсия 37
Инженерия генетическая 88
Инициация 77
Интроны 71
- К**
Кариограмма 36
Кариотип 21
Код генетический 79
Кодоминирование 27
Кодон 68
Комплекс Гольджи 8
Коэффициент вариации 106
Кроссингвер 19
- Л**
Лейкоз 57
Лизосомы 10
- М**
Мастит 115
Мейоз 17
Мембрана клеточная 10
Митоз 9
Митохондрии 6
Мода 105
Мутагены 100

- биологические 102
- физические 101
- химические 101
- Н**
- Наследственность 25
- Нуклеазы 143
- Нуклеоид 7
- Нуклеотид 8
- О**
- Ооциты 20
- Оперон 69
- Относительная длина хромосом 21
- П**
- Пенетрантность гена 135
- Плейотропное действие гена 71ё
- Полимеразная цепная реакция (ПЦР) 92
- Полимерия 29
- Полипloidия 39
- Правило Чаргаффа 73
- Промотор 77
- Процессинг 9
- Р**
- Ревертаза 90
- Резистентность 29
- Ренатурация ДНК 89
- Репарация 70
- Репликация ДНК 85
- Рестриктазы 89
- Рестрикция ДНК 96
- Ретровирус 90
- РНК 76
 - рибосомальная 78
 - информационная 77
 - транспортная 77
- Рибосомы 8
- С**
- Сверхдоминирование 28
- Секвенирование ДНК 88
- Селекция 149
- Синдром 47
- Скрещивание анализирующее 26
- Сплайсинг 69
- Средняя арифметическая 105
- Т**
- Тератогены 130
- Тератология 128
- Терминация 77
- Тимус 110
- Т-лимфоциты 110
- Трансен 68
- Транскрипция 77
- Транслокация 40
- Трансляция 82
- Ф**
- Фенокопия 144
- Фенотип 26
- Фримартинизм 61
- Х**
- Хиазмы 19
- Хроматин 8
- Хромосомы 78
 - акроцентрические 22
 - гомологичные 50
 - метацентрические 22
 - субметацентрические 22
- Ц**
- Центриоли 12
- Центромера 20
- Э**
- Экзогенные аномалии 142
- Эзоны 69
- Экспрессивность гена 131
- Элонгация 77
- Эпистаз 28
- Я**
- Ядро 5
- Ядрышко 9

Оглавление

Предисловие.....	3
1. Основные сведения о клетке и её делении. Цитологические основы наследственности.....	4
2. Закономерности наследования признаков при половом размножении.....	24
3. Структурная организация хромосом.....	29
4. Функциональное преобразование хромосом.....	36
5. Изменение хромосомного набора.....	43
6. Кариотип и его особенности.....	50
7. Концепция гена.....	65
8. Пути реализации генетической информации.....	72
9. Генная инженерия.....	87
10. Изменчивость и методы её изучения.....	100
11. Генетические основы иммунитета.....	109
12. Генетические аномалии у сельскохозяйственных животных.....	127
Рекомендуемая литература.....	152
Алфавитно-предметный указатель.....	153

Учебное издание

**Зайцева Екатерина Семеновна
Ухтверов Андрей Михайлович**

Цитогенетика в животноводстве

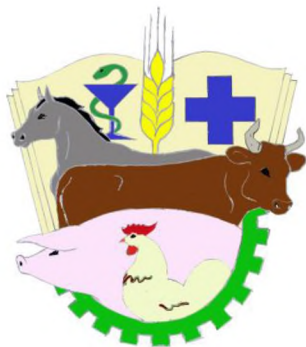
Учебное пособие

Подписано в печать 7.10.2022. Формат 60×84 1/16

Усл. печ. л. 9,07, печ. л. 9,75.

Тираж 300. Заказ №225.

Отпечатано с готового оригинал-макета
в издательско-библиотечном центре Самарского ГАУ
446442, Самарская область, г. Кинель, п.г.т. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2
E-mail: ssaariz@mail.ru



Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации
Федеральное государственное
бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Самарский государственный
аграрный университет»

С. В. КАРАМАЕВ

ОСНОВЫ ВЫСОКОПРОДУКТИВНОГО ЖИВОТНОВОДСТВА

Методические указания

Кинель
ИБЦ Самарского ГАУ
2023

УДК 636.2
ББК 45
К-21

Рекомендовано учебно-методическим советом Самарского ГАУ

Кармаев С. В.

К-21 Основы высокопродуктивного животноводства : методические указания. – Кинель : ИБЦ Самарского ГАУ, 2023. – 35 с.

Методические указания предназначены для очного отделения факультета «Биотехнология и ветеринарная медицина» по направлению подготовки 36.04.02 Зоотехния.

© ФГБОУ ВО Самарский ГАУ, 2023
© Кармаев С. В., 2023

Предисловие

Методические указания к практическим занятиям по дисциплине «Основы высокопродуктивного животноводства» составлены в соответствии с требованиями образовательной программы подготовки студентов, обучающихся по направлению подготовки 36.04.02 Зоотехния.

Цель методических указаний – способствовать формированию навыков самостоятельного обучения и самоконтроля. Методические указания содержат темы и вопросы, обсуждаемые на практических занятиях. В методических указаниях изложены базовые теоретические материалы по каждому занятию, дан перечень рекомендуемой литературы. Каждая тема сопровождается контрольными вопросами для оценки знаний.

В процессе выполнения заданий, предложенных в методических указаниях, обучающийся должен овладеть *компетенциями*, связанными с приобретением студентами знаний о совокупности приемов и методов производства экологически чистой и экономически рентабельной продукции молочного скотоводства за счет использования новых технологий, способствующих эффективному ведению отрасли.

Методические указания предназначены для студентов, обучающихся по направлению подготовки 36.04.02 Зоотехния.

ЗАНЯТИЕ 1. Организация кормления и поения коров на современном молочном комплексе

Цель занятия. Ознакомиться с организацией кормления и поения коров на современном молочном комплексе в зависимости от системы и способа содержания животных.

Продуктивность коров на 60-65% определяется их кормлением, поэтому технологическая линия кормления животных является самой важной при производстве молока. На эту линию приходится около 40% всех трудозатрат на ферме, а затраты на корма составляют около 60% себестоимости продукции.

Реализация генетического потенциала скота зависит от полноценности кормления и на 50% определяется обеспеченностью животных обменной энергией, на 25% – протеином и на 25% – минеральными веществами и витаминами.

Состав и питательность рациона, технология кормления коров зависит от их физиологического состояния и биологических особенностей, обусловленных фазами межжотельного цикла, а также продуктивности, живой массы и возраста животных.

Молодым коровам необходимо планировать дополнительное питание для роста. Первотелки должны получать на 20%, а коровы второго отела – на 10% больше нормы питательных веществ. Сухостойным коровам суточная дача сухого вещества должна быть около 2%, в том числе сухого вещества грубых кормов – минимум 1% от массы тела. Количество концентратов не должно превышать 1% массы животного.

У животных, как и у людей, аппетит меняется под действием различных факторов. На аппетит влияют посторонние шумы на ферме, наличие посторонних людей, чистота и влажность воздуха, сквозняки, температурный режим, атмосферное давление, геомагнитная обстановка и др. Если раздать много корма, то он начнет портиться, превратится в яд и принесет больше вреда, чем пользы, да еще появится необходимость чистить кормовые столы-кормушки. Если раздать мало корма, то его не хватит до следующей раздачи. Некоторое время кормовые столы-кормушки будут пустыми, что приведет к снижению молочной продуктивности коров. Правило – кормовой стол-кормушка круглые сутки должен быть с кормовой смесью – должно соблюдаться неукоснительно! Определить необходимое количество кормовой смеси для подачи на кормовой стол несложно: перед следующей раздачей на каждом погонном метре кормового стола должно оставаться по 1,5-2 кг кормовой смеси.

Контроль соответствия рассчитанного рациона физиологическим потребностям животных – это обратная связь между животным и человеком. Каждая корова – отличная живая лаборатория, реагирующая на все управляющие воздействия, подсказывающая, что и когда нужно делать для повышения продуктивности и улучшения здоровья. Надо только научиться ее понимать.

Задание 1. Составить рацион кормления для сухостойных коров и нетелей.

Для получения высоких удоев и рождения здорового теленка большое значение имеет подготовка коров к последующей лактации. При полноценном кормлении живая масса сухостойных коров увеличивается на 10-12% и в их организме откладываются питательные вещества в количестве, превышающем потребность в них для формирования плода. Следовательно, запас питательных веществ способствует увеличению удоя в последующую лактацию. При правильной подготовке коров к отелу сокращается число случаев трудных отелов, предродовых и послеродовых осложнений (послеродовый парез, задержание последа и др.), повышается оплодотворяемость. За 4-6 недель до отела животное должно получить такое количество энергии и протеина с кормом, чтобы оно не испытывало недостатка в них, поскольку в это время идет интенсивный рост плода (его масса увеличивается в среднем с 8-12 до 25-45 кг). Недокорм в этот период сопровождается потерей упитанности коров, а недостаток энергии и протеина в рационе компенсируется использованием внутренних жировых и белковых запасов, что чревато развитием ацидоза и кетоза.

Во второй половине сухостойного периода, когда интенсивно развивается плод, у коров значительно возрастает потребность в протеине и минеральных веществах. Недостаток протеина в рационе приводит к снижению живой массы и удоев новотельных коров, увеличению продолжительности сервис-периода. Избыток отрицательно влияет на функции воспроизводства, физиологическое состояние коров и новорожденных телят.

Задание 2. Составить рацион кормления для коров в период раздоя.

Кормление оказывает огромное влияние на уровень молочной продуктивности коров. Практика кормления лактующих коров всецело определяется уровнем продуктивности и физиологическим состоянием их организма. Наиболее ответственным периодом в организации полноценного кормления коров, особенно высокопродуктивных, является первый период лактации, с первого по третий месяцы, когда происходят наиболее интенсивные процессы молокообразования. За этот период коровы способны

продуцировать до 40-45% годового удоя молока. Потребность в энергии и протеине в этот период у коров возрастает в 1,5-2 раза.

Неудовлетворительное кормление задерживает естественный физиологический процесс молокообразования после отела. В результате раздой коров проходит слабо, максимальный удой оказывается невысоким и в значительной мере определяет низкую продуктивность за лактацию.

Потребность коров во время лактации в обменной энергии, питательных и биологически активных веществах зависит от уровня продуктивности, жирности молока, живой массы животных, их возраста и упитанности. В настоящее время нормы кормления для полновозрастных коров в период лактации рассчитаны по 34 показателям питательности для животных со средней упитанностью.

Задание 3. Составление рациона для коров в цехе производства молока.

Потребность коров в сухом веществе зависит не только от удоя и живой массы, но и от состава рационов, качества кормов и концентрации энергии в них. Разнообразные и высококачественные корма, входящие в состав рациона, поедаются животными охотно, что положительно сказывается на их продуктивности.

Концентрация обменной энергии в 1 кг сухого вещества – важнейший показатель качества кормов и рационов. В рационах для высокопродуктивных коров он должен быть выше, чем для коров со средней продуктивностью. Так, при суточном удое 25-30 кг молока концентрация энергии равна 10-11,8 МДж, а при удое 10-15 кг молока – 8,0-9,8.

При недостаточном поступлении энергии снижаются упитанность животных, молочная продуктивность, воспроизводительные способности. Избыток энергии в рационе приводит к ожирению животных, снижению их воспроизводительной функции.

Молодым коровам (первой и второй лактации), а также истощенным (для повышения упитанности) необходимо увеличивать энергетическую питательность рациона на 1-2 ЭКЕ в сутки по сравнению с нормами.

Оптимальный уровень переваримого протеина в расчете на 1 ЭКЕ рациона меняется в зависимости от уровня продуктивности коров: при удое до 10 кг молока он составляет 79 г, а при удое 20-30 кг – 93-100 г.

При недостатке протеина в рационе и низкой его переваримости снижается молочная продуктивность коров, нарушается воспроизводство, рождаются слабые телята.

Задание 4. Составить летний и зимний рацион для коров согласно индивидуального задания, рассчитать потребность в кормах по видам на среднегодовое поголовье по половозрастным группам (годовой оборот крупного рогатого скота). Данные записываются в таблицу 1 и 2.

Природные и экономические условия разных зон страны неодинаковы для кормопроизводства и развития животноводства. С учетом этих условий разрабатывают типы кормления и типовые рационы для сельскохозяйственных животных. Типы кормления неразрывно связаны с системами земледелия и кормопроизводства.

План потребности в кормах рассчитывается по объему валовой продукции за календарный год, исходя из продуктивности животных и выполняется в следующем порядке.

1. Определяют объем валовой продукции по коровам, молодняку рождения прошлых лет, приплоду планируемого года и взрослому скоту на откорме.

Например, молока будет произведено $88980+3674=92654$ ц, включая приплод. Один теленок из приплода в данном примере условно приравнен к 1,5 ц молока. В этом случае прирост живой массы без приплода составит 10060 ц.

2. Вычисляют потребность в кормовых единицах, которая зависит от продуктивности, массы и возраста животного. Чем выше продуктивность коровы или чем короче период откорма, или выращивания скота на мясо или на ремонт, тем меньше требуется кормовых единиц для получения 1 ц молока или прироста.

Быки-производители непосредственно продукции не дают. Потребность в кормах для них устанавливают из расчета их живой массы и интенсивности использования. Например, живая масса взрослого быка-производителя 870 кг и по зоотехническим нормам ему требуется в год 3650 корм. ед. при средней интенсивности использования. При удое коров 4000 кг молока и жирности 4% требуется на каждый 1 ц молока 110 корм. ед. При более низкой жирности требуется меньше кормовых единиц на 1 ц молока, и наоборот.

На каждый 1 ц прироста по молодняку до 6 мес. берем 6 ц, от 6 мес. до 1 года – 8 ц, по молодняку рождения прошлых лет и взрослому скоту на откорме – 10 ц, на 1 среднегодовую нетель после прекращения взвешивания – 2482 корм. ед. В конкретных условиях хозяйства нормативы могут быть иными. Всего потребуется кормов на производство всей продукции, корм. ед. (тыс.):

Для производства условного молока $92654 \times 0,11 = 10191,9$

Для производства валового прироста по приплоду:

до 6 мес. - $2735 \times 0,6 = 1641$

от 6 мес. до 1 года - $812 \times 0,8 = 649,6$

Для производства валового прироста по молодняку рождения прошлых лет и взрослому скоту на откорме

$$6513 \times 1,0 = 6513$$

На содержание нетелей после прекращения взвешивания

$$152 \times 2,482 = 377,3$$

На содержание быков-производителей

$$7,5 \times 3,65 = 27,4$$

Всего: 19400,2

Тип кормления характеризуется структурой рационов, т.е. долей (по кормовым единицам) различных групп кормов, входящих в их состав. Высокая продуктивность животных может быть достигнута на рационах различных типов кормления. На основе экономической оценки рационов в конкретных условиях хозяйства отдается предпочтение тому или иному типу кормления.

На основании рационов кормления рассчитать потребность молочного стада в кормах на год. Данные записать в таблицу 3.

Таблица 3

Годовая потребность молочно-товарной фермы на _____ дойных коров в кормах

Вид корма	Продолжительность использования	На 1 голову		На все поголовье		Страховой фонд, %	Итого за год		
		в день, кг	в год, ц	в день, ц	в год, ц		корма, ц	к.ед., ц	переваримого протеина, ц
Грубые:	210					15*			
...									
Сочные:	210					10*			
...									
Зеленые:	155					15*			
...									
Концентрированные:						-			
...									
ИТОГО									

Примечание.* Величина страхового запаса зависит от вида корма. Для грубых кормов она составляет 15%, для силоса – 10%, для зеленых кормов – 10%.

Таблица 4

Расчет годовой потребности молодняка и откармливаемого скота в кормах

Половозрастные группы	Среднегодовое поголовье	Коэффициент перевода в условную голову	Всего условных голов	Требуется в год	
				на 1 гол., кг к.ед.	на все поголовье, т к.ед.
Нетели					
Молодняк старше 1 года					
Молодняк до года					
Телята текущего года					
Взрослый скот на откорме					
ИТОГО					

По данным таблицы 4 необходимо рассчитать ожидаемые затраты корма в кормовых единицах на 1 кг молока и содержание переваримого протеина в 1 кормовой единице следующим образом:

Затраты корма на 1 кг молока, кг к.ед.

Требуется к.ед. на все молочное стадо в год, т

Валовое производство молока, т

Содержание переваримого протеина 1 к.ед., г

Требуется п.п. на все молочное стадо в год, кг

Требуется к.ед. на все молочное стадо в год, т

При расчете потребности в кормах необходимо использовать справочные данные.

Контрольные вопросы

1. Правила кормления коров в цехе производства молока.
2. Какие группы коров по физиологическому состоянию выделяют в цехе производства молока?
3. Правила формирования групп коров в секциях.
4. Основная цель при составлении рациона для коров в цехе производства молока.
5. Какова потребность коров в обменной энергии и протеине в период с 100 до 200 и с 201 по 305 день лактации?
6. Правила кормления сухостойных коров.
7. Какие корма включают в рацион сухостойных коров?
8. Какова доля сочных кормов в рационе сухостойных коров?
9. Какова доля концентрированных кормов в рационе коров в начале и конце сухостойного периода?

10. С какой целью выделяют сухостойный период для стельных коров?
11. Правила кормления коров в период раздоя.
12. Принцип раздоя коров после отела.
13. За счет каких кормов проводится «авансированное кормление» коров в период раздоя?
14. Особенности раздоя коров отечественной и зарубежной селекции.
15. Какова потребность коров в обменной энергии и протеине в период раздоя?

ЗАНЯТИЕ 2. Анализ эффективности системы воспроизводства стада крупного рогатого скота

Цель занятия. Ознакомиться с методикой оценки эффективности системы воспроизводства стада крупного рогатого скота в хозяйствах с разным способом содержания коров.

Воспроизводство в широком смысле представляет процесс непрерывного движения и возобновления производства. В животноводстве под воспроизводством стада следует понимать постоянное возобновление поголовья животных с целью производства сельскохозяйственной продукции на основе осуществления ряда зоотехнических мероприятий.

По своим задачам воспроизводство стада крупного рогатого скота может быть простым, расширенным и суженным. Простое воспроизводство стада характеризуется тем, что численность маточного поголовья не изменяется из года в год. При расширенном воспроизводстве маточное поголовье каждый год увеличивается. При суженном воспроизводстве количество маточного поголовья каждый год уменьшается. Как расширенное, так и суженное воспроизводство может характеризоваться определенными темпами: 5%, 10% и т. д. Например, если в стаде на начало года имелось 500 голов коров, то при темпе расширенного воспроизводства, равном 10%, на начало следующего года в стаде должно быть не менее 550 коров.

Основным методом осеменения крупного рогатого скота в странах с развитым скотоводством является искусственное осеменение. Однако даже в развитых странах все еще ограничено используют (чаще в мясном скотоводстве) ручную и вольную случку.

Искусственное осеменение. Это наиболее эффективный и экономически выгодный способ генетического совершенствования скота, позволяющий широко использовать наиболее ценных производителей для получения от них большого количества потомства.

С целью эффективного использования генотипов выдающихся коров в практике мирового и отечественного скотоводства используют трансплантацию эмбрионов. Данный метод позволяет при использовании гормональной

стимуляции ценных коров-доноров получать от них за одну обработку 6-8 жизнеспособных эмбрионов, которые пересаживаются телкам или коровам-реципиентам.

На ферме необходимо иметь график запуска коров и отелов по месяцам года. Учитывая это, подготавливают родильные отделения и телятники. На основе плана распределяется использование различных видов кормов, контролируется осеменение коров после отела и телок случного возраста.

В мясном скотоводстве применяют сезонный, или туровый отел. В нашей стране коров обычно осеменяют в мае-июле с целью получения отела в марте-мае, когда корова в период подсоса может находиться вместе с теленком на пастбище.

***Задание 1.** Ознакомиться с рекомендуемой литературой 1, 2, 7.*

***Задание 2.** Ознакомиться с методикой оценки эффективности системы воспроизводства стада крупного рогатого скота в хозяйствах с разным способом содержания коров.*

***Задание 3.** Ознакомиться с технологией заготовки спермопродукции от быков-производителей и хранения в замороженном виде.*

***Задание 4.** Ознакомиться с методами искусственного осеменения коров и телок.*

***Задание 5.** Освоить методику составления плана отела и осеменения коров и телок.*

Важнейшим плановым расчетом по развитию отрасли является план покрытия и отелов животных. Он составляется отдельно по комплексам и фермам и позволяет правильно установить численность делового приплода, поголовье нетелей на конец года, перевод телок в нетели и нетелей в коровы в течение года, рассчитать движение стада по месяцам года по приплоду, ремонтным телкам, нетелям и коровам.

План покрытия и отелов – это основа для составления помесячного оборота стада, определения валового производства продукции отрасли, потребности в рабочей силе. Поголовьем телок, планируемыми к покрытию за январь, февраль и март, регулируют деловой выход приплода в октябре, ноябре и декабре. Телки, запланированные к покрытию в период с апреля по декабрь, должны составить выходное поголовье нетелей на конец года.

План отелов и осеменений необходим для дальнейшего расчета ожидаемой продуктивности коров. Составление плана основано на знании того, что осеменение происходит на третьем месяце после отела (согласно заданию), а отел – на десятом месяце после осеменения. Продолжительность сухостойного периода – 2 месяца.

Данные записываются в таблицу 5.

Количество отелившихся в прошлом году коров соответствует числу коров и нетелей на начало планируемого года (поскольку число нетелей равно числу выбракованных в прошлом году коров). Их необходимо распределить по месяцам отелов прошлого года произвольно. Осеменены эти коровы будут на третий месяц после отела за исключением намеченных к выбраковке коров.

В планируемом году осеменены будут все коровы и первотелки за исключением намеченных к выбраковке, которых необходимо равномерно распределить по месяцам года. Выбраковку планируется проводить после окончания лактации.

Задание 6. Оценка воспроизводительной способности маточного поголовья крупного рогатого скота.

Определение выхода телят, продолжительности межотельного и сервис-периодов. Существующей системой ведения первичного зоотехнического учета предусматривается фиксировать даты всех изменений физиологического состояния маточного поголовья – осеменение, запуск, сухойстойный период, время отела и др.

Для экономической оценки интенсивности использования воспроизводительного и молочного потенциалов стада необходимы выборка этих сведений по каждому животному и составление соответствующих группировок.

Выход телят по стаду на 100 голов маточного состава (коров, телок старше 2 лет и нетелей) определяется по общеизвестным методикам. Вместе с тем, так как статистическим учетом предусмотрен выход телят на 100 коров, числящихся на начало года, данные годовой отчетности могут быть использованы и для анализа других показателей воспроизводства стада. Одним из критериев, характеризующих эффективность воспроизводства и потенциал молочной продуктивности коров, является длина межотельного и сервис-периодов стада.

Продолжительность этих периодов можно определять двумя способами.

При первом (более достоверном) способе производится выборка дат отелов за анализируемый и предшествующий годы, по которым вычисляется общее число межотельных дней стада в целом. Конечный результат определяется по формуле:

$$ПМП = ДМП / ЧКО,$$

где ПМП – продолжительность межотельного периода в днях;

ДМП – число дней межотельных периодов коров;

ЧКО – число коров в обработке.

Подставляя показатели племзавода ОПХ «Красногорское» Самарской области за 2014 г., получим следующий результат:

$$ПМП = 367 \times 430 / 905 = 406 \text{ дней.}$$

При втором способе межотельный период стада определяется по выходу телят (отелов), числящихся на начало года.

Так, в ОПХ «Красногорское» в 2014 г. на 100 коров получено 90 телят, т.е. за 365 дней года отелилось 90 коров из 100. Сколько же нужно дней, чтобы получить по 1 отелу от каждой коровы?

Простой подсчет дает следующий результат.

Межотельный период составляет $(365 \times 100) / 90 = 406$ дней. Это число показывает, что для получения от каждой коровы стада по одному теленку необходимо 406 дней.

Сервис-период определяет интенсивность использования воспроизводительных функций коров. Он показывает число дней между последним отелом и очередным оплодотворением. По ОПХ «Красногорское» сервис-период коров, по данным бонитировки 2014 г., составил в среднем 114 дней. Этот же показатель можно получить, не производя выборки по каждой корове. Известно, что продолжительность стельности коров составляет в среднем 285 дней. Вычитая продолжительность стельности коров от суммы дней межотельного периода, получим показатель сервис-периода в днях.

В нашем примере он составит $406 - 285 = 121$ день. По сравнению с фактическим разница будет 7 дней (меньше 6%), что допустимо при анализе показателей такого рода.

При определении длины межотельного и сервис-периодов нужно брать в обработку всех отелившихся коров независимо от того, нормальными или мертвыми были телята, а также коров, абортировавших в последние 1-2 мес. до отела. Это необходимо для более точной оценки воспроизводительного и молочного потенциалов стада.

Определение коэффициентов использования воспроизводительных способностей телок и коров. При анализе состояния воспроизводства стада до и после его перевода на промышленную технологию необходимо особое внимание обращать на динамику следующих показателей: продолжительность выращивания телок и коров от рождения до плодотворного осеменения и первого отела; сроки производственного использования коров; отклонения фактических показателей стада от установленных стандартов по породам и возрастным группам маточного состава.

Известно, что продолжительное и высокоинтенсивное использование коров зависит от условий выращивания, в ходе которого формируется организм животных, проявляются их наследственные породные свойства и продуктивность.

Удлинение сроков выращивания телок до плодотворного осеменения снижает эффективность воспроизводства, повышает затраты материальных и денежных средств на формирование основного стада и является важнейшей причиной низкой продуктивности стада и повышенной выбраковки животных.

Экономическая эффективность использования воспроизводительных способностей телок и коров может быть определена по сопоставимым коэффициентам, определяющим различия между фактическими и стандартными показателями.

Биологическими параметрами, или нормами, интенсивности использования воспроизводительных функций являются: возраст плодотворного осеменения телок – 18 мес.; длина межжотельного периода – 365 дней, в том числе 305 дней лактации и 60 дней сухостоя.

Сравнение их с фактическими данными производится по формуле:

$$КИВСТ = 100 \text{ БИЭБВО} / \text{ФВО},$$

где *КИВСТ* – коэффициент использования воспроизводительных способностей телок;

БИЭБВО – биологически и экономически благоприятный возраст оплодотворения телок (547 дней);

100 – процентная константа;

ФВО – фактический возраст оплодотворения телок в днях.

Исходной информацией для определения *КИВСТ* являются выборки продолжительности выращивания коров-первотелок от рождения до отела. Обработке подлежат все первотелки, переведенные в группу коров за анализируемый период.

Из общей суммы дней выращивания коров-первотелок вычитаются дни стельности (285), и полученный результат вводится в формулу для вычисления коэффициентов.

При продолжительности выращивания коров-первотелок 885 дней показатель *КИВСТ* будет следующим:

$$КИВСТ = 547 \times 100 / 600 = 91,1\%.$$

Таким образом, воспроизводительные способности телок, согласно заложенным в формулу условиям, составили коэффициент 91,1%. При фактическом *КИВСТ* 105-110% следует считать показатель отличным; 100-105 – хорошим; 95-100 – удовлетворительным; 90-95 – недостаточным; ниже 90 – плохим.

Интенсивность использования воспроизводительных способностей коров (КИВСК) определяют в следующем порядке. По данным зоотехнического учета, подсчитываются промежутки между отелами коров за анализируемый период. Полученную цифру подставляют в следующую формулу:

$$\text{КИВСК} = 100 \text{ БИЭБМП} / \text{ФМП},$$

где *БИЭБМП* – биологически и экономически целесообразный межотельный период (365 дней);

100 – процентная константа;

ФМП – фактический межотельный период в днях.

Пример. Фактический межотельный период составил 400 дней. Подставляя этот показатель в формулу, получим результат:

$$\text{КИВСК} = 100 \times 365 / 400 = 91,2\%.$$

Следует считать КИВСК 100-105% и выше отличным; 95-100 – хорошим; 90-95 – удовлетворительным; ниже 90 – плохим. В нашем примере КИВСК значительно ниже обусловленных биологических и экономических параметров.

Расчет средней продолжительности лактации коров по месяцам. Уровень продуктивности стада в значительной степени зависит от распределения отелов коров по месяцам. Чем выше удельный вес новотельных коров в стаде, тем выше и их продуктивность.

При концентрации большой численности коров на молочных фермах и комплексах среднестадная кривая лактации является одним из важных показателей молочного потенциала стада. Помесячная продолжительность средней лактации стада позволяет более точно подойти к нормированию кормления и раздоя коров, изыскивать наиболее эффективные варианты распределения отелов по месяцам года. На крупных молочных комплексах и фермах при круглогодичном стойловом содержании требуется выравненное производство молока в течение всего года, а, следовательно, и соответствующее распределение отелов коров по месяцам. Данные движения дойных коров по месяцам лактации записываются в таблицу 6.

Контроль выравненности и уровня удоев коров можно осуществлять несколькими способами. Наиболее распространенными из них являются: сопоставление показателей удоев с показателями предшествующих месяцев или года, с показателями на определенную дату, с установленным планом и др. Однако следует заметить, что сам показатель уровня удоя зависит от многих факторов – кормления, сезона года, возрастной структуры коров, распределения отелов и т. д. Все они могут быть решающими в зависимости от изменяющихся условий производства, но не подлежат суммированию в единый оценочный показатель.

Более реально отражает помесячное физиологическое состояние и потенциальную продуктивность коров средняя продолжительность лактации стада по месяцам года. Для ее определения необходимо составить график фактических и ожидаемых отелов за анализируемый или плановый период. В него включаются только дойные коровы первых 10 мес. лактации, растелившиеся на протяжении 9 мес. прошлого и 12 мес. анализируемого или планируемого года.

Контрольные вопросы

1. Что понимают под воспроизводством стада?
2. Какие формы воспроизводства стада используют в молочном скотоводстве?
3. Что такое структура стада?
4. Факторы, оказывающие влияние при выборе формы воспроизводства стада.
5. Особенности воспроизводства стада в пригородных хозяйствах.
6. Методика выявления коров в «охоте».
7. Преимущества и недостатки визо-цервикального метода искусственного осеменения.
8. Последовательность подготовки спермопродукции в замороженном виде к осеменению.
9. Методика ректо-цервикального метода искусственного осеменения коров и телок.
10. С какой целью используется метод трансплантации эмбрионов?

ЗАНЯТИЕ 3. Выбор методов и схем межпородного скрещивания при совершенствовании молочных пород отечественной селекции

Цель занятий. Получить практические навыки в выборе методов и составлении схем межпородного скрещивания с использованием генетического потенциала импортных пород при совершенствовании молочных пород отечественной селекции.

Скрещивание. Под скрещиванием понимают систему спаривания животных разных пород. Скрещивание – не только наиболее эффективный метод быстрого изменения наследственных признаков животных,

но и создания новых высокопродуктивных пород. Биологическая сущность его заключается в том, что скрещивание ведет к обогащению и расширению наследственной основы, к новообразованиям в породе, повышает крепость конституции животного. Успех скрещивания зависит от умелого выбора исходных пород, цели и вида скрещивания; подбора лучших производителей, проверенных по качеству потомства; создания хороших условий кормления и содержания для помесного поголовья.

В зависимости от особенностей исходных пород, хозяйственных и природных условий применяют следующие виды скрещивания: поглотительное, воспроизводительное (заводское), вводное («прилитие крови»), промышленное и переменное. Все виды скрещивания, за исключением вводного и воспроизводительного, используются в товарных стадах. Возможно использование поглотительного скрещивания в племенных стадах, но только при скрещивании генетически родственных пород, таких как голштинская – черно-пестрая, швицкая – костромская, симментальская – сычевская.

Задание 1. Ознакомиться с рекомендуемой литературой 2, 3, 5.

Задание 2. Составить схему вводного скрещивания коров бестужевской породы с быками англерской породы до получения помесей второго поколения.

Задание 3. Составить схему воспроизводительного скрещивания при выведении новой породы, до получения помесей $\frac{5}{8}$ и $\frac{3}{4}$ долей крови с использованием симментальской и красно-пестрой голштинской пород.

Задание 4. Составить схему поглотительного скрещивания черно-пестрой породы с быками голштинской породы до получения помесей пятого поколения.

Контрольные вопросы

1. Какие существуют методы разведения крупного рогатого скота?
2. Какова роль межпородного скрещивания?
3. Что такое гетерозис, его формы и с какой целью используется?
4. Вводное скрещивание и его использование.
5. Воспроизводительное скрещивание, этапы и цель использования в селекционной работе.
6. С какой целью используют поглотительное скрещивание?
7. Что означает разведение помесей «в себе»?

ЗАНЯТИЕ 4. Составление технологической карты выращивания ремонтных телок «холодным способом»

Цель занятия. Ознакомиться с методикой составления технологической карты выращивания ремонтных телок «холодным способом».

Технологическая карта в краткой форме, но достаточно полно отражает элементы технологии производства молока и говядины. Предназначена для руководителей и специалистов производства с целью планирования, организации и контроля за выполнением технологического процесса и соблюдением технологической дисциплины.

В индивидуальные домики-профилактории телят помещают через сутки после рождения, когда шерстный покров становится совершенно сухим, при этом не применяют обогрев, обсушивание лампами или теплым воздухом.

Категорически запрещается размещать в одном домике двух и более телят. Нельзя помещать в домике больных телят.

Следует иметь в виду, что если выращивание телят с первого дня жизни проводится с использованием данного метода, то при дальнейшем выращивании они должны находиться в подобных условиях, в противном случае эффективность выращивания сведется к нулю.

Теоретической предпосылкой этого способа содержания является тот факт, что в первые 2-3 недели жизни у теленка идет формирование системы терморегуляции. Если теленка переводят в индивидуальный домик в течение первых суток, то включается естественный процесс саморегуляции, и теленок растет здоровым. При более позднем переводе процесс саморегуляции не включается, теленок будет расти хилым, часто болеть и медленно развиваться. В этом случае велик естественный отход молодняка.

Максимально допустимый срок содержания телят в индивидуальныхдомиках – восемь недель.

Задание 1. Ознакомиться с рекомендуемой литературой 1, 2, 6.

Задание 2. Составить технологическую карту выращивания ремонтных телок «холодным способом» по форме таблицы 7.

Таблица 7

Технологическая карта выращивания ремонтных телок
«холодным способом»

Технологическая операция	Продолжительность и сроки	Технологические требования и правила проведения операций	Биологическое обоснование технологических требований каждой операции	Последствия невыполнения технологических операций

Контрольные вопросы

1. Основной принцип выращивания новорождённых телят «холодным способом».
2. Продолжительность содержания теленка с матерью после рождения.
3. Правила перевода теленка в индивидуальный домик.
4. Устройство и параметры индивидуального домика.
5. Технология кормления телят в индивидуальных домиках.

ЗАНЯТИЕ 5. Составление технологической карты выращивания ремонтных телок подсосным способом

Цель занятия. Ознакомиться с методикой составления технологической карты выращивания ремонтных телок подсосным способом.

Наиболее целесообразным с биологической точки зрения методом выпаивания молока телятам, является подсосный. Высасывая молоко из вымени коровы, теленок получает его в чистом виде, необсемененным микрофлорой внешней среды и оптимальной температуры.

В хозяйствах молочного направления применяют сменно-групповой способ выращивания телят под коровами-кормилицами. Телята получают доброкачественное молоко нужной температуры, не загрязненное микробами и обладающее высокими иммунными свойствами. Это предохраняет телят от заболевания желудочно-кишечного тракта, способствует лучшему усвоению и использованию ими питательных веществ. При этом способе под одной коровой посменно выращивают несколько групп телят. Отъем их проводят в возрасте 3 месяцев, а если телятам скармливают обрат или полноценные концентрированные корма, их отнимают от коров-кормилиц в 60-70-дневном возрасте.

Коров-кормилиц отбирают здоровых, обладающих спокойным темпераментом. Им организуют полноценное кормление. В рацион включают 4-8 кг хорошего сена, 20-25 кг доброкачественного силоса, корнеплоды и концентраты в зависимости от ее продуктивности. Число телят определяют из расчета получения на 1 теленка в сутки не менее 4-4,5 кг молока, их подпускают на 5-6-й день после рождения. Для этого подбирают телят, близких по возрасту (разница не превышает 10 дней и живой массы 10 кг). Под корову подпускают сразу всю группу, перед этим корову не доят 10-12 ч, а телятам смачивают молоком коровы-кормилицы голову, спину и крестец, чтобы корова-кормилица лучше их приняла.

Задание 1. Ознакомиться с рекомендуемой литературой 1, 2, 6.

Задание 2. Составить технологическую карту выращивания ремонтных телок в молочный период на подсосе под коровой-кормилицей по форме таблицы 8.

Таблица 8

**Технологическая карта выращивания ремонтных телок
в молочный период на подсосе под коровой-кормилицей**

Технологическая операция	Продолжительность и сроки	Технологические требования и правила проведения операций	Биологическое обоснование технологических требований каждой операции	Последствия невыполнения технологических операций

Контрольные вопросы

1. Преимущества и недостатки подсосного метода выращивания телят.
2. Модификация подсосного метода выращивания телят.
3. Правила создания подсосной группы телят под коровой-кормилицей.
4. Технология содержания коров-кормилиц.
5. Продолжительность содержания телят на подсосе.

ЗАНЯТИЕ 6. Составление технологической карты производства молока на молочной ферме с беспривязным содержанием коров

Цель занятия. Ознакомиться с элементами технологии производства молока на ферме с беспривязным содержанием коров и доением в доильном зале.

На молочном комплексе принята самая прогрессивная на данный момент, наиболее полно учитывающая все требования животных в зависимости от их физиологического состояния, поточно-цеховая система производства молока. Система предполагает организацию трех цехов и разделение всех животных на четыре технологические группы: сухостоя, отела, раздоя и осеменения, и производства молока.

Работы на комплексе по обслуживанию животных проводятся в строгой последовательности и соответствии с графиком работ по цехам. Ничто не может нарушить утвержденный график работ, в противном случае нарушится вся стройная система технологического процесса. Животные, адаптируясь к четкому выполнению различных работ, меньше подвергаются влиянию технологического стресса, что положительно сказывается на их здоровье и молочной продуктивности.

В последние годы все больше внимания уделяется изучению этологиче-

ских особенностей разных половозрастных групп крупного рогатого скота в условиях современных механизированных ферм. Полученные знания позволяют специалистам грамотно управлять стадом, составить четкий распорядок дня с учетом выполнения основных жизненно важных функций, что также положительно сказывается на здоровье и продуктивности.

Задание 1. Ознакомиться с рекомендуемой литературой 1, 4.

Задание 2. Составить технологическую карту производства молока на ферме с беспривязным содержанием коров и доенки в доильном зале по форме таблицы 9.

Таблица 9

Технологическая карта производства молока на ферме с беспривязным содержанием коров и доенки в доильном зале

Технологическая операция	Продолжительность и сроки	Технологические требования и правила проведения операций	Биологическое обоснование технологических требований каждой операции	Последствия невыполнения технологических операций
1	2	3	4	5

Контрольные вопросы

1. Сколько коров обслуживает доярка в доильном зале в зависимости от марки доильной установки?
2. Количество коров в секции.
3. Правила перемещения животных в доильный зал и обратно.
4. Марки доильных установок и их особенности.
5. Обработка вымени коровы после доения.

ЗАНЯТИЕ 7. Подбор стойлового оборудования и механизмов для модернизации молочной фермы

Цель занятия. Ознакомиться с правилами подбора стойлового оборудования и механизмов для модернизации молочной фермы с беспривязным содержанием коров.

В практике применяют три варианта беспривязного содержания животных: беспривязно-боксовое, комбикоксовое и групповое на глубокой подстилке.

При беспривязно-боксовом способе содержания предусматривается оборудование групповых секций индивидуальными боксами для отдыха животных (ширина бокса 1,0-1,2 м, длина 1,9-2,1 м). С противоположной стороны от боксов размещают кормушки. Между ними и боксами находится

кормовой и навозный проход шириной 2,7-3,0 метра. Число кормовых мест должно соответствовать числу боксов в секции. В каждой секции содержат по 25-50 голов. При наличии нескольких секций группы коров формируют с учетом физиологического состояния (новотельные, дойные, сухостойные).

Правильная организация кормления, последовательная раздача кормов оказывают положительное влияние на рубцовое пищеварение и способствуют лучшему усвоению питательных веществ рациона.

Существует две разновидности организации скармливания кормов животным – традиционное (дифференцированное), когда различные виды кормов даются отдельно, и скармливание кормов в виде моноорма (кормосмесей), когда производят смешивание различных кормов.

При дифференцированной системе скармливания кормов и трехкратном кормлении утром и вечером коровам дают ($1/2$ дачи) концентрированные, сочные и грубые корма, а в середине дня сено. Если кормление двукратное, суточную норму грубых и концентрированных кормов скармливают утром и вечером равными порциями, а силос и сенаж – 1-2 раза в зависимости от количества кормов. Корнеплоды корова должна съедать обязательно в 2 приема перед силосом или грубыми кормами. Установлено, что скармливание корнеплодов после силоса не создает условий, благоприятных для развития микроорганизмов в преджелудках коров.

При кормлении скота кормосмесями их обычно раздают 2 раза в день при кормлении скота из кормушек и однократно – при использовании кормового стола. В обоих случаях все компоненты кормов вводятся в кормосмесь, где они измельчаются и перемешиваются, что обеспечивает более полную поедаемость всех видов кормов, снижает затраты труда по их раздаче и уборке несъеденных остатков.

При содержании коров в помещениях с подпольным хранением навоза животные во время передвижений копытами продавливают экскременты сквозь щелевые полы кормонавозного прохода в траншею-навозохранилище. Как правило, животные на щелевой пол не ложатся. Для отдыха коровы используют индивидуальные боксы. В летний период содержания подстилку в боксах, как правило, не применяют.

Задание 1. Ознакомиться с рекомендуемой литературой 5, 6.

Задание 2. Выбрать стойловое оборудование для животноводческого помещения с беспривязно-боксовым способом содержанием коров в секциях по 50 гол. Подобрать механизмы для всех технологических процессов по обслуживанию дойных коров.

Задание 3. Описать рисунки 1, 2, 3, 4 (разрез коровника), где отразить способ содержания, технологию кормления, поения, уборки навоза.

Одними из наиболее существенных факторов, влияющих на производительность труда при производстве молока, являются применяемые на ферме способ содержания скота и технология труда.

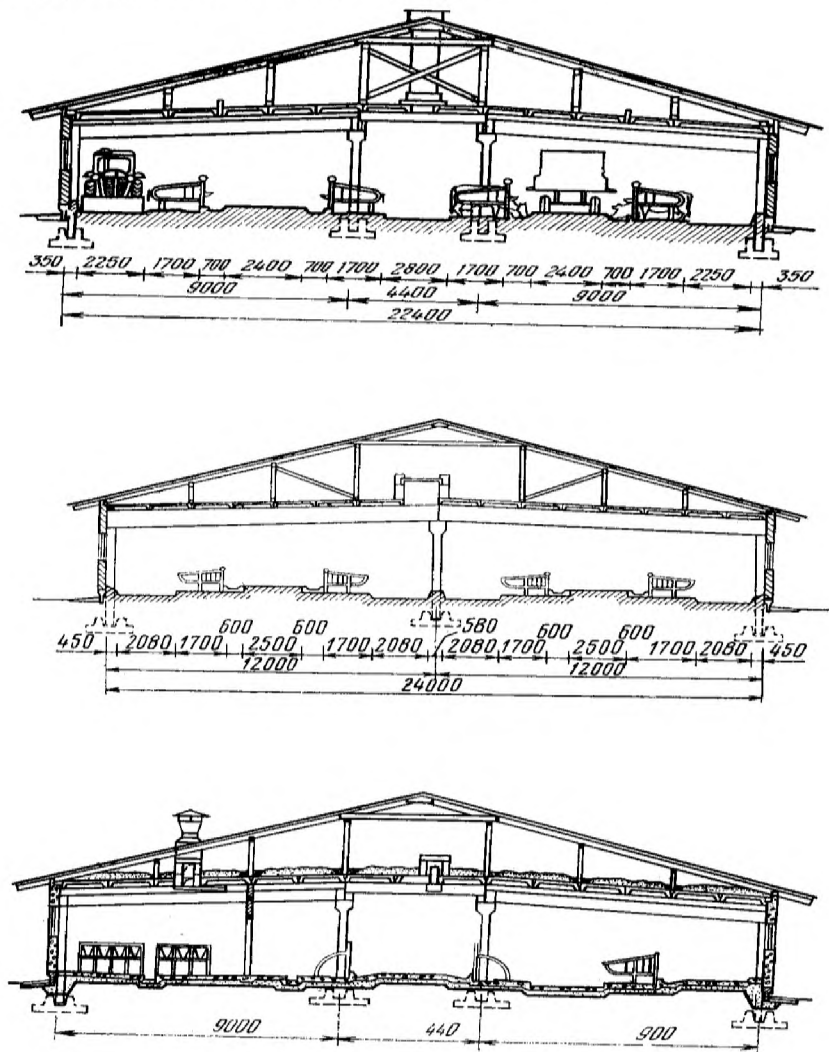


Рис. 1. Коровник с комбибоксами для лактирующих коров, ширина 22,4 м (в разрезе)

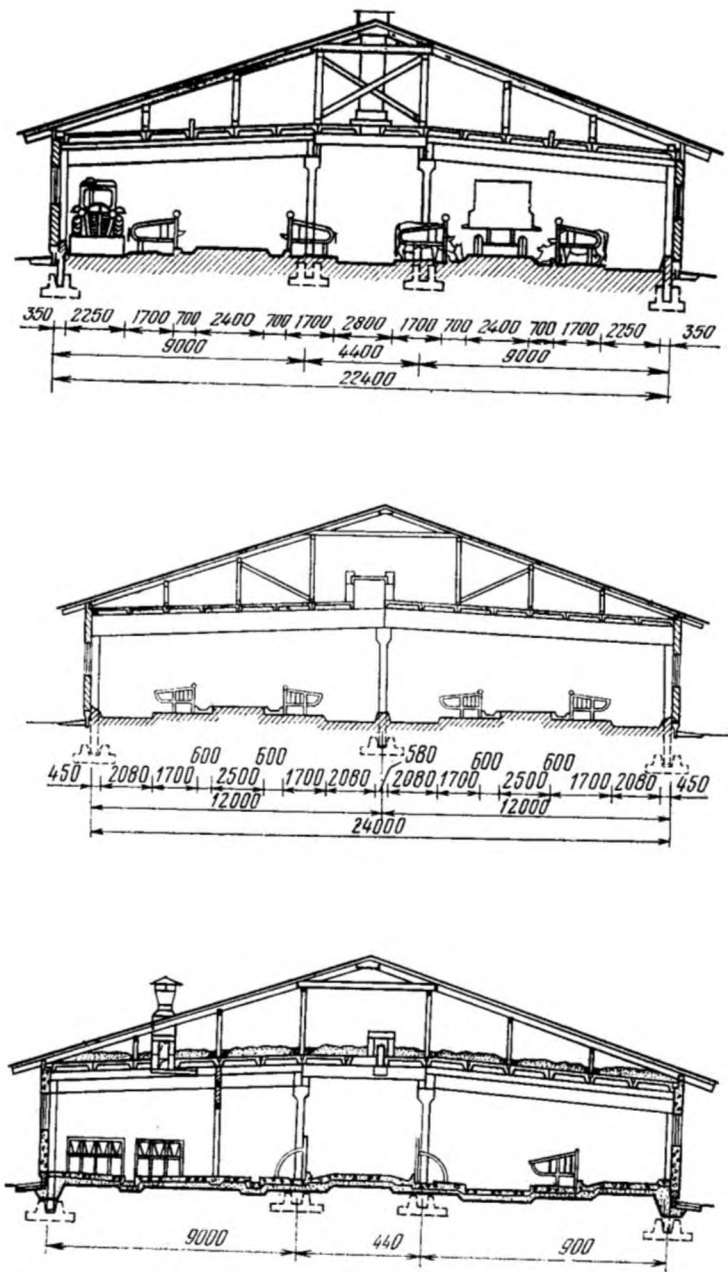


Рис. 2. Коровник с комбибоксами для лактирующих коров, ширина 24 м (в разрезе)

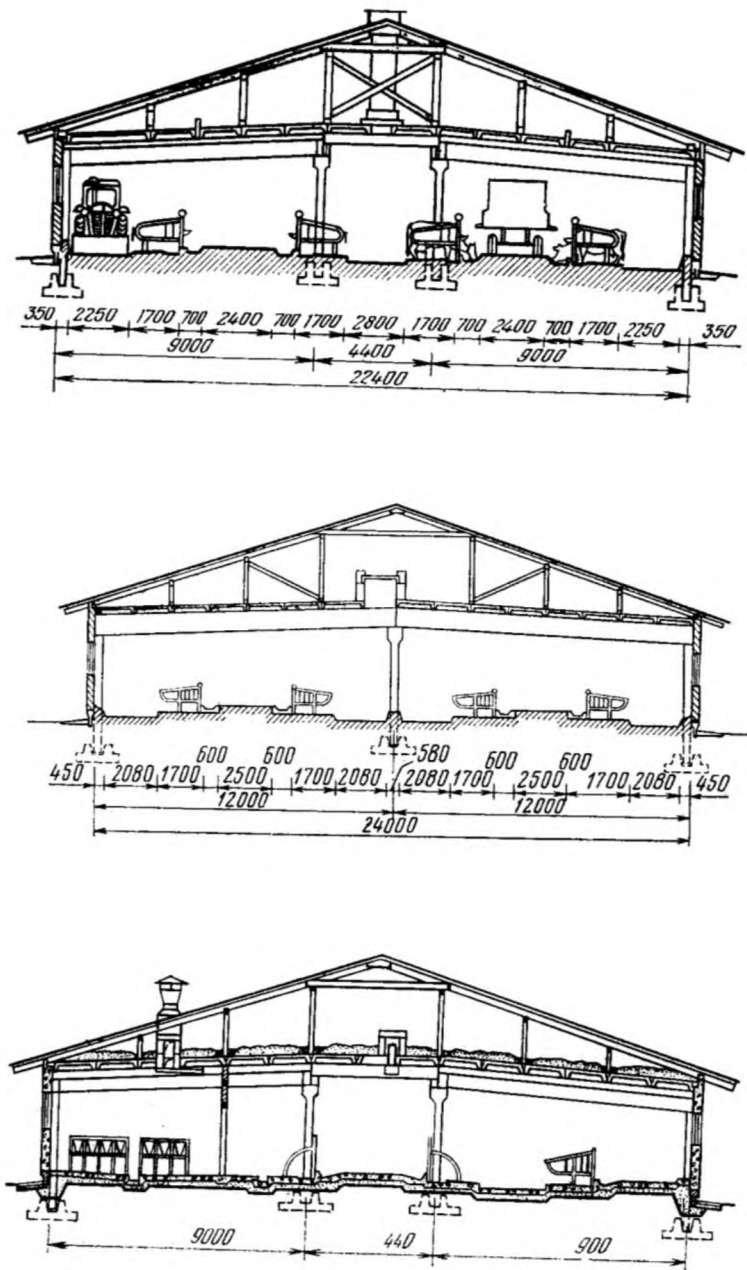


Рис. 3. Репродукторный коровник (в разрезе)

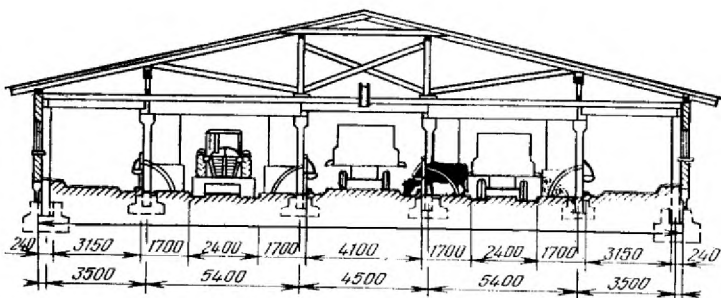


Рис. 4. Коровник с привязным содержанием на 230 скотомест (в разрезе)

Контрольные вопросы

1. Какие проекты животноводческих помещений используются в скотоводстве?
2. Наиболее оптимальные размеры животноводческих помещений.
3. Технологические модули помещений для безбоксового содержания скота.
4. Технологические модули помещений для беспривязно-боксового содержания скота.
5. Профили кормового стола, их преимущества и недостатки.

ЗАНЯТИЕ 8. Планирование доильного зала и выбор доильной установки

Цель занятия. Ознакомиться с требованиями при планировании доильного зала и выборе доильной установки.

Наряду с правильным выбором типа и пропускной способности доильной установки, большое значение для работы доильного зала имеют планировочные решения: величина и размещение секций для коров, длина, ширина и конфигурация скотопрогонов в доильный зал и из него, размеры и планировка накопителя. Если на небольших фермах доильный зал иногда размещают прямо в коровнике, то на достаточно крупных фермах его лучше размещать в отдельном помещении вблизи коровника (коровников). Это снимает определённые ограничения по ширине и высоте помещения, позволяет обеспечить доильный зал необходимым количеством света и воздуха, разграничить системы микроклимата коровника и доильного зала. Кроме того, облегчается подгон животных, размещение селекционных ворот на выходе из доильной установки и планировка накопителя.

Задание 1. Ознакомиться с рекомендуемой литературой 1, 6.

Задание 2. Рассмотреть возможные варианты планирования доильного зала в зависимости от поголовья коров на комплексе и его пропускной способности.

Задание 3. Подобрать доильную установку, обеспечивающую оптимальную пропускную способность доильного зала и максимальную производительность труда доярок.

Контрольные вопросы

1. Какие бывают типы доильных установок?
2. Количество доильных мест на установках различного типа.
3. Пропускная способность разных доильных установок.
4. Варианты планирования доильного зала.
5. Влияние количества доярок на производительность их труда.

ЗАНЯТИЕ 9. Опыт и уроки модернизации молочных ферм (выездное)

Цель занятия. Ознакомиться на примере передового современного предприятия по производству молока с вариантами решения вопросов по автоматизации и механизации основных технологических процессов.

Ресурсосберегающая технология в молочном скотоводстве – это комплекс технологических приемов производства молока, разведения, кормления и содержания животных, призванный обеспечить снижение расхода материальных, трудовых, энергетических и финансовых ресурсов в расчете на единицу произведенной и реализованной продукции.

Максимальный прогресс в скотоводстве может быть достигнут только в хозяйствах и на фермах, которые осуществляют интенсивное ведение производства в результате использования новых технологий и специализации отрасли. Такие хозяйства являются перспективными и в настоящее время получают распространение в ряде зарубежных стран и в разных зонах России. Технология производства в них предусматривает комплексную механизацию и частичную автоматизацию основных производственных процессов. Это способствует значительному снижению затрат труда на производство продукции. Продуктивность скота здесь должна быть высокая, так, как только при этом обеспечивается рентабельность производства. Кормовая база должна обеспечивать высокий уровень урожая культур и полноценное кормление животных. Важное значение при этом имеет

технология производства и использования кормов, сокращение потерь питательных веществ при их заготовке, механизация и автоматизация их раздачи животным.

Задание 1. Ознакомиться с рекомендуемой литературой 1, 2, 3, 4, 5, 6.

Задание 2. Ознакомиться с работой секторов и цехов, обеспечивающих работу комплекса по производству молока.

Контрольные вопросы

1. Концентрация и специализация хозяйства.
2. Порода животных, используемых на комплексе.
3. Технология содержания животных на комплексе.
4. Технология обслуживания животных на комплексе.
5. Тип доильной установки и ее характеристика.
6. Технология заготовки и хранения кормов.
7. Технология подготовки кормов к скармливанию и кормление животных.

Рекомендуемая литература

1. Карамасев, С.В. Скотоводство : учебник / С.В. Карамасев, Х.З. Валитов, А.С. Карамасева. – СПб. : Лань, 2019. – 548 с.
2. Родионов, Г.В. Скотоводство : учебник / Г.В. Родионов, Н.М. Костомахин, Л.П. Табакова. – СПб. : Лань, 2017. – 488 с.
3. Кахикало, В.Г. Разведение животных : учебное пособие / В.Г. Кахикало, В.Н. Лазаренко. – СПб. : Лань, 2014. – 448 с.
4. Хазиахметов, Ф.С. Рациональное кормление животных : учебное пособие. – СПб. : Лань, 2011. – 368 с.
5. Ходанович, Б.В. Проектирование и строительство животноводческих объектов : учебное пособие / Б.В. Ходанович. – СПб. : Лань, 2015. – 288 с.
6. Кузнецов, А.Ф. Современные производственные технологии содержания сельскохозяйственных животных : учебное пособие / А.Ф. Кузнецов, Н.А. Михайлов, П.С. Карцев. – СПб. : Лань, 2015. – 464 с.
7. Полянцев, Н.И. Акушерство, гинекология и биотехника размножения животных : учебное пособие / Н.И. Полянцев, А.И. Афанасьев. – СПб. : Лань, 2021. – 40 с.

Приложения

Приложение 1

Зимний рацион коров

Показатели	Норма	Корма					Содержание в рационе
		сено кострец	силос кукурузный	сенаж люцерновый	концентраты (ячмень)	свекла сахарная	
ЭКЕ	27,3	5,78	7,59	7,123	6,825	1,42	28,738
Кормовые единицы, кг	25,1	4	6,6	5,95	7,5	1,2	25,25
Структура рациона, %	100	16	26	23,5	30	4,5	100
Питательность 1 кг корма	-	0,47	0,2	0,35	1,15	0,24	2,41
Суточная дача, кг	-	8,5	33	17	6,5	5	70
Сухое вещество, кг	25,1	7,1	8,25	7,65	5,53	3,32	31,85
Сырой протеин, г	4245	833	825	1751	734,5	80	4223,5
Переваримый протеин, г	2760	501,5	462	1207	55205	35	2758
Клетчатка, г	4490	2269,5	2475	2159	318,5	70	7292
Крахмал, г	4515	68	264	204	3152,5	30	3718,5
Сахар, г	3010	289	198	323	13	600	1423
Жир, г	1005	204	330	289	143	10	976
Кальций, г	174	44,2	46,2	185,3	13	4,5	293,2
Фосфор, г	126	15,3	13,2	17	25,35	2	72,85
Магний, г	40	15,3	16,5	15,3	6,5	1,5	55,1
Калий, г	74	82,45	95,7	202,3	32,5	21,5	434,45
Сера, г	54	8,5	13,2	20,4	15,6	1,5	59,2
Железо, мг	2010	4734,5	2013	2142	325	65	9279,5
Медь, мг	275	31,45	33	107,1	27,3	5,5	204,35
Цинк, мг	1755	139,4	191,4	156,4	228,15	27	742,35
Кобальт, мг	22,6	3,74	0,66	0,85	1,69	0,1	7,04
Марганец, мг	1755	714	132	382,5	87,75	48,5	1364,75
Йод, мг	25,1	2,975	1,98	2,38	1,43	0,2	8,955
Каротин, мг	1255	170	660	680	3,5	1	1514,5
Витамин Е, мг	1005	255	1518	425	325	2,5	2525,5

Оглавление

Предисловие	3
Занятие 1. Организация кормления и поения коров на современном молочном комплексе	4
Занятие 2. Анализ эффективности системы воспроизводства стада крупного рогатого скота	11
Занятие 3. Выбор методов и схем межпородного скрещивания при совершенствовании молочных пород отечественной селекции	20
Занятие 4. Составление технологической карты выращивания ремонтных телок «холодным способом»	21
Занятие 5. Составление технологической карты выращивания ремонтных телок подсосным способом	23
Занятие 6. Составление технологической карты производства молока на молочной ферме с беспривязным содержанием коров	24
Занятие 7. Подбор стойлового оборудования и механизмов для модернизации молочной фермы	25
Занятие 8. Планирование доильного зала и выбор доильной установки ...	30
Занятие 9. Опыт и уроки модернизации молочных ферм (выездное)....	31
Рекомендуемая литература	32
Приложения	33

Учебное издание

Карамеев Сергей Владимирович

ОСНОВЫ ВЫСОКОПРОДУКТИВНОГО ЖИВОТНОВОДСТВА

Методические указания

Подписано в печать 13.06.2023. Формат 60×84/16
Усл. печ. л. 2,03; печ. л. 2,18.
Тираж 50. Заказ № 114.

Отпечатано с готового оригинал-макета
Издательско-библиотечный центр Самарского ГАУ
446442, Самарская область, п.г.т. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2
Тел.: 8 939 754 04 86, доб. 608
E-mail: ssaariz@mail.ru



Министерство сельского хозяйства
Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Самарский государственный
аграрный университет»

Кафедра «Зоотехния»

Е. С. Канаева, Н. Е. Земскова

КОМПЬЮТЕРНЫЕ ПРОГРАММЫ В ЗООТЕХНИИ

Методические указания

Кинель
ИБЦ Самарского ГАУ
2024

ББК 45
УДК 636:681.14(07)
К19

Рекомендовано учебно-методическим советом Самарского ГАУ

Канаева, Е. С.

К19 Компьютерные программы в зоотехнии : методические указания / Е. С. Канаева, Н. Е. Земскова – Кинель : ИБЦ Самарского ГАУ, 2024. – 33 с.

В методических указаниях определены цели и задачи дисциплины «Компьютерные программы в зоотехнии».

Методические указания содержат 6 тем, которые обучают работе в четырех компьютерных программах: STADIA, Селэкс «Кормовые рационы», Селэкс «Молочный скот», «КОРАЛЛ» – диагностика болезней.

Методические указания предназначены для магистров факультета «Биотехнология и ветеринарная медицина» обучающихся по направлению 36.04.02 – «Зоотехния».

© ФГБОУ ВО Самарский ГАУ, 2024

© Канаева Е.С., Земскова Н.Е., 2024

Предисловие

В учебном издании приведены методические указания по работе в компьютерных программах: STADIA, Селэкс «Кормовые рационы», Селэкс «Молочный скот», «КОРАЛЛ-Диагностика болезней». Методические указания составлены в соответствии с рабочей программой и предназначены для специалистов факультета «Биотехнология и ветеринарная медицина» обучающихся по направлению 36.05.01 – «Ветеринария».

Целью написания издания является ознакомление студентов со специальными компьютерными программами STADIA, Селэкс «Кормовые рационы», Селэкс «Молочный скот», обучение студентов работать с программами, а также сформировать у студентов общекультурные и профессиональные компетенции для решения профессиональных задач.

Для достижения поставленной цели при освоении дисциплины решаются следующие задачи:

- освоение основных содержательных и классификационных понятий курса;

- знакомство с современными компьютерными программами.

Программа STADIA позволяет выполнять статистический анализ данных.

Программа «Кормовые рационы» предназначена для расчета рационов КРС с целью уменьшения их стоимости, сбалансированности всех питательных элементов в рационе, что обеспечивает высокую поедаемость кормов, нормализует обменные процессы в организме.

Программа Селэкс «Молочный скот» дает возможность создавать базу данных по всем животным и таким образом позволяет вести селекционно-племенной учет в хозяйствах.

Компьютерные программы «КОРАЛЛ» – диагностика болезней, меры защиты – предназначены для использования в животноводстве.

Программа разработана по диагностике болезней крупного рогатого скота, свиней, птицы, домашних животных.

Тема 1. Работа в программе STADIA.

Параметрические критерии

Цель занятия. Освоить программу STADIA и научиться выполнять статистический анализ данных в группе параметрические критерии.

STADIA – это исчерпывающий набор самых современных и эффективных методов анализа: описательная статистика, критерии различия, категориальный, дисперсионный, корреляционный и спектральный анализ, сглаживание, фильтрация, прогнозирование, простая, множественная, пошаговая и нелинейная регрессия, дискриминантный, кластерный и факторный анализ, шкалирование, методы контроля качества, анализ выживаемости, вычисление и согласие распределений, последовательный анализ, анализ и замена пропущенных значений и т. д.

Также STADIA включает полный комплект деловой и научной графики: функции, зависимости, распределения, диаграммы рассеяния, многомерные диаграммы, карты, поверхности, вращения, сплайны, прогнозы, гистограммы, столбиковые, башенные и круговые диаграммы, дендрограммы, установка размеров, надписей по осям и под рисунком, графический архив и прочее.

Блок статистического анализа содержит набор процедур, реализующих широко употребительные методы анализа данных и представления результатов.

Везде далее под *экспериментом* понимается процесс сбора информации об объекте исследования (или явлении), связанный с измерением или регистрацией значений переменных характеризующих объект.

Параметрические критерии

В группу *параметрических процедур* входят методы для вычисления общепотребительных выборочных характеристик и проверки гипотез принадлежности двух выборок одной совокупности. Эти методы основываются на предположении о том, что распределение выборок подчиняется нормальному закону.

В пакете Stadia методы описательной статистики представлены в разделе «Параметрические тесты» меню «Статистические методы». Параметрические критерии основываются на предположении, что распределение выборок подчиняется нормальному (гауссовому) закону. Перед их применением необходимо убедиться в допустимости этой гипотезы. Такая проверка производится по критериям Смирнова (Колмогорова-Смирнова), омега-квадрат, хи-квадрат, а также по коэффициентам асимметрии и эксцесса.

Результаты включают следующие показатели: размер выборки, диапазон значений, выборочное среднее, ошибка вычисления среднего, выборочные дисперсия и стандартное отклонение.

Далее по утверждению может быть выдана дополнительная статистика:

1. медиана и квантили, размах 95% доверительного интервала среднего, границы 95% доверительного интервала дисперсии, ошибка стандартного отклонения;

2. коэффициенты асимметрии и эксцесса с уровнями значимости P нулевой гипотезы об отсутствии различий выборочного распределения от нормального распределения по каждому из коэффициентов. Если $P > 0,05$, нулевая гипотеза может быть принята. Такой способ проверки используют при работе с малыми выборками. Если объем выборки превосходит 30 значений, то предпочтительнее пользоваться специальными критериями.

Гистограмма и проверка распределения на нормальность

Гистограмма является общеупотребительной формой представления выборочного распределения. Для ее вычисления диапазон изменения выборочных значений разбивают на некоторое число равных интервалов и подсчитывают число значений, попадающих в каждый интервал. При графическом представлении гистограммы на каждом интервале строится прямоугольник (столбик), высота которого пропорциональна числу выборочных значений в интервале.

Проводится проверка нулевой гипотезы об отсутствии различий между выборочным и нормальным распределениями и выдача трех различных статистик:

- Колмогорова D с уровнем значимости P ;
- *омега-квадрат* ω^2 с уровнем значимости P ;
- *хи-квадрат* χ^2 с уровнем значимости P .

При $P > 0.05$ нулевая гипотеза может быть принята.

Графическая выдача содержит изображение гистограммы с наложенной кривой нормального распределения.

Критерии Фишера и Стьюдента

Критерий Фишера для двух выборок проверяет нулевую гипотезу о равенстве дисперсий двух выборок, а критерий Стьюдента – гипотезу о равенстве выборочных средних.

Выдача включает значения следующих статистик:

- статистика *Фишера* F (она равна отношению дисперсий);
- статистика *Стьюдента* T (в зависимости от результатов сравнения дисперсий применяются различные формулы вычисления T -статистики);

- в случае равенства размеров выборок выдается также статистика Стьюдента, применимая для *парных переменных*.

Для каждой статистики вычисляется уровень значимости P соответствующей нулевой гипотезы отсутствия различий. Если $P > 0,05$, нулевая гипотеза может быть принята.

Большинство статистических процедур опираются на допущение о *нормальном распределении* исходных данных. Для ненормально распределенных данных, ранговых выборок и выборок малого объема более эффективно применять так называемые **непараметрические методы**, не базирующиеся на каком-либо предположении о законе распределения данных, а использующие, как правило, только предположения о случайном характере исходных данных и о непрерывности генеральной совокупности, из которой они извлечены.

Задание 1. Вычислить показатели описательной статистики для переменной выборки:

3255; 3789; 3276; 3167; 2532; 5222; 4012; 3965; 3296; 2877; 3370;
2447; 2130; 3163; 3031; 3055; 2969; 3344; 3988; 2754; 3221; 2624; 3178;
2857; 2500; 2248; 3456; 3585; 2449; 4055; 3974; 2639

Задание 2. Вычислить гистограмму и проверить выборку на нормальность для переменной с построением результирующего графика:

1,8 2,4 3,5 4,4 5,7 6,8 7,0 7,8 9,4 0,1 2,5 3,7 5,0 5,5 6,0 7,5 8,3
1,2 2,9 4,5 5,0 6,5 7,3 5,0 6,0 6,4 3,6 4,5 5,5 6,0 7,2 5,0 5,2 6,6 5,0 5,4
6,5 5,2 6,0

Задание 3. Вычислите показатели описательной статистики и проведите сравнение двух выборок и выявите различия по критериям Стьюдента:

1: 2005 1789 2016 2221 2490 2386 2147 1983 1847 2255

2: 2211 1856 1948 2271 2167 2480 2146 2093 1767 2391

Задание 4. Даны две переменные, которые содержат показатели живой массы поросят при отъеме по данным двух хозяйств за 11 последних лет:

1: 20,0 23,1 22,2 19,8 18,7 21,2 22,4 17,9 21,3 18,3 21,5

2: 18,9 19,4 22,4 21,7 20,3 19,8 17,9 19,6 18,2 21,6 23,0

Требуется определить степень и достоверность коррелированности показателей по живой массе поросят по двум хозяйствам (параметрическая корреляция).

Контрольные вопросы

1. Для чего необходима программы STADIA?
2. Что входит в состав программы системы STADIA?
3. Что такое параметрические критерии?
4. Что такое описательная статистика и какие результаты она выдает?
5. Что такое критерии Фишера и Стьюдента?

Тема 2. Непараметрические критерии в программе STADIA

Цель занятия. Освоить программу STADIA и научиться выполнять статистический анализ данных в группе непараметрические критерии.

Непараметрические процедуры, свободные от допущения о законе распределения выборок, базируются, как правило, только на предположениях о независимости наблюдений и случайном характере распределения ошибок наблюдений.

Критерий хи-квадрат

Критерий хи-квадрат, в отличие от других непараметрических методов, применим к достаточно представительным выборкам, включающим не менее 20-30 элементов и представленных в форме гистограммы. Число интервалов в гистограмме должно быть не менее 4, а каждый интервал должен включать не менее 3-4 выборочных значений (в противном случае рекомендуется соединить соседние интервалы гистограммы).

Данный раздел включает два варианта критерия хи-квадрат:

1. *Критерий однородности* двух независимых выборок проверяет гипотезу отсутствия различий между двумя выборочными распределениями.
2. *Критерий согласия* выборочного распределения и предполагаемого теоретического распределения.

Исходные данные представляют собой гистограммы двух распределений (двух эмпирических или эмпирического и теоретического).

Выдача включает значение статистики хи-квадрат и уровень значимости P соответствующей нулевой гипотезы. При $P > 0,05$ нулевая гипотеза может быть принята.

Критерии различия сдвига (положения)

Методы различия сдвига направлены на проверку следующих гипотез:

- а) отсутствие различий во взаимном положении (*медианах*) двух независимых совокупностей, например, наблюдений одних объектов

без «обработки» и других объектов после обработки с анализом систематического *сдвига* значений второй выборки как результата обработки;

б) сдвиг выборок друг относительно друга равен заданной величине d ;

в) медиана одной анализируемой выборки равна заданной величине d .

Выдача включает:

- значение статистики Вилкоксона – суммы рангов одной из выборок;

- значение статистики Ван дер Вардена, основанную на использовании метода «произвольных меток».

Когда объемы двух выборок совпадают, дополнительно вычисляются следующие две статистики, отвечающие более мощным критериям, применимым в случае парных данных:

- значение статистики Вилкоксона – суммы рангов абсолютных значений разностей парных элементов двух выборок, вычисленных для положительных разностей;

- значение статистики знаков, определенных как число положительных разностей парных элементов двух выборок.

Для каждой статистики вычисляется нормальная аппроксимация (Z -статистика) и уровень значимости P нулевой гипотезы об отсутствии различий в сдвиге двух выборок по отношению друг к другу. Если $P > 0,05$, нулевая гипотеза может быть принята.

Критерии различия масштаба (рассеяния)

Представленные здесь методы основаны на предположении о равенстве *медиан* сравниваемых выборок и направлены:

- на проверку гипотезы об отсутствии различий в *масштабах* (в разбросе или рассеянии значений) двух выборок из независимых совокупностей, например, наблюдений одних объектов без «обработки» и других объектов после обработки с анализом изменения рассеяния значений второй выборки как результата обработки;

- на проверку гипотезы о том, что отношение масштабов выборок равно заданной величине.

Выдача включает значение статистик Ансари-Бредли и Клотца, которые являются концептуальными аналогами статистик Вилкоксона и Ван дер Вардена.

Для каждой исходной статистики вычисляется нормальная аппроксимация (Z -статистика) и уровень значимости P нулевой гипотезы о отсутствии различий в разбросе значений двух выборок. Если $P > 0,05$, нулевая гипотеза может быть принята.

Критерии произвольных альтернатив

Критерии этого класса предназначены для обнаружения всех возможных отклонений от гипотезы об идентичности двух совокупностей.

После запуска процедуры в типовом бланке нужно выбрать для анализа две или несколько переменных из электронной таблицы.

Выдача включает значение статистики Смирнова (часто ошибочно называемой статистикой Колмогорова-Смирнова) и уровень значимости P нулевой гипотезы об отсутствии интегральных различий между выборками.

Если $P > 0,05$, нулевая гипотеза может быть принята. В случае нескольких выбранных переменных подобные вычисления производятся для всех пар переменных.

Задание 1. Значения двух переменных для двух популяций свиней представляют данные о числе животных с живой массой в пределах 100-120, 121-140, 141-160, 161-180, 181-200, 201-220 кг.

1: 72 440 1075 1615 1172 155;

2: 50 329 892 1208 901 119.

Необходимо проверить гипотезу об отсутствии различий в живой массе между двумя популяциями свиней, то есть гипотезу об однородности двух выборок из одной совокупности (критерий хи-квадрат).

Задание 2. Переменная 1 содержит эмпирические частоты, полученные в результате эксперимента, а переменная 2 – частоты распределения, предполагаемые для этих данных (критерий хи-квадрат).

1: 9 12 14 21 18 9 9

2: 21 18 9 12 14 9 9

Установите степень соответствия эмпирических данных теоретическому распределению.

Задание 3. Две выборки содержат данные о светочувствительности 25 куриных эмбрионов (число клевков в минуту по скорлупе в темноте и на свету). Ожидается, что реакции на световой стимул будут соответствовать положительный сдвиг (критерии различия сдвига).

1: 6,8 12,4 25,2 8,4 7,3 25 11,8 10,1 18,3 25,3 16,5
17,4 19,3 14,7 55,2 16,4 25 23,3 26,7 9,1 24,2 23,1 18,5
21,5 30,1

2: 7 23 75 27 3 75 60 15 35 48 11 29 62 40 73
38 57 48 27 33 41 48 75 33 35

Задание 4. Две выборки содержат сведения об оценки тонины шерсти чистопородных овец и помесных овец.

Оцените различия в разбросах значений двух выборок (критерии различия масштаба).

1: 60 58 60 58 64 58 56 64 56 60 50 58 58 64 56 58
58 64 60 56

2: 60 56 60 60 58 64 50 56 60 58 50 64 56 56 58 60
64 50 58 56

Задание 5. Две переменные содержат данные о величине удоя коров за месяц при двух различных рационах кормления.

1: 430 410 370 460 440 390

2: 520 450 440 550 430

Требуется оценить достоверность различий этих двух рационов (критерии произвольных альтернатив).

Задание 6. Две переменные содержат в файле данные о привесе свиней при двух различных рационах питания.

1: 22,1 25 28,2 20,7 26,3 19,5 23,4 18,6 24,5 27,2

2: 17,9 26,8 25,3 24,1 16,8 18,2 21,5 20,6 22

Требуется оценить достоверность различий этих двух рационов (критерии произвольных альтернатив).

Контрольные вопросы

1. Что такое непараметрические критерии?
2. Что такое критерий хи-квадрат?
3. Какие варианты критерия хи-квадрат вы знаете?
4. Что такое критерии различия сдвига (положения)?
5. Что такое критерии различия масштаба (рассеяния)?
6. Что такое критерии произвольных альтернатив?

Тема 3. Анализ факторных эффектов (дисперсионный анализ)

Цель занятия. Освоить дисперсионный анализ в программе STADIA и научиться его выполнять.

Техника дисперсионного анализа полезна для ряда статистических задач, связанных с исследованием влияния одной или нескольких качественных переменных (*факторов*) на одну зависимую количественную переменную (*отклик*). Метод применим и в случае количественных факторов, если их значения могут быть сгруппированы в классы или блоки,

однако такие данные допускают и более детальное исследование зависимости отклика от факторов, выполняемое методами регрессионного анализа.

Однофакторный дисперсионный анализ

С помощью данного метода в зависимости от типа модели по исследуемому фактору (с фиксированными или же со случайными эффектами) на основе параметрического критерия Фишера проверяется одна из двух нулевых гипотез:

- средние значения для групп откликов, измеренных при различных значениях фактора, не имеют существенных различий между собой;
- дисперсия средних значений для групп откликов, измеренных при различных значениях фактора, не отлична от нуля.

Выдача включает стандартную дисперсионную таблицу со столбцами: сумма квадратов, число степеней свободы, средняя сумма квадратов, сила влияния фактора (по Снедекору), строки содержат межгрупповые, внутригрупповые и общие значения.

Далее вычисляется статистика Фишера F с уровнем значимости P . Если $P > 0,05$, нулевая гипотеза об отсутствии влияния фактора может быть принята.

Затем выдаются значения параметров однофакторной модели (факторные эффекты) с доверительными интервалами.

Двухфакторный дисперсионный анализ

Посредством данного метода в зависимости от типа модели по каждому фактору (с фиксированными или же со случайными эффектами) с помощью параметрического критерия Фишера проверяется одна из двух нулевых гипотез:

- средние значения для групп откликов, измеренных при различных значениях фактора, не имеют существенных различий между собой;
- дисперсия средних значений для групп откликов, измеренных при различных значениях фактора, не отлична от нуля.

Имеется две разновидности метода в зависимости от того, проводились ли *повторные измерения* при каждом сочетании значений двух исследуемых факторов или нет.

Выдача включает дисперсионную таблицу со столбцами: сумма квадратов, число степеней свободы, средняя сумма квадратов, сила влияния фактора (по Снедекору), строки содержат значения для первого и для второго факторов, для эффекта межфакторного взаимодействия, а также остаточные и общие параметры.

Далее для каждого факторного эффекта вычисляется статистика Фишера F с уровнем значимости P . Если $P > 0,05$, нулевая гипотеза об отсутствии соответствующего факторного эффекта может быть принята.

Многофакторный дисперсионный анализ

Данная процедура расширяет возможности однофакторного и двухфакторного анализа на большее число ($m > 2$) факторов. Процедура производит проверку гипотез об отсутствии влияния каждого фактора на отклик и не учитывает эффектов взаимодействия факторов второго и большего порядков. Однако она позволяет выявлять факторные эффекты даже в том случае, когда произведены измерения не при всех сочетаниях значений факторов, то есть в случае неполного факторного планирования.

На экран выдается стандартная таблица дисперсионного анализа и результаты проверки каждой гипотезы.

Задание 1. Файл содержит псевдоматрицу, в которой приведены данные о прочности шести деталей (в нескольких испытаниях), из которых четвертая деталь является стандартной.

1 деталь	2 деталь	3 деталь	4 деталь стандарт	5 деталь	6 деталь
14,9	15,8	15,4	15,6	15,1	15,1
15,2	15,2	15,8	15,1	15,7	14,9
15,0	15,7	15,2	15,7	15,2	15,3
15,3	15,5	15,6	15,2	14,9	15,0
15,1		15,1	15,4	15,3	15,4

Необходимо выяснить, различны ли детали по фактору прочности.

Задание 2. Необходимо выяснить отличаются ли исследуемые породы по величине среднесуточного уdoa.

Порода 1	Порода 2	Порода 3	Порода 4
17	15,8	17,4	15,7
17,2	17	16,6	16,8
16,1	16,4	16,2	15,1
17	15,6	15,2	17,2
16,8	15,5		

Задание 3. На основе данных абсолютного прироста разных пород (в нескольких испытаниях) оцените отличаются эти породы по параметрам роста.

Порода 1	Порода 2	Порода 3	Порода 4	Порода 5	Порода 6
15,1	15,3	15,1	15,3	15,2	15,2
15	15,5	15,6	14,9	14,8	15,1
15,4	15,7	15,4	15	15,4	15,3
15	15,8	15,7	14,9	15	15,1
15,3		15,2	15		14,9

Задание 4. Файл содержит матрицу двухфакторного повторяемого эксперимента, в котором измерялось количество выдыхаемого азота (в литрах) для 4 рационов питания (Diet 1, 2, 3, 4) двух возрастных категорий коров (столбцы 1-4 и 5-8). В эксперименте участвовало по три коровы (строки 1-3) в каждой из 8 групп «возраст-рацион»:

4,08	4,37	4,17	4,93	2,87	3,58	4,4	4,905
4,86	5,67	5,71	5,61	4,65	5,39	4,5	5,206
3,54	3,75	4,42	4,94	3,85	4,37	4,69	4,806

Нужно произвести два расчета для модели с фиксированными и для модели со случайными эффектами.

Задание 5. Проведено испытание пяти пород на шести разных рационах (двухфакторный эксперимент без повторных испытаний). Необходимо определить различаются породы независимо от рациона и различна ли эффективность используемых рационов независимо от породы.

6	9	6	2	6
4	7	8	3	5
9	3	10	7	4
8	4	14	4	10
15	11	13	9	14
12	14	15	11	9

Задание 6. При изучении влияния родственного спаривания получены следующие показатели среднесуточного прироста в разводимых семействах.

Оцените достоверность влияния этих факторов.

	Волшебницы	Беатрисы	Тайги
Инбридинг	710	825	765
Аутбридинг	715	665	660

Контрольные вопросы

1. *Что такое дисперсионный анализ?*
2. *Что такое однофакторный дисперсионный анализ?*
3. *Что такое двухфакторный дисперсионный анализ?*
4. *Что такое многофакторный дисперсионный анализ?*

Тема 4. Общие принципы работы в программе Селэкс «Кормовые рационы»

Цель занятия. Ознакомиться с общими возможностями и особенностями работы с окнами в программе Селэкс «Кормовые рационы». Научиться составлять кормовые рационы для крупного рогатого скота.

Вход в программу. Общие принципы работы

Программа «Кормовые рационы» предназначена для расчета рационов КРС с целью уменьшения их стоимости при сбалансированности всех питательных элементов в рационе, что позволяет снизить затраты на производство продукции животноводства, повысить срок службы животных и, в результате, повысить экономическую эффективность животноводства.

Настройка окон для ввода информации аналогична настройке окон в программе в программе Селэкс «Молочный скот».

Кодификаторы

Настройка всех справочников осуществляется в режиме «Кодификаторы». Список справочников содержит:

- единые для информационной системы животноводства справочники, которые поставляются пользователю для работы в готовом виде, без прав ввода и корректировки информации, находящейся в справочнике;

- собственные справочники хозяйства, которые вводятся и корректируются в режиме «Собственные справочники».

Окно «Кодификаторы» состоит из нескольких настраиваемых панелей. На левой панели расположен перечень всех справочников. При выборе справочника на правой панели выводится его содержимое.

Основное назначение окна «Кодификаторы» – настройка справочников для просмотра в удобном для пользователя виде: установка порядка расположения и размера полей показателей справочника, ограничение количества элементов справочника, сортировка справочника по любому количеству показателей.

Настройка справочника осуществляется командой «Просмотр».

Справочники имеют дополнительные поля: «Выводить», «Частота», «Порядок». Единственный показатель, который может корректироваться в любом справочнике – «Выводить».

Предельные значения

Просмотр и правка предельно допустимых значений проводится в окне «Предельные значения». Показатели в справочнике делятся по группам: «Нормы», «Недокорм», «Перекорм». В разделе «Нормы» по желанию пользователя может вводиться абсолютная величина показателей питательности; допустимые пределы отклонений от норм, обозначены в группах «Недокорм», «Перекорм», вводятся в процентах от нормы (минимум, максимум).

Окно «Группы кормов»

В окне «Группы кормов» выводится справочник групп и подгрупп кормов. В верхней части окна расположены группы кормов, а в нижней – подгруппы кормов, входящие в эти группы.

Окно «Корма»

Окно «Корма» предназначено для ввода информации по производимым в хозяйстве, покупным и (или) используемым для расчёта рационов кормам. В окне осуществляется ввод, корректировка и просмотр данных.

«Справочник кормов» состоит из перечня кормов, поставляемых с программой и вносимых пользователем «Пользовательских».

Окно «Типы кормления»

В окне «Типы кормления» осуществляется ввод, редактирование, просмотр справочника типов кормления.

Структура рациона задается в окне «Структура».

В справочник добавляется собственный тип кормления нажатием кнопки «Добавить». В появившейся пустой строке вводится название нового типа кормления. Для сохранения нажмите кнопку «Сохранить». В нижней части введите процентное содержание групп кормов по сухому веществу, обменной энергии и кормовым единицам для созданного типа кормления.

Окно «Рацион»

Окно «Рацион» состоит из нескольких вкладок:

- **«Выбор кормов»**, в котором выбираются корма для расчета конкретного рациона из пользовательских кормов;
- **«Нормы»** – вводятся параметры животного, выбираются нормы кормления, задание условий и ограничений по питательным веществам;
- **«Структура»** – формируется структура рациона по кормам;
- **«Соотношения»** – задание оптимальных соотношений питательных веществ в дополнение к норме;
- **«Расчет рациона»** – выбирается критерий оптимизации, выполняется расчет, анализ полученного рациона и выходные документы.

Во всех разделах можно вводить и редактировать данные. Внесённые изменения автоматически отобразятся в соответствующих окнах и наоборот.

Окно «Выбор кормов»

Расчет текущего кормового рациона начинается с выбора кормов.

Для этого щелчком мыши открывается окно «Выбор кормов». В верхней части выводится справочник пользовательских кормов, в нижней части – корма, выбранные для расчета рациона.

Выбранные корма не выводятся в общем справочнике (в верхней части).

Окно «Нормы»

В данном окне для расчета рациона выбираются: группа животного, производственные параметры, нормы.

Окно «Структура»

В верхней части Окна «Структура» выводится список групп кормов, используемых для расчета структуры рациона, в нижней части – отображается список кормов, составляющих выбранную группу.

Окно «Соотношения»

Режим «Рассчитываемый».

В верхней части находится список соотношений питательных веществ, величина допустимого отклонения от нормы, рассчитанные соотношения по суточной норме, по минимальным и максимальным суточным дачам выбранных кормов, по норме г. Санкт-Петербурга.

В нижней части выводится выбранное соотношение в кормах, входящих в состав рациона. При расчете рациона для учета соотношения надо щелкнуть два раза левой кнопкой мышки в графе «Заданные ограничения» и поставить «+».

Для установления допустимых значений в справочнике «Соотношения питательных веществ» щелкните кнопку «Значения по умолчанию»

по соотношениям», которая устанавливает в столбцы «Мин.» и «Макс.» заданные соотношения. Значения в столбцах «Мин.» и «Макс.» можно редактировать.

Режим «Пользовательский».

На экране выводится рассчитанная структура пользовательского рациона. Задавать ограничения по структуре для балансирования рациона нельзя. В верхней части окна выводятся рассчитанные соотношения по суточным дачам, по суточной норме, по норме Санкт-Петербурга.

Окно «Соотношения питательных веществ»

В окне «Соотношения питательных веществ» осуществляется просмотр ввод, редактирование данного справочника.

В верхней части окна выводится список соотношений питательных веществ, в нижней части отображается формула, по которой эти соотношения рассчитывались. Приведенная на рисунке 30 формула означает, что соотношение «сахар к переваримому протеину» рассчитано из норм потребности в сахаре и переваримом протеине с допустимыми отклонениями от норм.

Программа поставляется с готовым справочником соотношений питательных веществ. Справочник используется при расчете рациона, если пользователем будут заданы условия по учету соотношений при расчете рациона. Справочник можно дополнять новыми соотношениями.

Окно «Оценка рациона», «Сохранённые рационы»

В окне «Оценка рациона» оценивается рацион по составу и питательности веществ.

Окно «Сохранённые рационы» не включает текущий рацион, в остальном оно идентично окну «Оценка рациона».

В левой части окна выводится список сохранённых рационов. В окне «Оценка рациона» в верхней строке всегда стоит текущий рацион.

В нижней части окна – корма выделенного рациона, их цена, суточная дача на одну голову, стоимость и питательность.

Окно «Отчеты»

Отчёты по текущему или сохранённому рациону можно получить, щёлкнув по кнопке «Отчёты» внизу окна. В окне «Отчёты по рациону» проставьте «галочки» напротив нужных отчётов и нажмите кнопку «Все отмеченные».

Первый отмеченный отчёт появится на экране в просмотрном режиме. Для печати отчёта нажмите кнопку «Печать отчёта». Для просмотра следующего отчёта нажмите кнопку «Выход». Для просмотра только одного отчёта нажмите кнопку с листком напротив нужного отчёта.

Из окна «Сравнение рационов» можно выйти в окна «Сохранённые рационы» и «Сводная таблица».

Пример расчета рациона

Задача. Рассчитать рацион для коровы с живым весом 500 кг при суточном удое молока 12 кг с содержанием жира 4%, суточная дача корма:

- ячмень – 4,0 кг;
- жмых подсолнечный – 0,5 кг;
- сено злаково-бобовое – 3,7 кг;
- силос кукурузный – 27,0 кг;
- сахарная свёкла – 3,0 кг;

Решение

Открываем программу «Кормовые рационы» и входим в нее как «Администратор». Затем устанавливаем нужные параметры животного (по заданию), для которого будем рассчитывать рацион. Для этого нужно выбрать окно «Рационы», щелкнув левой кнопкой мыши по этому окну. Затем находим вверху окно «Нормы», щелкаем по нему мышью и находим окно «Вид животных», выбираем – молочные. Далее в окне «Группа животного» выбираем. «Лактирующие коровы (мол.)», а ниже устанавливаем параметры:

- суточный удой – 12 кг;
- жирность молока – 4%;
- стадия лактации – 1 (например);
- живая масса – 500 кг;
- упитанность – 1 (например);
- система содержания – 1 (например);
- концентрация обменной энергии и сухого вещества – 10,6 (должно быть в пределах допустимого).

Каждый установленный параметр нужно сохранить, т.е. щелкнуть левой кнопкой мыши на кнопку с символом сохранить (она обозначена зеленой галочкой).

Нужно указать способ расчета суточных норм по методу г. Санкт-Петербурга или г. Москвы (поставить галочку) и щелкнув на значок мышью, задать нормы рациона кормления.

В таблице справа указаны питательные вещества, их суточная норма. Рацион должен быть сбалансирован по питательным элементам.

Затем животному нужно подобрать корма, которые Вы хотели бы включить в рацион. Для этого входим в окно «Корма» (находится слева внизу) и выбираем из справочника корма. Находим, например, ячмень и щелкаем по слову левой кнопкой мыши (он станет голубого цвета), затем дублируем его, т.е. щелкаем левой кнопкой мыши на «Дубл.» – дублировать корм.

Затем находим и выбираем продублированный корм в окне «Выбор кормов»: для этого щелкаем левой кнопкой мыши на окно «Вернуться в рацион» и сверху находим окно «Выбор кормов», щелкаем левой кнопкой мыши по нему. Поле «Выбранные корма» (внизу) должно быть пустым. Если там уже имеются корма, то их нужно удалить, щелкнув левой кнопкой мыши по кнопке «Удалить все корма», на которой изображена желтая метелка. Устанавливаем нужную группу кормов (ячмень относится к концентрированной группе), находим его, щелкаем по нему левой кнопкой мыши (он станет голубого цвета) и переносим его в выбранные корма, щелкнув по синей стрелке, которая указывает вниз, указываем цену корма (произвольно), например, 5 руб. за кг и количество – 4 кг; сохраняем кнопкой с символом сохранить (зеленая галочка). Далее, выбираем и сохраняем все нужные корма для рациона.

Рацион должен быть пользовательским (если делаете рассчитываемый, то нужно указывать минимальную и максимальную дачу корма).

Щелкаем левой кнопкой мыши на окно «Оценка рациона». Если появляется сверху в красном окне надпись: «Рацион Некорректен» значит рацион составлен не верно, нужно обратить внимание на окно «Питательность». Это окно показывает сбалансированность питательных элементов в рационе кормов. Нужно обязательно сбалансировать рацион как можно ближе к суточной норме по питательным элементам. Нужно сбалансировать рацион близко к норме. В данном примере в рационе избыток обменной энергии, нужно уменьшить дачу ячменя не 4, а 3кг и тогда рацион будет составлен верно.

Можно просмотреть отчеты, а при желании и распечатать их, щелкнув левой кнопкой мыши на окно «Отчеты» (внизу) и поставив галочки на всем представленном списке: состав рациона, состав рациона (+пересчет), потребность в кормах, питательность рациона, структура рациона, соотношения, зоотехнические показатели, диаграмма. Укажите ваше поголовье, для которого составили рацион на 1 день, и щелкните левой кнопкой мыши на окно «Все отмеченные».

Задание 1. Рассчитать летний рацион для коровы с живым весом 500 кг при суточном удое молока 14 кг с содержанием жира 4%.

Задание 2. Рассчитать зимний рацион для быка-производителя с живым весом 800 кг при повышенной нагрузке.

Задание 3. Рассчитать зимний рацион для стельных сухостойных коров с живым весом 500 кг при плановом удое 3000 кг молока.

Задание 4. Рассчитать зимний рацион для коровы с живым весом 600 кг при суточном удое молока 32 кг с содержанием жира 4%.

Задание 5. Рассчитать летний рацион для быка-производителя с живым весом 1000 кг при повышенной нагрузке.

Задание 6. Рассчитать зимний рацион для лактирующих коров с живой массой 500 кг при суточном удое молока 16 кг с содержанием жира 4%

Задание 7. Рассчитать зимний рацион для лактирующих коров с живой массой 700 кг при суточном удое молока 20 кг с содержанием жира 4%.

Задание 8. Рассчитать зимний рацион для мясных ремонтных бычков возраст 12 мес., живая масса 386 кг, среднесуточный прирост 1100 г.

Задание 9. Рассчитать летний рацион для молочных ремонтных телок возраст 18 мес., живая масса 416 кг, среднесуточный прирост 550 г.

Задание 10. Рассчитать зимний рацион для молочных нетелей с живой массой 500 кг, годовой удой 5900 кг.

Контрольные вопросы

1. *Что выводится в окне «Группы кормов», на какие части оно делится?*
2. *Для чего предназначено окно «Корма»?*
3. *Какие параметры устанавливаются в окне «Нормы»?*
4. *Из каких частей состоит окно «Структура»?*
5. *Какую информацию выдает программа в окне «Отчеты»?*

Тема 5. Общие возможности программы Селекс «Молочный скот»

Цель занятия. Ознакомиться с общими возможностями и особенностями работы с окнами в программе Селэкс «Молочный скот». Научиться составлять картотеку по животным в базе данных программы.

Программа Селэкс «Молочный скот» выполняет:

- учет и анализ качественных показателей молока по каждой корове;
- оперативную обработку первичных данных зоотехнического и племенного учета;

- оперативное управление производством;

- оперативное управление селекционно-племенной работой.

Накапливаются все сведения о животных:

- события, экстерьер, генотип, развитие, комплексная оценка;
- оценка вымени, продуктивность по всем лактациям, происхождение.

Управление производством позволяет:

- анализировать продуктивность стада в структурных подразделениях и по хозяйству;

- контролировать раздой новотельных коров;
- отслеживать в стаде животных, которые приносят значительный экономический ущерб в отрасли (потери молока, телят);
- осуществлять оперативное планирование (запусков, ректального исследования).

Оперативное управление селекционно-племенной работой решает вопросы:

- контроль за продуктивностью коров с высокой племенной ценностью;
- обеспечение информацией по результатам использования быков в стаде;
- анализ и организация воспроизводства в стаде, планирование осеменения коров;
- определение и анализ потенциала новотельных коров;
- накапливание итогов племенной работы хозяйства, в т.ч. по годам (свод и анализ бонитировки).

Настройка окон для ввода информации

Под заголовком окна находится ряд кнопок с командами, предназначенными для перехода в другие окна.

Запустить выполнение функции можно, либо щелкнув левой кнопкой мыши по кнопке функций, либо нажимая соответствующее данной функции сочетание клавиш.

Окно «Предельные значения» – это окно, где осуществляется просмотр и редактирование предельно допустимых значений показателей

Справочник состоит из трех вкладок-разделов:

- промеры;
- продуктивность, воспроизводство;
- живая масса.

Окно «Научная система исследования комплексного класса»

Это окно, где осуществляется просмотр стандартов и значение шкал для расчетов комплексного класса коров и молодняка.

Вы можете выбрать стандарт по любой породе скота, которая присутствует в едином справочнике пород.

Окно «Установки хозяйства»

Это окно, где осуществляется просмотр, редактирование, ввод параметров настройки Вашего хозяйства.

Заполняете показатели и таким образом настроите программу для Вашего хозяйства.

Окно «Доярки»

Это окно, где осуществляется просмотр и расчет информации о показателях продуктивности и воспроизводства коров по дояркам Вашего хозяйства. Программа позволяет вводить и редактировать только сведения, идентифицирующие доярку (Ф.И.О., код доярки). Для ввода информации по новой доярке нажмите клавишу «Добавить». Справочник доярок состоит из двух окон: продуктивность и воспроизводство, которые открываются при нажатии соответствующей кнопки.

Окно «Техники»

Это окно, где осуществляется просмотр информации и расчет показателей по техникам Вашего хозяйства. Работают с этим окном аналогично, как с окном «Доярки».

Окно «Фермы»

Это окно, где осуществляется просмотр, ввод и корректировка списка ферм хозяйства.

Окно «Дворы»

Это окно, где осуществляется просмотр, ввод и корректировка списка дворов хозяйства.

Справочник «Дворов» не обязателен для работы программы. Он используется только в том случае, если в режиме «Установки хозяйства» около показателя «Дворы» установлена опция «Флажок».

Окно «Список коров»

В окне готовится упорядоченный список коров, по которым Вы будете вводить информацию.

Для поиска коровы в списке животных пользуйтесь кнопками навигатора, полосой прокрутки списка, либо функцией поиска. Выбор коровы из списка для просмотра или обновления информации осуществляется одним из указанных способов:

- с помощью «Мышки» выберите любой из разделов карточки «2-МОЛ»;

- щелкните 2 раза левой кнопкой «Мыши» по активной строке, и вы автоматически попадаете в окно «Паспорт».

Для записи новой карточки «2-МОЛ» нажмите клавишу «Добавить». Программа автоматически перейдет в пустое окно «Ввод коровы» для ввода информации по новой корове.

Используя контекстное меню, вызываемое щелчком по правой кнопке «Мыши» можно установить дополнительные настройки или открыть следующие окна базы данных: «Фермы», «Дворы», «Доярки», «Техники». Из окна «Список коров» можно перейти в окно «Список молодняка». Для этого выберите опцию «Молодняк».

Окно «Паспорт коровы»

Окно является первым разделом карточки «2-МОЛ», содержит все сведения о рождении коровы и основные данные (породность, назначение, улучшающие породы).

Окно «Лактации коровы»

Окно «Лактации коровы» осуществляет просмотр первичной информации, настройку, ввод, корректировку, а также является одним из разделов карточки «2-МОЛ», содержит сведения по всем имеющимся законченным лактациям: продуктивности; отеле; живой массе; комплексному классу; осеменению; запуску; приплоде.

При вводе данных по лактации производится контроль удоя, % жира, % белка, живой массы, комплексного класса на соответствие предельным значениям, проводится логическая увязка вводимых дат. Все даты вносятся в хронологическом порядке: осеменение-запуск-отел и проверка на реальность появления того или иного события, проводится контроль на наличие техников, быков в соответствующих справочниках.

Программа позволяет вводить информацию либо целиком всей лактации, либо по разделам лактаций:

- продуктивность по всем лактациям – вкладка «2. Продуктивность»;
- осеменения, запуски и отелы по лактациям – вкладка «3. Воспроизводство»;
- приплод по лактациям – вкладка «4. Приплод».

В первом случае выберете настройку «ввод – по лактации»,

Во втором случае – «Ввод – по разделам».

Окно «Предки коровы»

Здесь осуществляется настройка, ввод, корректировка, просмотр генеалогии животного, оно является одним из разделов карточки «2-МОЛ», содержит сведения о происхождении коровы:

- *Левая* панель служит для вывода родословной коровы;
- *Правая* – для показа сведений по паре предков (матери и отцу) из родословной.

Окно «Развитие коровы»

Окно является одним из разделов карточки «2-МОЛ», содержит сведения по возрастам по живой массе коровы, промерах и оценке экстерьеря коровы.

Окно «Свойства вымени»

Является одним из разделов карточки «2-МОЛ», содержит сведения о скорости молокоотдачи, форме и индексе вымени коровы.

Окно «События коров»

Ввод событий по корове может осуществляться при условии, что данная корова зарегистрирована в базе данных, т.е. по ней введена карточка «2-МОЛ».

Окно «Быки»

Паспорт является первым разделом карточки «1-МОЛ», содержит сведения и основные данные, идентифицирующие быка.

Окно «Предки быков»

Окно содержит сведения о происхождении быка. В указанное окно можно попасть либо из окна «Паспорт» быка, либо из окна «Предки» раздела карточки «2-МОЛ»:

- *Левая* панель предназначена для вывода родословной быка;
- *Правая* панель предназначена для показа сведений по паре предков (матери и отцу) из родословной.

Окно «Материнские предки»

Окно является разделом карточки «2МОЛ», содержит сведения, идентифицирующие корову, основные данные и обобщенные данные по продуктивности по основным лактациям (1, 2, 3, наивысшей и средней за ряд лактаций). В указанное окно можно попасть из стартового окна задачи, из разделов «Картотека», «Молодняк», либо из списка материнских предков разделов карточки «2-МОЛ».

Окно «Список молодняка»

В этом окне осуществляется настройка ввода первичной информации и просмотр списков молодняка, выбранных по различным условиям.

Окно «Паспорт молодняка»

Окно является первым разделом карточки «2-МОЛ» или «1-МОЛ», содержит идентифицирующие сведения и основные данные молодняка. В указанное окно можно попасть либо из окна «Список молодняка», либо из окон разделов карточки «2-МОЛ» или «1-МОЛ». При вводе данных производится контроль на наличие в справочниках породности, породы, комплексного класса, назначения, места рождения, улучшающей породы, проводится логическая увязка вводимых дат.

При некорректных значениях будет выдано сообщение об ошибке.

Окно «Предки молодняка»

Окно является одним из разделов карточки «2-МОЛ» или «1-МОЛ», содержит сведения о происхождении телят. В указанное окно можно попасть либо из окна «Список молодняка», либо из окон разделов карточек. *Левая* панель служит для вывода родословной теленка. *Правая* панель – для показа сведений по паре предков (матери и отцу) из родословной.

Окно «Развитие молодняка»

Вы находитесь в окне, в котором осуществляется ввод, корректировка, просмотр первичной информации по развитию молодняка. Окно является одним из разделов карточки «2-МОЛ» и «1-МОЛ», содержит сведения по оценке экстерьерера теленка и живой массе в зависимости от возраста.

Окно «События молодняка»

Ввод событий по молодняку может осуществляться при условии, что данное животное зарегистрировано в базе данных, т.е. по нему введена карточка «2-МОЛ» или «1-МОЛ».

Окно «Комплексный класс молодняка»

При входе в данное окно программа автоматически рассчитывает комплексный класс выбранного теленка на «Дату расчета» – сегодняшнее число.

Окно «Отчеты»

В этом окне задаются параметры для расчета отчета. Прежде чем выполнить отчет, необходимо сделать проверку информации. Логические увязки информации в базах данных и проверка на полноту заполнения информации запускаются на выполнение кнопкой «Логика».

После исправления ошибок можно получать отчеты. Список кнопок, входящих в режим «Отчеты» соответствует перечню задач, решаемых программой. После нажатия клавиши с названием задачи, на экране появляется список кнопок с перечнем отчетов, выбранной задачи.

Перед получением отчета необходимо задать параметры для расчета.

Окно «Карточка 2-МОЛ»

Поле «Параметры отчета» предназначено для ввода ключа коровы, для которой Вы хотите сформировать карточку «2-МОЛ». Карточка «2-МОЛ» состоит из двух сторон: лицевой и оборотной. Содержание разделов по сторонам карточки находится в поле «Разделы отчета». Здесь можно выбрать для просмотра и печати всю карточку, либо только те разделы, которые необходимы.

Для индивидуального выбора разделов снимите «Флажок» с опции «Все разделы», отметьте необходимые разделы в списке.

Для печати или просмотра необходимой стороны карточки «2-МОЛ» воспользуйтесь кнопками «Лицевая сторона» или «Оборотная сторона».

Задание 1. Усвоить общие возможности и особенности работы с окнами в программе Селэкс «Молочный скот». Научиться составлять картотеку по животным в базе данных программы.

Контрольные вопросы

1. Какие функции выполняет программа ИАС «СЕЛЭКС – Молочный скот»?
2. Какие сведения о животных накапливаются в программе ИАС «СЕЛЭКС – Молочный скот»?
3. Что позволяет производить управление производством в программе ИАС «СЕЛЭКС – Молочный скот»?
4. Что осуществляет окно лактации и какие сведения в нем содержатся в программе ИАС «СЕЛЭКС – Молочный скот»?
5. Какие вопросы решает оперативное управление селекционно-племенной работой в программе ИАС «СЕЛЭКС – Молочный скот»?
6. Какие сведения заносятся в окно карточка-2МОЛ в программе ИАС «СЕЛЭКС – Молочный скот»?

Тема 6. Компьютерные программы «КОРАЛЛ-Диагностика болезней»

Цель занятия. Ознакомиться с общими возможностями и особенностями программы «Коралл» и научиться выполнять диагностику болезней крупного рогатого скота, свиней, собак и птиц.

Компьютерные программы «КОРАЛЛ» – диагностика болезней, меры защиты – предназначены для использования в животноводстве.

Программа разработана по диагностике болезней крупного рогатого скота, свиней, птицы, домашних животных. Она нужна ветврачам, зоотехникам, фермерам, специалистам информационно-консультационных сельскохозяйственных служб и отдельным владельцам животных. Программа необходима для облегчения получения и передачи знаний от ведущих специалистов по лечению животных ветврачам-практикам и всем тем, кто работает с программой, для сбора и обновления справочных сведений, необходимых в ежедневной работе по диагностике и лечению болезней, а также предоставления возможности диагностирования болезней и получения рекомендаций по лечению животных. Программа выполняет автоматизированную диагностику болезней животного, предлагает меры по профилактике болезней, лечению и оздоровлению, выдает справки по болезням, их признакам, возбудителям, лечебно-профилактическим мероприятиям; по болезням, характерным для разных групп животных, литературе и др.

Для входа в программу выберите окно «Пользователь», далее открываете окно «Диагностика» и выбираете вид и группу животного. Затем выделяете нужные клинические признаки, щёлкнув по нему левой кнопкой мыши и нажав внизу на окно «Выбрать/Отменить». Затем открываете окно

«Определить болезнь», после ее определения открываете окно «Поражаемые системы, этиология» и окно «Меры борьбы» и выписываете из них информацию.

Задание 1. Поставьте диагноз болезни и напишите поражаемые системы, этиологию болезни, меры борьбы (лечение, профилактика) коровы до 4-х лет по таким клиническим признакам:

желтушность слизистых оболочек, истощение, увеличение лимфоузлов, отек в области груди, отеки конечностей, отечность в области головы и глаз, увеличение печени, увеличение селезенки, цианоз, экзофтальм (пучеглазие), быстрая утомляемость, аборт, затрудненное мочевыделение, нарушение пищеварения, снижение продуктивности, ослабление сердечной деятельности.

Задание 2. Поставьте диагноз болезни и напишите поражаемые системы, этиологию болезни, меры борьбы (лечение, профилактика) быка-производителя по таким клиническим признакам:

анемия, гемморагия, паралич задних конечностей, потеря способности к воспроизводству, пониженное содержание в печени витамина Е, гемолиз эритроцитов повышенный, пониженное содержание в печени селена.

Задание 3. Поставьте диагноз болезни и напишите поражаемые системы, этиологию болезни, меры борьбы (лечение, профилактика) поросенку 2-4 мес. по таким клиническим признакам:

затрудненное дыхание, затрудненность движений, истощение, мышечная дистрофия, отеки конечностей, болезненная реакция на пальпацию костей суставов, запрокидывание головы, шаткая походка, пульс аритмичный, дистрофия, задержка в росте, паралич.

Задание 4. Поставьте диагноз болезни и напишите поражаемые системы, этиологию болезни, меры борьбы (лечение, профилактика) индейка (самка) по таким клиническим признакам:

затрудненное дыхание, нагноение глаз, опухание конъюнктивы, ослабление окраски ног, клюва, повреждение роговицы глаз, скопление творожистой массы под веками, сухость глаз, выделения из носа, сонливость, шаткая походка.

Задание 5. Поставьте диагноз болезни кобелю и напишите поражаемые системы, этиологию болезни, меры борьбы (лечение, профилактика) по таким клиническим признакам:

дыхание жесткое, аппетит понижен, возбуждение / беспокойство, глотательные движения, дыхание с открытой пастью, общая слабость, боль при пальпации пищевода, брюшная стенка напряжена, болезненна, повышение температуры.

Задание 6. Поставьте диагноз болезни щенку и напишите поражаемые системы, этиологию болезни, меры борьбы (лечение, профилактика) по таким клиническим признакам:

дыхание жесткое / бронхиальное, непрерывные звучные или сухие шумы в легких, аппетит понижен, глотательные движения, дрожь, дыхание шумное, общая слабость, повышенная заболеваемость щенков различными болезнями, понижение мышечного тонуса, из носовых ходов незначительные / обильные выделения двухсторонние, отхаркивание слизи, чихание с прозрачным / серозными выделениями, температура нормальная / слегка повышенная, кашель сухой / болезненный.

Контрольные вопросы

1. Для чего разработана программа «КОРАЛЛ-Диагностика болезней»?
2. Что выполняет программа «КОРАЛЛ-Диагностика болезней»?
3. Как работать с программой «КОРАЛЛ-Диагностика болезней»?

Методические материалы и оценочные средства для проведения и промежуточной аттестации

Промежуточная аттестация успеваемости обучающихся по дисциплине «Информационные технологии в ветеринарии» проводится в виде зачета по экзаменационным билетам, включающим два вопроса.

При подготовке к зачету особое внимание нужно обратить на следующее:

1. Зачет проводится в устной форме, поэтому при подготовке к зачету материал необходимо структурировать и конспектировать.

2. Положительная оценка на зачете ставится в случае правильного ответа на все предложенные в билете вопросы.

3. Для того чтобы избегать трудностей при ответах на вопросы, необходимо при подготовке к зачету пользоваться не только лекционным материалом, но и рекомендованной литературой по данной дисциплине. Также необходимо посещать консультации перед зачетом для уточнения ответов на вопросы, вызвавшие затруднения.

Перечень вопросов для подготовки к зачету

- 1 Понятия информатизация, информационное общество.
2. Понятие информационной технологии.
- 3 Основные направления использования информационной технологии.

4. Предмет и содержание дисциплины «Информационные технологии».
5. Определение и задачи информационной технологии.
6. Классификация информационной технологии.
7. Что такое информация, данные, знания?
8. Понятие «информационная система».
9. Классификация информационных систем по назначению. Классификация информационных систем по структуре аппаратных средств.
10. Классификация информационных систем по режиму работы
11. Классификация информационных систем по характеру взаимодействия с пользователями
12. Состав и характеристика качества информационных систем
13. Классификация персональных компьютеров.
14. Компьютерные сети и их виды
15. Глобальная сеть интернет
16. Браузеры
17. Электронная почта
18. Прикладное программное обеспечение общего назначения.
19. Программы обработки текста.
20. Графические редакторы.
21. Электронные таблицы.
22. Системы управления базами данных.
23. Экспертные системы.
24. Методо-ориентированное прикладное программное обеспечение.
25. Проблемно-ориентированное прикладное программное обеспечение.
26. Информационные ресурсы в племенном животноводстве.
27. Какие компьютерные программы используются в зоотехнии? Для чего они нужны и какие функции они выполняют?
28. Какие компьютерные программы используются в ветеринарии? Для чего они нужны и какие функции они выполняют?
29. Какие значения переменных используют в статистике? Опишите их.
30. Что нужно сделать, чтобы провести статистический анализ в программе STADIA?
31. Для чего необходима программа STADIA?
32. Что входит в состав программы системы STADIA?
33. Что такое параметрические критерии в программе STADIA? Какие критерии к ним относятся?

34. Что такое описательная статистика и какие результаты она выдает в программе STADIA?
35. Что такое критерии Фишера и Стьюдента в программе STADIA?
36. Что такое коэффициент корреляции в программе STADIA?
37. Что такое непараметрические критерии? Какие критерии к ним относятся в программе STADIA?
38. Что такое критерий хи-квадрат в программе STADIA?
39. Какие варианты критерия хи-квадрат вы знаете?
40. Что такое критерии различия сдвига (положения) в программе STADIA?
41. Что такое критерии различия масштаба (рассеяния) в программе STADIA?
42. Что такое критерии произвольных альтернатив в программе STADIA?
43. Что такое дисперсионный анализ в программе STADIA?
44. Какие модели факторного эксперимента вы знаете? Опишите их.
45. Что такое однофакторный дисперсионный анализ в программе STADIA?
46. Что такое двухфакторный дисперсионный анализ в программе STADIA?
47. Что такое многофакторный дисперсионный анализ в программе STADIA?
48. Что такое регрессионный анализ в программе STADIA?
49. Что такое простая регрессия в программе STADIA?
50. Для чего разработана программа «КОРАЛЛ» диагностика болезней?
51. Что выполняет программа «КОРАЛЛ» диагностика болезней?
52. Кому необходима программа «КОРАЛЛ» диагностика болезней?
53. Как работать с программой «КОРАЛЛ» диагностика болезней?
54. Опишите область эксперта компьютерной программы «КОРАЛЛ» диагностика болезней.
55. Опишите область пользователя программы «КОРАЛЛ» диагностика болезней.
56. Программа «КОРАЛЛ» диагностика болезней как справочник. Какие виды справок она выдает? Опишите их.
57. В какой последовательности выполняется задание связей в программе «КОРАЛЛ» диагностика болезней?
58. Для чего предназначена программа КОРАЛЛ-Ферма? Какие функции она выполняет?

59. Что включают в себя дополнительные модули программы КО-РАЛЛ-Ферма?
60. Общие возможности программы Селэкс «Молочный скот».
61. Что осуществляют в окне «Пределные значения» программы Селэкс «Молочный скот»?
62. Что такое окно «НСИ комплексного класса» в программе Селэкс «Молочный скот»?
63. Что осуществляют окна «Доярки», «Техники», «Дворы», «Фермы» и как с ним работать в программе Селэкс «Молочный скот»?
64. Что такое окно «Список коров» и как им пользоваться в программе Селэкс «Молочный скот»?
65. Что содержится в окне «Паспорт коровы» в программе Селэкс «Молочный скот»?
66. Что осуществляет окно «Лактации коровы» и какие данные в него вводят в программе Селэкс «Молочный скот»?
67. Для чего служит левая и правая панели в окне «Предки коровы» и как сформировать родословную животного в программе Селэкс «Молочный скот»?
68. Что такое окно «Развитие коровы» и какие показатели в него вводят в программе Селэкс «Молочный скот»?
69. Какие сведения содержит окно «Свойства вымени» в программе Селэкс «Молочный скот»?
70. Какие данные вводят в окно «Быки» в программе Селэкс «Молочный скот»?
71. Что содержит окно «Предки быков» и для чего нужны левая и правая панель в этом окне в программе Селэкс «Молочный скот»?
72. Какие данные содержатся в окне «Список молодняка» в программе Селэкс «Молочный скот»?
73. Что включает в себя окно «Паспорт молодняка» в программе Селэкс «Молочный скот»?
74. Что содержит в себе окно «Предки молодняка» в программе Селэкс «Молочный скот»?
75. Что представляет собой окно «Развитие молодняка» и какие данные в него вводят в программе Селэкс «Молочный скот»?
76. Как правильно выполнить отчет в программе Селэкс «Молочный скот»?
77. Из каких сторон состоит Окно «Карточка 2-МОЛ» и что они в себя включают в программе Селэкс «Молочный скот»?

Рекомендуемая литература

1. Бетляева, Ф. Х. Биометрическая обработка данных на основе компьютерной программы STADIA / Ф. Х. Бетляева : учебное пособие. – Самара : РИЦ СГСХА, 2008. – 130 с.
2. Канаева, Е. С. Компьютеризация в животноводстве: учебное пособие / А. М. Ухтверов, Е. С. Канаева – Самара : РИЦ СГСХА, 2015 . – 141 с.
3. Кулаичев, А. П. Методы и средства анализа данных в среде Windows / А. П. Кулаичев. – изд. 2-е, испр. и доп. – М. : ИнКо, 1998.
4. Лукьянов, Б.В. Компьютер – в помощь ветврачу / Б. В. Лукьянов, П. Б. Лукьянов // «Практик», 2002. – №2.
5. Тюренкова, Е. Н. Информационно-аналитическая система «СЕЛЭКС – Молочный скот» / Е. Н. Тюренкова, М. Т. Мороз и др. // Технология внедрения и обработки информации. - СПб, 2013. – 228с.
6. Тюренкова, Е. Н. Освоение технологии ввода информации в программном комплексе «Кормовые рационы»: учебное пособие / Е. Н. Тюренкова. – СПб, 2009. – 24с.
7. Тюренкова, Е.Н. Оптимизация кормления с применением информационно-аналитической системы «Рационы»: методические рекомендации / Е. Н. Тюренкова, М. Т. Мороз, О. Р. Васильева. – СПб, 2013. – 152с.
8. Шарипов, И. К. Информационные технологии в АПК: учебное пособие / И. К. Шарипов [и др.]; Ставропольский аграрный университет. - Ставрополь, 2014. – 107 с.

Оглавление

Предисловие	3
Тема 1. Работа в программе STADIA. Параметрические критерии	4
Тема 2. Непараметрические критерии в программе STADIA	7
Тема 3. Анализ факторных эффектов (дисперсионный анализ)	10
Тема 4. Общие принципы работы в программе Селэкс «Кормовые рационы»	14
Тема 5. Общие возможности программы Селекс «Молочный скот»	20
Тема 6. Компьютерные программы «КОРАЛЛ-Диагностика болезней»	26
Методические материалы и оценочные средства для проведения промежуточной аттестации	28
Рекомендуемая литература	32

Учебное издание

*Канаева Елена Сергеевна
Земскова Наталья Евгеньевна*

КОМПЬЮТЕРНЫЕ ПРОГРАММЫ В ЗООТЕХНИИ
Методические указания

Отпечатано с готового оригинал-макета
Подписано в печать 11.01.2024. Формат 60×84/16
Усл. печ. л. 1,91; печ. л. 2,06. Тираж 20. Заказ № 1.

Издательско-библиотечный центр Самарского ГАУ
446442, Самарская область, п.г.т. Усть-Кинельский, ул. Учебная, 2
Тел.: 8 939 754 04 86, доб. 608. E-mail: ssaariz@mail.ru