



ISSN 0002-3221

АТАЙЫН ЧЫГАРЫЛЫШ

СПЕЦИАЛЬНЫЙ ВЫПУСК

SPECIAL ISSUE

КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНЫН УЛУТТУК  
ИЛИМДЕР АКАДЕМИЯСЫНЫН

**КАБАРЛАРЫ**

**ИЗВЕСТИЯ**

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

**PROCEEDINGS**

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES  
OF KYRGYZ REPUBLIC

**2017**

**№3**

ISSN 0002-3221



АТАЙЫН ЧЫГАРЫЛЫШ

СПЕЦИАЛЬНЫЙ ВЫПУСК

SPECIAL ISSUE

КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНЫН  
УЛУТТУК ИЛИМДЕР АКАДЕМИЯСЫНЫН

**КАБАРЛАРЫ**

**ИЗВЕСТИЯ**

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

**PROCEEDINGS**

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF  
KYRGYZ REPUBLIC

БИШКЕК



2017

*ilim.izdatelstvo@gmail.com*

**ИЗВЕСТИЯ  
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК  
КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ**

Журнал основан в 1966 г.

Выходит 4 раза в год.

ISSN 0002-3221

**Редакционно-издательская коллегия:**

*академик М. С. Джуматаев (главный редактор);  
академик А. А. Борубаев (зам. главного редактора);  
академик А. А. Акматалиев (зам. главного редактора);  
академик Б. А. Токторалиев (зам. главного редактора);  
член-корреспондент А. Т. Жунушов (зам. главного редактора);  
член-корреспондент Ч. И. Арабаев (отв. секретарь);*

*академик И. Т. Айтматов;  
академик Дж. А. Акималиев;  
академик Ш. Ж. Жоробекова;  
академик К. М. Жумалиев;  
академик А. Ч. Какеев;  
академик Т. К. Койчуев;  
академик М. М. Мамытов;  
академик Д. М. Маматканов;  
академик Ж. Ш. Шаршеналиев;  
академик А. Э. Эркебаев;*

*Н. Ж. Мазекова (директор информационно-издательского центра «Илим»)*

**СОДЕРЖАНИЕ**

**МАЗМУНУ**

**CONTENTS**

**ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

**ЖУНУШОВ А. Т.** Состояние и перспектива генетических исследований животных, растений и микроорганизмов в Кыргызстане.....6

Кыргыз Республикасында жаныбарлар, өсүмдүктөр дүйнөсүн жана микроорганизмдерди генетикалык илимий изилдөөлөрдүн абалы жана келечеги

Status and promises of genetic researches of animals, plants and microorganisms in the kyrgyz republic

**ЖУНУШОВ А.Т., БЫКОВЧЕНКО Ю. Г., УРАКУНОВА К., БЕРДИБАЕВА А. Б.** Сохранение генетических ресурсов животных должно быть национальным приоритетом в решении проблемы продовольственной безопасности Кыргызстана.....10

Кыргызстанда азык-түлүк коопсуздук проблемасын чечүүдө улуттун эң маанилүү мүмкүнчүлүгү болгон жаныбарлардын генетикалык байлыгын сактоо

Preservation of genetic resources of animals should be the national priority to solve food safety problems in Kyrgyzstan

**УМРАЛИНА А. Р.** Банк генетических ресурсов растений Кыргызстана.....15

Кыргызстан өсүмдүктөрүнүн генетикалык ресурстар банкы

Bank of the Kyrgyzstan's plant genetic resources

**БИОТЕХНОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ**

**BLACKBURN J. K., MATAKARIMOV S., KOZHOKEEVA S., TAGAEVA ZH., BELL L.K., KRACALIK I.T., ZHUNUSHOV A.** Modeling the ecological niche of Bacillus Anthracis and mapping livestock anthrax clusters in Kyrgyzstan .....20

Моделирование экологической ниши Bacillus Anthracis и картографирование кластеров сибирской язвы у животных в Кыргызстане

Кыргызстанда малдын күйдүргү ылаңын кластердик картографиялоо жана Bacillus Anthracis экологиялык ордун моделдөө

**СУЛТАНАЛИЕВ Н.К., КАРЫБЕК УУЛУ САМАТ** Разработка технологии изготовления тканевой инактивированной гидроокисьюалюминиевой вакцины против ВГБК из местного штамма «КБ-биотех».....36

Коёндун шүүшүндүү ылаңына каршы ткандык инактивацияланган гидроокисьюалюминийлүү вакцинасын жергиликтүү «КБ-биотех» штаммынан даярдоо технологиясын изилдөө

Development of technologies of manufacturing tissue inactivated hydroxide aluminum vaccine against viral hemorrhagic disease for rabbits from local strain "KB-biotech"

**КОЖОКЕЕВА С.А. ТАГАЕВА ДЖ.С.** Молекулярно-генетические свойства геномов изолятов и штаммов сибирской язвы полученных на территории Кыргызской Республики.....41

Кыргыз Республикасынын аймагына бөлүнүп алынган күйдүргүнүн изоляттарынын жана штаммдарынын геномунун молекулярдык-генетикалык касиеттери

Molecular and genetic features of anthrax isolate genomes and strains obtained on the territory of the Kyrgyz republic

**КАРЫБЕК УУЛУ САМАТ** Патоморфологическая диагностика вирусной геморрагической болезни кроликов в Кыргызстане.....54

Кыргызстандагы коендордун вирустук геморрагиялык даргынын патоморфологиялык диагностикасы

Pathomorphological diagnosis of viral hemorrhagic disease for rabbits

**ЖУГУНИСОВ К.Д., ЖУНУШОВ А.Т.** Совершенствование режима инактивации вируса блутанга бета-пропиолактоном .....57

Блутанг вирусунун бета-пропиолактон менен инактивтендирүү режимин жакшыртуу  
Improving the beta-propiolactone inactivation mode of the bluetongue virus

**ГАЛИЕВ Р.С., ТЕМИРОВА ДЖ. Н.** Заболевание лошадей ботулизмом и меры борьбы .....64

Жылкылардын ботулизм ылаңы жана ага каршы күрөшүү  
Illness of horses by botulism and prevention control

## ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

**УМРАЛИНА А. Р., Чернышева Т.П.** Методы сохранения эндемиков и редких видов растений в Кыргызской Республике .....67

Кыргызстанда эндемиктерди жана сейрек кездешүүчү өсүмдүктөрдү сактап калуу ыкмасы  
Methods of conservation of endemic and rare plant species in KR

**РЫЖОВА А.А., КОНУРБАЕВА Р.У., БАБЧЕНКО И.В., ХЕГАЙ С.В., УМРАЛИНА А.Р.** Оценка антиоксидантной активности растений астрагала и конеечника из коллекции семенного банка Института биотехнологии НАН КР .....73

УИА Биотехнология институтунун уруктар банкынын коллекциясындагы астрагал жана тыйынчанак өсүмдүктөрүнүн антиоксиданттык активдүүлүгүнө баа берүү

Assessment of the antioxidant activity of Astragalus and Hedysarum plants from the Seed Bank collection of the Biotechnology Institute of NAS KR

**АСАНАКУНОВ Б.А., ЧЕРНЫШЕВА Т.П.** Исследование содержания флавоноидов в корнях нативных растений рода Scutellaria Кыргызстана методами высокоэффективной жидкостной хроматографии .....79

Кыргызстанда кездешүүчү Scutellaria түрүнүн флавоноиддерди тамырларында кармап туруусун жогорку эффективдүү суюк хроматография ыкмасы менен изилдөө

Study of flavonoid content in roots of Scutellaria genus native plants of Kyrgyzstan with the High-Performance Liquid Chromatography methods

## ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

**ИСАКУНОВ А.М., ГЛАДЫРЬ Е.А., ЛУЩИХИНА Е.М.** Первые результаты генетических исследований в животноводстве республики и технологическая инновация .....85

Республикадагы мал чарбачылыгынын генетикалык изилдөөлөрүнүн биринчи жыйынтыгы жана технологиялык инновациялар

The first result of genetic investigations in Kyrgyz Republic animal production and technology innovation

**БЫКОВЧЕНКО Ю.Г., УРАКУНОВА К.У., ОСОЕВА А.** Действие породного фактора на вариацию гематологических ингредиентов крови у крупного рогатого скота .....90

Ири мүйүздүү малдын канынын гематологиялык курамынын өзгөрүшүнө тукум факторунун таасири

The effect of natural factor on the variation of hematological ingredients of blood for cattle

**ЖУМАКАНОВ К.Т., ЧЕШЕВ М., МАМБЕТОВА Э., ЖУНУШОВ А.Т., АБДУРАСУЛОВ А.Х.** Биотехнологические методы воспроизводства в селекционно-племенной работе животноводства Кыргызстана .....102

Кыргызстандын мал чарбасынын селекциялык-асыл тукум иштеринде өз толунун эсебинен көбөйтүүнүн биотехнологиялык ыкмалары

Biotechnological methods reproduction in the selection-breeded work of animals of kyrgyzstan

**ТОКТОСУНОВ Б.И., АБДУРАСУЛОВ А.Х., ЖУНУШОВ А.Т.** Экстерьерные особенности и молочная продуктивность кыргызской (аборигенной) лошади .....106

Кыргыз (абориген) жылкыларынын экстерьердик өзгөчөлүктөрү жана сүт азыктуулугу  
Exterior features and milk productivity of the Kyrgyz (aborigene) horses

**СЕЛИОНОВА М.И., ЛУЩИХИНА Е.М., ДЕНИСКОВАТ.Е., ИСАКУНОВ А.М., ДАВЛЕТБАКОВ А.Д.** Полиморфизм микросателлитных локусов днк овец разных пород, разводимых в Кыргызстане .....111

## ИННОВАЦИОННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

**ZHUNUSHOV A.T.** Yak breeding progress in Kyrgyzstan. ....118

Развитие яководства в Кыргызстане  
Кыргызстанда топоз өстүрүүнүн маселелери

**БЕРДИБАЕВА А.Б., ЖУНУШОВ А.Т.** Инновационные разработки по развитию и переработке экологически чистой продукции яководства в горных регионах .....123

Тоолуу жерлерде топоз чарбасынан алынуучу экологиялык таза азыктарды кайра иштетүү жана инновациялык өнүгүүсүн иштеп чыгуу

Innovative developments on the progress and processing of ecologically pure yak breeding production in mountain areas

**ЛУЩИХИНА Е.М., СУЮНТБЕКОВ М.Т., РАИМЖАНОВ Б., АКЖОЛТОВ Ж.** Опыт инновационной деятельности в производстве, переработке и сбыте шерсти .....129

Жүндү өндүрүү, кайра иштетүү жана сатуудагы инновациялык иш жүргүзүүнүн тажрыйбасы.  
First gene mapping studies and innovation in production, processing and market of wool

**МАМАТКУЛОВ К.А., ЖУНУШОВ А.Т.** Ветеринарный статуарный орган - автономный институт по регуляции ветеринарной практики .....135

Ветеринардык статуардык орган - ветеринардык практиканы жөнгө салуучу автономдук институт  
Veterinary stature authority - autonomous institute for regulation of veterinary practice

## ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

УДК 57.052:577(572.2) (04)

### СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ЖИВОТНЫХ, РАСТЕНИЙ И МИКРООРГАНИЗМОВ В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

*А.Т. Жунушов - член-корреспондент НАН КР, доктор ветеринарных наук, профессор, директор Института биотехнологии НАН КР*

В настоящей работе рассматривается состояние и перспективы генетических исследований животных, растений и микроорганизмов в Кыргызской Республике, а так же актуальность создания банка генетических ресурсов, выхода на международный рынок и использование полученных доходов для целей сохранения национального биоразнообразия.

*Ключевые слова:* генбанк, ДНК, Ногайский протокол, Кью, ФАО, биологический агент (БА).

### КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНДА ЖАНЫБАРЛАР, ӨСҮМДҮКТӨР ДҮЙНӨСҮН ЖАНА МИКРООРГАНИЗМДЕРДИ ГЕНЕТИКАЛЫК ИЛИМИЙ ИЗИЛДӨӨЛӨРДҮН АБАЛЫ ЖАНА КЕЛЕЧЕГИ

Бул илимий эмгекте Кыргыз Республикасында жаныбарлар жана өсүмдүктөр дүйнөсүндө, ошондой эле микроорганизмдерди генетикалык илимий изилдөөлөрдүн абалы жана келечектеги кадамдары жөнүндө маалымат берилген. Жаныбарлардын, өсүмдүктөрдүн жана микроорганизмдердин генбанкын түзүү маселеси каралган.

*Негизги сөздөр:* генбанк, ДНК, Ногайо протоколу, Кью, ФАО, биологиялык агент (БА).

### STATUS AND PROMISES OF GENETIC RESEARCHES OF ANIMALS, PLANTS AND MICROORGANISMS IN THE KYRGYZ REPUBLIC

The given article describes the status and promises of genetic researches of animals, plants and microorganisms in the Kyrgyz Republic. It also shows the urgency of creating bank of genetic resources, entering the international market and using the obtained income for preservation of the national biodiversity.

*Key words:* gene bank, DNA, Nogai Protocol, KEW, FAO, biological agent (BA)

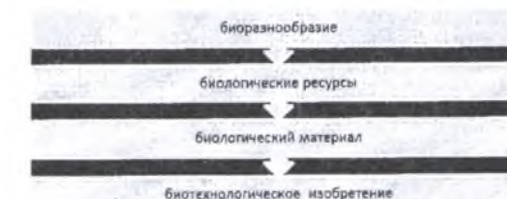
Сохранению биологического разнообразия сейчас во всем мире уделяется особенное внимание. Генетические ресурсы растений и животных используемые для продовольствия и сельского хозяйства, представляют необходимый компонент биологической основы для продовольственной безопасности в мире. Огромное число сельских жителей выращивают продукты для питания и корма для животных, зачастую являющихся основным источником получения разного вида продукции. В суровых природных условиях растениеводство и особенно животноводство часто являются основным, а иногда и единственным источником существования.

В области флоры банки генетических ресурсов создаются с целью проведения последовательных и целенаправленных исследований по сбору, защите и эффективному использованию генетических ресурсов биоразнообразия. Следует отметить, что Кыргызская Республика в 2015 году присоединилась к Ногайскому Протоколу [1], который существенно отличался от предыдущих программных документов по сохранению биоразнообразия конкретными поставленными задачами, связанными с получением выгоды от использования генетических ресурсов.

В подготовке механизмов изучения и использования потенциала генетических ресурсов основную роль должны играть представители академической, фундаментальной и прикладной науки, которые имеют опыт решения отдельных проблем доступа к генетическим ресурсам флоры, фауны и использованию выгод.

В этом направлении Кыргызская Республика делает только первые шаги в лице Института биотехнологии НАН КР в отношении выхода на международный рынок генетических ресурсов и использования полученных от этого доходов для целей сохранения национального биоразнообразия.

Ниже представлена схема генетических исследований флоры и фауны Кыргызской Республики



Институт биотехнологии НАН КР (ИБ) является первым создателем и держателем банка гермоплазмы растений в Кыргызской Республике. Банк был создан в 2005 году при финансовой поддержке Международного фонда (грант ученых ИБ) и консультативной и технической помощи Королевского Ботанического Сада Великобритании (Кью).

В настоящее время в развивающихся странах продукция животноводства составляет порядка 30% внутреннего валового продукта и по прогнозам эта доля к 2030 году может возрасти приблизительно до 40%. По оценкам Мирового Банка в период с 2000 по 2030 годы необходимо увеличить производство мяса почти на 80%. Для этого необходимы более эффективные системы производства животноводческой продукции, аккуратное использование естественных ресурсов для ведения сельского хозяйства. Основные отрицательные результаты от обеднения генетических ресурсов могут значительно снизить селекционный эффект и способствовать распространению болезней, вызываемых постоянно эволюционирующими возбудителями.

На территории Кыргызской Республики многие породы отечественных сельскохозяйственных животных уменьшились в количественных и ухудшились в качественных отношениях. Некоторым из них грозит полное исчезновение или деградация. Особую тревогу вызывают местная грубошерстная овца, аборигенная порода коров и местных лошадей. Плохо дело обстоит и с каталогизацией скота во всех типах хозяйств, нет расчета нагрузки на имеющиеся пастбища, по кормовой базе.

При использовании пород и получении от них продуктивности необходимо не только сберечь весь имеющийся генофонд пород, но и поддержать численность популяции каждой породы с сохранением благоприятной экологии.

В настоящее время мировая наука занята разработкой состава генофондов всех пород, поскольку до сих пор в полной мере не извест-

но, какими именно генами или их сочетаниями определяются хозяйственно важные свойства породы и, тем более, что важно с точки зрения потребителя при появлении новых селекционных сдвигов [2].

В генетике известно, что общая численность популяции бывает достаточной при соблюдении сохранения эффективной численности, то есть тех экземпляров, которые передают генофонд следующему поколению. Сама эффективная численность зависит от соотношения полов в популяции. Все эти показатели при ограниченной численности по расчетам ведут к потере генетического разнообразия, в частности к потере аллелей, постепенного исчезновения многих свойств (например, плодовитости), что ведет к порогу вымирания.

Было рассчитано, что в практике при разделении популяции на несколько субпопуляций увеличивается генетическое разнообразие, то есть сохраняется уверенность в сохранении всех особенностей. В зависимости от численности представителей различают пять состояний популяции: нормальный, уязвимый, ненадежный, вызывающий опасение и критический статус. Наиболее опасны два последних состояния, к сожалению, часто присутствующие в кыргызских хозяйствах.

Каталогизация животных различных пород представляется необходимым этапом в развитии животноводства в Кыргызской Республике. Кроме этого, нужно не только сохранить исчезающие виды, как местную аборигенную овцу, с чрезвычайной активностью в настоящее время «передыкающую» под более совершенные породы, но и заниматься криоконсервацией гамет и зародышей животных и сохранением ДНК и ДНК содержащих соматических тканей. То есть, в условиях криобанка сохранять саму возможность воспроизведения утраченных пород и их достоинств и изучать особенности генотипов животных для использования в практике.

По решению созданной комиссии по ЕАЭС при вхождении в единое таможенное пространство осуществлена разработка единых требований при селекционно-племенной работе в стадах сельскохозяйственных животных для однотипной информации. Обсужден и подан к утверждению весь порядок оценочных работ, норм при создании новых пород и породных

типов, линий животных, требований к изучению и генетической паспортизации животных. Соответственно, выделены особые требования при возможности завоза из третьих стран новых пород животных для обнаружения генов или их комплексов, ответственных не только за наличие вредных воздействий, но и за предрасположенность к возникновению наиболее опасных заболеваний.

Успехи в развитии генетических исследований основаны на наличии информативных генетических маркеров. Первоначально в качестве генетических маркеров использовались морфологические (фенотипические) признаки, но их число невелико и часто зависит от условий внешней среды, и от наследования. Развитие молекулярных методов исследования позволило создать новые тест - системы, позволившие анализировать генетическую структуру на уровне продуктов генов (белковый или биохимический полиморфизм) и на уровне генетического материала клетки (полиморфизм ДНК). В настоящее время начались работы по разработке генетических структур, позволяющих точно идентифицировать наличие в каждом разводимом растении или животном всех возможностей и недостатков для генетического прогресса. Более перспективным оказался метод использования в качестве маркерных систем нуклеотидных последовательностей ДНК, позволяющих тестировать полиморфность на уровне самих генов, что дало много возможностей исследователям. При отсутствии ограничений в количестве маркеров на образец и определенного методического удобства, ДНК-маркеры позволяют анализировать любые участки ДНК в любых последовательностях генома.

Применение вариантов полиморфизма ДНК после внедрения ПДРФ метода (полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) нашел ДНК - фингерпринтинг, с помощью которого в геноме млекопитающих можно выявить более 30 высокоморфных локусов. Этого достаточно для изучения генетического разнообразия и идентификация человека, растений и животных. Метод позволяет надежно регистрировать расстояния между породами, определять уровень гетерозиготности, коэффициенты сходства и различий, но трудоемкость процедуры, применение радиоактивных изотопов, необ-

ходимость использовать большое количество ДНК высокого класса не способствует его широкому внедрению. [2]

Широкое употребление нашел метод использования новых типов ДНК - маркеров - метод амплификации определенных участков ДНК в процессе повторяющихся температурных циклов полимеразной реакции (ПЦР). Благодаря использованию ДНК-маркеров 1 типа (маркеров продуктивности), кодирующих участки ДНК, отличающиеся низким уровнем полиморфизма и высокой эволюционной консервативностью, возможен отбор животных, обладающих высоким генетическим потенциалом продуктивности. Применение маркеров 11 типа (маркеров продуктивности), обладающих высоким уровнем полиморфизма и отсутствием межвидового консерватизма при неизвестной генной функции, возможна идентификация животных, оптимизация структуры стад и оценка уровня гомозиготности. Отдельно - маркеры наследственных заболеваний, нахождение которых позволяют выявлять и отбирать животных без этих заболеваний [3].

Среди огромного мира микроорганизмов примерно 3,5 тысяч являются патогенными или условно патогенными для живых организмов.

Подсчитано, что патогены вызывают более 200 заразных (инфекционных) болезней сельскохозяйственных животных. Около двух третей из них поражают одновременно и человека. По данным ФАО, ежегодные прямые и косвенные экономические потери от инфекционных болезней животных и растений составляют сотни миллиардов долларов США.

Политиков, фермеров, сельское население, ученых, изучающих животных и растения, должен беспокоить вопрос, какие биологи-

ческие агенты (БА) из природных патогенов представляет собой повышенную опасность, в том числе в случае чрезвычайных ситуаций природного и техногенного происхождения, и особенно в случае их использования в террористических актах.

Перечислить поименно все опасные патогены и полезные микроорганизмы животных и растений нецелесообразно и невозможно.

В связи с этим, изучение на генетическом уровне микроорганизмов на территории Кыргызской Республики является актуальной проблемой и они должны сохраняться в банке генетических ресурсов страны.

Актуальность таких исследований и первые разработки сотрудников Института биотехнологии НАН Кыргызской Республики неоспоримо внушают уверенность на успешное применение новых методов исследования в человеческой деятельности, даст возможность осознанно подходить к делу увеличения производства продуктов и охраны здоровья населения.

#### Литература

1. Нагойский протокол регулирования доступа к генетическим ресурсам и совместного использования на справедливой и равной основе выгод от их применения.
2. Эрст Л.К., Зиновьева Н.А. Биологические проблемы животноводства в XXI веке. // - М., - РАСХН, 2008. - 508 с.
3. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Эрст Л.К., Брем Г. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных. // ВИЖ, 2002. - 128 с.

УДК: 636.082.12

### Сохранение генетических ресурсов животных должно быть национальным приоритетом в решении проблемы продовольственной безопасности Кыргызстана

*А.Т. Жунушов - член-корреспондент НАН КР, доктор ветеринарных наук, профессор, директор Института биотехнологии НАН КР*

*Ю.Г. Быковченко - доктор биологических наук, профессор*

*К. Уракунова - кандидат биологических наук*

*А.Б. Бердибаева - кандидат сельскохозяйственных наук*

В статье обсуждаются проблемы сохранения генетических ресурсов сельскохозяйственных животных, созданных в Кыргызской Республике. Показаны причины деградации пород и снижения их продуктивных качеств.

*Ключевые слова:* генетические ресурсы, породы животных, сохранение, деградация, селекция, продуктивность.

### Кыргызстанда азык-түлүк коопсуздук проблемасын чечүүдө улуттун эң маанилүү мүмкүнчүлүгү болгон жаныбарлардын генетикалык байлыгын сактоо

Илимий макалада Кыргыз Республикасында түзүлгөн айыл-чарба жаныбарлардын генетикалык байлыгын сактоо проблемалары талкууланды. Тукумдун начарлашынын себептери жана алардын өнүмдүү сапатынын төмөндөшү көрсөтүлдү.

*Негизги сөздөр:* генетикалык байлык, жаныбарлардын тукуму, сактоо, начарлоо, селекция, өнүмдүү.

### Preservation of genetic resources of animals should be the national priority to solve food safety problems in Kyrgyzstan

The article describes the problems of preservation of genetic resources of farm animals created in the Kyrgyz Republic. The reasons of species degradation and reduction of their productive characters are shown.

*Key words:* genetic resources, animal species, preservation, degradation, selection, productivity.

Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных (ГРЖ), созданные самой природой в процессе эволюции и трудом человека, сегодня являются основным источником продовольственной безопасности на планете, развития сельскохозяйственных территорий, культурной жизни и природопользования. Между тем, статусы риска исчезновения и деградации ГРЖ в последнее время приняли катастрофический характер не только в отдельных государствах, но и в мировом масштабе. В этой связи, как известно, в 1990 году Совет ФАО выступил с инициативой разработать программу по устойчивому управлению ГРЖ на глобальном уровне (1). Такая программа было обсуждена и принята на Международной технической конференции по вопросам ГРЖ для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства в Швейцарии в сентябре 2007 года (2). В 2015 году ФАО подготовил второй доклад в ООН «О состоянии мировых генетических ресурсов животных для производства продовольствия и ведения сельского хозяйства». В нем констатируется, что изменения, произошедшие в секторе животноводства в последние десятилетия, вызвали весьма негативные последствия в области ГРЖ и управления ими. Так, с 2005 по 2014 годы доля пород животных, находящихся под угрозой исчезновения, увеличилась с 15 до 17%, а 99 пород получили статус исчезнувших. Указывается не менее 12 факторов, влияющих на сохранение и управление ГРЖ, среди которых политические, технологические, эпидемиологические, кормовые, экспорт и импорт продукции животноводства и другие, усиленное влияние которых с каждым годом будут нарастать. Между тем по прогнозам к 2050 году потребности развивающихся стран в молочных продуктах возрастут на 46%, а в мясных – на 76%, что вызывает необходимость проявлять повседневную заботу о сохранении и улучшении национальных ГРЖ.

Между тем, проблема генетических ресурсов в Кыргызстане, как в типичном горном регионе, была поставлена еще в начале 30-х годов прошлого столетия, когда в республике разводился малопродуктивный местный кыргызский скот, грубошерстные овцы и лошади. Все животноводство было кочевым, хотя и приспособленным к местным экологическим условиям. Для обеспечения местного населения в продуктах питания была выдвинута

задача - на базе существующих местных генетических ресурсов, создать новые высокопродуктивные породы скота и птицы. В этой сложной и долгодетней работе приняли участия многие ученые Национальной академии наук КР и Кыргызского НИИ животноводства, а так же селекционеры и животноводы республики. Работа проводилась строго по специальным селекционным планам и программам с привлечением существующих в разных странах лучших заводских пород. В итоге в республике в 1950-году была создана алатауская молочно - мясная порода крупного рогатого скота; в 1954 году - новокыргызская порода лошадей; в 1956-году кыргызская тонкорунная порода овец; в 1966 году - Тяньшанская полутонкорунная мясо-шерстная порода овец; в 1974 году - молочная аулизатинская порода крупного рогатого скота; в 1981 году - алайская полугрубошерстная мясо-сальная порода овец; в 1995 году - кыргызская мясо-яичная порода кур; в 1996 году - кыргызская шерстная и пуховая порода коз и Иссык-кульский тип мериносовых овец, а так же молочный тип алатауской породы крупного рогатого скота; в 2000 году - чуйский зональный молочный тип черно-перстного скота; в 2005 году - кыргызский молочный тип коз, айкольская мясо-сальная порода овец, айкольская порода яков, а также кыргызский горный меринос. Правительство Кыргызской Республики и Союзные структуры поощряли эти работы и за создание отдельных пород авторы и многие селекционеры были удостоены Государственных премий Кыргызской Республики и СССР. Наличие собственных заводских пород скота и птицы в значительной степени приблизили республику к решению проблемы обеспечения населения в продуктах питания и сырьем для промышленности. Каждая порода заняла свою экологическую нишу. К примеру, алатауская порода скота, кыргызская тонкорунная порода овец, новокыргызская порода лошадей и кыргызская порода кур разводились повсеместно. Тяньшанская порода овец – в Нарынской области, алайская порода овец - в Алайском районе и Баткенской области, шерстные и пуховые козы - в Ошской области, а яки – в верхнем ярусе Тяньшанских гор, Иссык-Кульских сыртах и Памиро-Алае.

К концу XX столетия в Кыргызстане насчитывалось свыше 1 миллиона голов круп-

ного рогатого скота, 10 миллионов овец и 900 тыс. коз, 365 тысяч лошадей, 120 тысяч свиней, 15 миллионов голов птицы и 80 тысяч яков. Совершенствование созданных учеными и селекционерами ГРЖ осуществлялось согласно специальных программ и планов селекционно-племенной работы. Для сохранения и воспроизводства ГРЖ в республике была создана целая сеть Государственных племенных заводов и конезаводов, племенных совхозов и ферм. Функционировала Государственная станция по племенной работе и искусственному осеменению с-х животных с 14 региональными филиалами, где были сосредоточены 140 элитных высокопродуктивных быков и около 600 баранов производителей. Для производства молока, мяса, яиц и шерсти были построены сотни крупных промышленных ферм и комплексов с передовой технологией. Таким образом, в тот период Кыргызская Республика находилась в числе передовых государств бывшего Союза по развитию животноводства. В особенности это касалось племенного сектора, как источника улучшения собственных товарных стад колхозов и совхозов. Кроме того, племенные животные в тот период, экспортировались из Кыргызстана в Казахстан, Монголию, Корею, Афганистан и республики Закавказья.

После распада СССР и приобретения суверенитета, в Кыргызстане произошли существенные политические, социальные и экономические преобразования. Государственные сельскохозяйственные предприятия перешли в частную собственность, и вместо 350 колхозов и совхозов образовались около 200 тысяч мелких фермерских и крестьянских хозяйств. Были ликвидированы госплемзаводы и племенные совхозы по разведению всех видов сельскохозяйственных животных, госплемстанции по племенной работе и искусственному осеменению, крупные промышленные комплексы по производству молока, мяса, яиц и шерсти. Ранее созданные и отлаженные системы селекционно-племенной и ветеринарно-профилактической работы были разрушены. За короткий срок численность овец в республике снизилась на 6,5 миллионов голов, или на 70%, коз – на 800 тысяч (89%), яков – на 60 тысяч (77%), птицы – в 5 раз (67%), почти полностью исчезло поголовье свиней. Большинство новых руководителей и специалистов, фермерских и крестьянских хозяйств не

владели в достаточной степени передовыми знаниями ведения животноводства, что отрицательно отразилось на продуктивных, воспроизводительных и биологических свойствах разводимых пород скота. К примеру, средний надой молока коров снизился с 3200 кг в 1989 г. до 1756 кг – в 1994 г., или в 1,7 раза, резко упал выход телят, жеребят, ячат и ягнят. Фермеры стали использовать в своих стадах различные не санкционированные импортные породы без учета их приспособленности к горным условиям и это стало вести к эрозии генетического материала созданных ГРЖ. Учитывая создавшуюся ситуацию, ученые института биотехнологии НАН КР и Кыргызского НИИ животноводства и пастбищ неоднократно обращались в правительственные органы республики о восстановлении племенных хозяйств и племстанций для сохранения и реабилитации национальных ГРЖ. Между тем эти вопросы решались недостаточно, и деградация созданных пород продолжалась (3,4). Между тем в республике были приняты определенные меры к восстановлению утерянного поголовья животных. Так, начала восстанавливаться численность овец, яков, птицы и свиней, а в скотоводстве – превысила доперестроичный уровень. Целый ряд частных фермерских хозяйств были аттестованы как племенные по разведению пород крупного и мелкого рогатого скота, а так же лошадей. Начали функционировать птицефабрики.

В 2010 году институт биотехнологии НАН КР приступил к разработке научной программы по созданию основ банка генетических ресурсов животных, растений и микроорганизмов и направил в правительство документы необходимые для реализации этой программы. Соответствующие лаборатории института, на первых этапах реализации программы, начали инвентаризацию племенных ГРЖ и их биоаттестацию с целью установить функциональное состояние племенных ресурсов за истекшие 25 лет после приватизации племенного сектора. Биоаттестация и создание банков ГРЖ, как известно, была рекомендована в «Глобальном плане действий в области генетических ресурсов животных» Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций (ФАО) в 2007 году. Такая работа стала проводиться во многих заинтересованных странах мира, в том числе и в Кыргызстане.

Стало очевидным, что для сохранения ГРЖ их качественного разнообразия и рациональной структуры необходимо, прежде всего, комплексное исследование фенотипических, биохимических и молекулярных показателей сельскохозяйственных животных. Эти данные позволяют выявлять на ранних этапах ценный потенциал ГРЖ, сосредотачиваемых в банках в виде натуральных племенных животных (самцов и самок в племенных хозяйствах) и в наследственных клетках мужских и женских гамет, зигот и эмбрионов для их дальнейшего воспроизведения и создания на этой основе новых высокопродуктивных пород. Одновременно биоаттестация дает возможность установить наличие в породах животных с различными физиологическими пороками, причинами которых стали как элементарные (кормления, содержания, болезни), так и генетические факторы и не допускать их к дальнейшему воспроизведению.

В течение последних лет у различных пород крупного рогатого скота, лошадей, овец и коз, разводимых в республике, исследовали компоненты тонких структур организма, участвующих в дыхательной и кровяной функциях, белковом, минеральном, углеводном, липидном и других обменных процессах. Эти исследования показали, что в племенных и товарных фермерских хозяйствах сейчас встречается от 10 до 30% животных с различными физиологическими нарушениями (анемия, лейкозы, воспалительные процессы и другие по диагностическим тестам крови), которые возникли в результате вышеупомянутых причин. Естественно, что такие животные не должны поступать в банки ГРЖ. Для каждой исследованной породы удалось установить оптимальные параметры гематологических и биохимических показателей, которые являются адекватными экологическим условиям горной республики. Именно на них следует ориентироваться при отборе животных в банки ГРЖ. С использованием математического дисперсионного анализа удалось доказать, что генетический фактор (порода) оказывает достоверное влияние на вариацию гематологических и биохимических показателей крови в нашем горном регионе. Так, у крупного рогатого скота на изменчивость гематологических показателей крови порода влияет от 12,3% (на лейкоциты) и до 43,0% (на гемоглобин); на измен-

чивость биохимических показателей – от 6,0% (на микроэлементы) до 30,0% (на холестерин), а на изменчивость активности ферментов крови – 59,8% (АЛТ) и 84,3% (АСТ). Следовательно, при использовании в скрещивании импортных пород надо иметь в виду, что новая порода будет вносить существенные изменения в физиологический статус улучшаемой породы и это должно соответствовать экологическим условиям региона, где разводятся национальные ГРЖ. Таким образом, стало очевидным, что проблему сохранения ГРЖ надо решать с оценки их физиологического гомеостаза и приспособленности к местным условиям среды, а затем отбирать нужных племенных животных для дальнейшего широкого воспроизведения и восстанавливать ликвидированные в республике банки ГРЖ. Необходимо так же отметить, что эффективность работы фермерских и крестьянских хозяйств по животноводству во многом сдерживает старая инфраструктура села. Ведь сегодня все жилые и хозяйственные постройки в селах расположены вдоль автомобильных магистралей, а сельскохозяйственные земельные угодья – на значительном расстоянии от них и это существенно затрудняет ведение животноводства. Для ведения фермерского хозяйства необходимо, чтобы фермер жил на своей земле и производил там свою животноводческую продукцию, а для этого надо подводить туда все коммуникации – свет, воду, дороги, канализацию и др., что сегодня не выполнимо из-за скудного бюджета. Между тем, выход существует. Как показывает мировой опыт, он состоит в кооперации, но ее реализация станет возможна, когда сами жители села поймут о ее необходимости.

Определенную озабоченность вызывает состояние генетических ресурсов в яководстве. Здесь в срочном порядке надо решить две задачи. Первая – обновить генофонд местной популяции яков и завести в республику неродственных производителей из ближнего и дальнего зарубежья, поскольку уже многие годы наблюдается родственное разведение, инбредная депрессия и снижение живой массы животных и плодовитости. Вторая – построить в местах разведения яков перерабатывающие предприятия, выпускающие не только мясную продукцию и деликатесы, но и медицинские препараты, галантерейные и другие изделия. Тогда яководство займет достойное место сре-



ди других отраслей животноводства. Таким образом, сохранить и улучшить генетические ресурсы в республике станет возможным, если эта проблема станет национальным приоритетом не только ученых и животноводов, но и государственных органов. Как указано во втором докладе ФАО о состоянии мировых ГРЖ, для управления ими и сохранения их необходимо более тщательно определять угрозы и их потенциальное влияние на ГРЖ с целью выработки действий по предотвращению этих угроз или минимизации рисков их воздействия; более широко реализовать потенциальные преимущества геномных технологий; усилить институциональные рамки управления ГРЖ; расширить и диверсифицировать селекционные стратегии и программы по сохранению и улучшению ГРЖ как в рамках *in situ*, так и по технологии *in vitro*; развивать международное сотрудничество в области управления и сохранения ГРЖ.

### Литература

1. Состояние всемирных генетических ресурсов животных в сфере продовольствия и сельского хозяйства. / Рим - Москва, 2010.- 512 с.
2. Глобальный план действий в области генетических ресурсов животных и Интерлакенская декларация./ Рим, 2008.-37 с.
3. *Быковченко Ю.Г.* Проблемы сохранения генофонда отечественных пород и пути их решения. [Текст] / Ю.Г.Быковченко, Ы.А.Абдурасулов, Г.Г.Максимчук / Научные основы развития животноводства в Кыргызской Республике.// Труды КиргНИИЖ, вып. 44.- Фрунзе.1993.- С.146-153.
4. *Абдурасулов А.Х.* Сохранение генофонда сельскохозяйственных животных – как часть государственной аграрной проблемы Кыргызстана. [Текст]/ А.Х.Абдурасулов, Ю.Г.Быковченко, А.Б.Бердыбаева, Е.П.Бондаренко, Т.К.Исаев /. Научные исследования в животноводстве Кыргызской Республики.// Тр. Кырг.НИИЖ, вып 46 - Бишкек, 1997, – С. 22-25.

УДК: 581.527.14(043.3)

## БАНК ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ РАСТЕНИЙ КЫРГЫЗСТАНА

Институт биотехнологии НАН КР

*А.Р. Умралина - доктор биологических наук*

В статье представлены данные по созданию и сохранению генетического банка растений с использованием методов биотехнологии. Показаны перспективы изучения полезных свойств растений и пути развития инновационных направлений в области получения лекарственных препаратов нового типа.

*Ключевые слова:* биологическое разнообразие, генбанк, коллекции культур клеток и тканей, инновационные технологии.

## КЫРГЫЗСТАНДЫН ӨСҮМДҮКТӨРҮНҮН ГЕНЕТИКАЛЫК РЕСУРСТАР БАНКЫ

Илимий макалада биотехнологиялык ыкмаларды колдонуу менен өсүмдүктөрдүн генетикалык банкты түзүү жана сактоо маалыматтары берилген. Өсүмдүктөрдүн келечектүү пайдалуу касиети жана инновациялык багыттагы өнүгүү жолдору, өсүмдүктөн алынуучу жаны типтеги дарылык каражаттар көрсөтүлгөн.

*Негизги сөздөр:* биологиялык ар түрдүүлүк, генбанк, культуралардын клеткасы жана ткандардын коллекциясы, инновациялык технологиялар.

## BANK OF THE KYRGYZSTAN'S PLANT GENETIC RESOURCES

Data on establishment and maintenance of the plant genetic bank with the biotechnology methods are given in the paper. Perspectives of the study of the plant valuable features and ways of innovative trends advancement in the area of new type medicine development are shown.

*Keywords:* biological diversity, genebank, collections of the cell and tissue cultures, innovative technologies.

Сохранение биоразнообразия – одно из приоритетных направлений государственной политики каждой страны и базируется на основе многочисленных международных и государственных документах. Решению этой задачи должно способствовать создание потенциала в каждой стране в целях развития их внутренних исследовательских возможностей для добавления стоимости своим собственным генетическим ресурсам. «Использование генетических ресурсов» означает проведение исследований и разработок генетического и/или биотехнологического состава генетических ресурсов, в том числе путем применения биотехнологии, как определено в статье 2 Конвенции о сохранении биоразнообразия [1]. В последнее время в ответ на изменение климата уделяется больше внимания сохранению *ex-situ*, методу, который гарантирует поддержание дикорастущей флоры в хорошо документированных живых коллекциях в условиях ботанических садов, в банках семян и культурах *in vitro*.

Институт биотехнологии НАН КР является первым создателем и держателем банка гермоплазмы растений в Кыргызстане. Банк был создан в 2005 году при финансовой поддержке международного фонда и консультационной и технической помощи Королевского Ботанического Сада Великобритании (Кью).

Основные направления состоят из следующих разделов:

- сбор растительного материала (гербария и семян);
- пополнение банка семян;
- интродукция, реинтродукция, размножение с использованием методов биотехнологии;
- инвентаризация культурных растений и их диких сородичей, ценных, редких, исчезающих и вымирающих пород, видов, аборигенных сортов и форм;



Рис. 1. Обработка и закладка семян в криобанк: очистка семян, просушивание в силикагеле, определение влажности, закладка на криохранилище.

- организация работ и определение научных проблем связанных с охраной дикорастущей флоры, в том числе эндемиков в условиях *ex situ* и *in situ*;

- паспортизация, а также проведение генетико-селекционных научных исследований, разработка биотехнологических методов сохранения и изучения для получения ценных лекарственных препаратов, а также устойчивых, высокопродуктивных, качественных образцов и вовлечение их в селекционную работу;

- внесение результатов в электронную базу данных [2].  
В настоящее время молекулярно-генетические маркеры широко применяются в филогенетических, популяционно-генетических исследованиях, для изучения и сохранения биологических (в том числе ботанических) коллекций, подтверждения генетической уникальности новых сортов, защиты авторских прав селекционеров и решения многих других задач [3]. Генетические банки и коллекции должны быть охарактеризованы, каждый вид должен иметь генетический паспорт. Любой хранитель (собственник) генетических ресурсов заинтересован обеспечить как охрану своих авторских прав на исходный материал, источники и доноры, так и официальное признание участия этого генетического материала в создании тех или иных сортов в своей стране и за рубежом.

Генетический банк растений представлен:

- семенным банком (рис. 1),
- банком ДНК,
- коллекциями *in vitro* клеточных и тканевых культур,
- коллекциями культур изолированных органов (трансформированных корней).

В настоящее время нами собраны и заложены на хранение семена примерно 30% видов от общего количества растений, произрастающих в Кыргызстане (табл.1).

Таблица 1.

Состояние банка семян ИБ на 2016 год

	Общее кол-во видов	Кол-во широко распространенных видов	Кол-во субэндемиков	Кол-во эндемиков	Кол-во видов включенных в Красную книгу	Кол-во видов входящих в список редких и исчезающих
Произрастает в КР	3870	1767	1669	356	78	375
Хранится в ИБ	1125	609	516	96	41	133

Основной приоритет в создании генетического банка Института биотехнологии - сохранение в условиях *ex situ* (рис. 2) эндемиков, редких и исчезающих видов растений

[4]. Помимо сохранения в семенном банке и в коллекциях клеточных и тканевых культур, нами отработана технология создания «искусственных семян» для хранения и реинтродукции эндемиков и редких видов.



Рис. 2. Методы сохранения эндемичных видов растений

В последнее время наблюдается существенное возрастание спроса на лекарственные препараты растительного происхождения и с этим связано другое научное направление исследований ИБ: поиск новых видов растений во флоре Кыргызстана - продуцентов биологически активных веществ. Актуальность данных работ заключается в том, что на научной основе позволяет подойти к решению важных практических задач в области фармакологии и

биотехнологии, к прогнозированию и расширению списка перспективных лекарственных растений.

Биотехнология растений является еще очень молодой наукой. Поэтому технологиям, которые на ней базируются, присущи и недостатки, среди которых можно отметить следующие. Биотехнологическое сырье пока в большинстве случаев дороже полученного на плантациях. Производство является довольно

сложным технологически. И, наконец, ощущается нехватка высокопродуктивных клеточных культур, пригодных для промышленного производства. Последнее обстоятельство легко объяснимо, если учесть, что фундаментальные проблемы регуляции вторичного метаболизма в растениях разработаны еще слабо.

У многих фармакологически перспективных растений основные действующие вещества содержатся в корнях. Бесконтрольная заготовка корней и корневищ ценных лекарственных растений в природе приводит к уничтожению их естественных популяций и приводит иногда к прекращению выпуска препаратов. Необходимы новые подходы к решению этой проблемы. Одним из них является развитие биотехнологии культуры клеток, тканей, изолированных органов растений, синтезирующих ценные биологически активные со-

единения. Такие тканевые культуры способны синтезировать весь спектр вторичных метаболитов, характерных для органов целого растения [5]. Эти свойства могут служить основой для коммерческого применения современных методов получения лекарственного сырья. К этому направлению проявляется в настоящее время большой интерес, создаются специальные биореакторы для культивирования корней, стандартизируются условия культивирования. Вовлечение в исследования флоры различных регионов земли, в том числе hot spot (горячих точек), каковым является Кыргызстан, позволит расширить возможности растительной фармакологии. На рис. 3 представлен процесс получения фармакологически ценного продукта на примере эндемика шлемника андрахновидного.

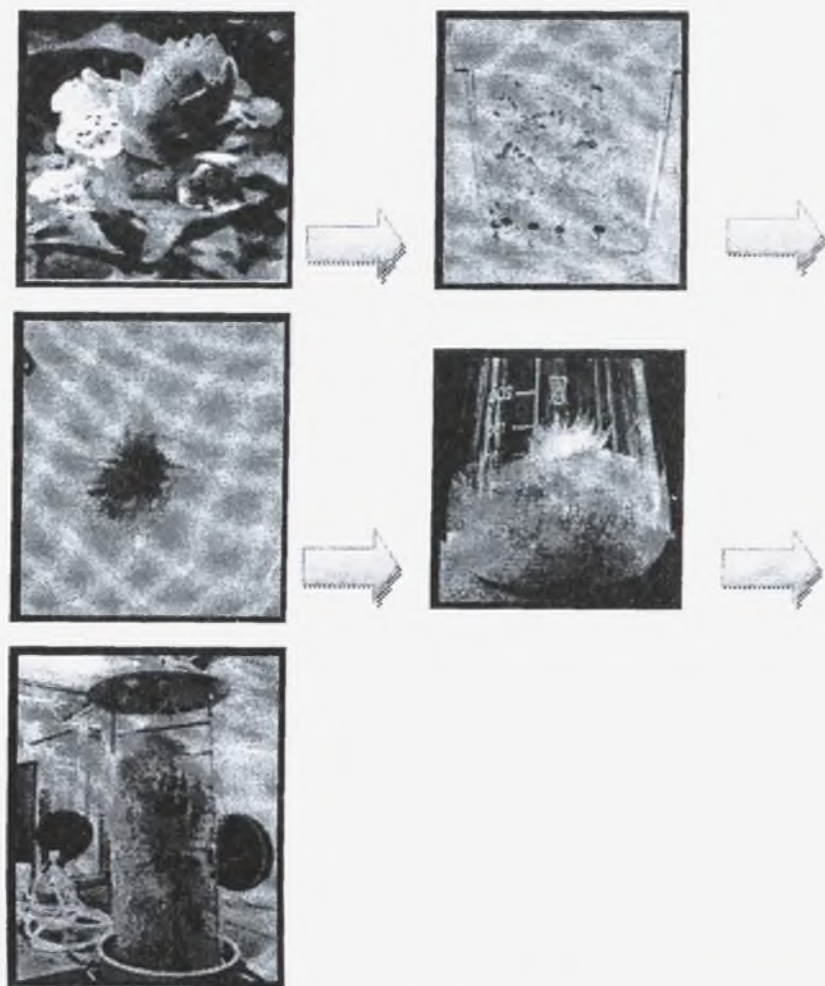


Рис. 3. Биотехнология лекарственных видов растений: введение в культуру *in vitro* (микрорепликация); получение изолированных и трансформированных корней; накопление биомассы корней в биореакторе.

Значимость данной разработки - новый биотехнологический способ получения флавонона вогонина, обладающего уникальной селективной цитотоксической активностью в отношении раковых клеток для создания на его основе уникального препарата растительного происхождения [6,7]. Коммерческими продуктами наших разработок являются евразийские патенты на каллусную и корневую культуры шлемника [8,9]. Использование технологий, основанных на промышленном выращивании культур тканей продуцентов в качестве лекарственного сырья, имеет ряд преимуществ перед традиционными способами получения сырья. Однако использование такого сырья в фармации экономически выгодно только для получения наиболее ценных на мировом фармацевтическом рынке продуктов. После проведения доклинических испытаний можно будет судить об истинной ценности препаратов. В настоящее время технологии, основанные на культивировании тканей высших растений для получения редких и дорогостоящих веществ, включены в биотехнологические программы многих стран мира.

Недавние исследования по геномному картированию, которые ясно показали, что генетическое разнообразие, хранящееся в генных банках, может быть использовано с гораздо более высоким уровнем эффективности, чем это делалось ранее. Однако, если поставить целью действительно максимально полное раскрытие и использование той генетической изменчивости, того генетического разнообразия, которые сохраняются в генных банках семян, исследователи уже сегодня должны быть готовы применить на практике отвечающую современному уровню знаний стратегию сохранения, поддержания и изучения генетических растительных ресурсов и быть готовыми к тому, чтобы в современных условиях использовать потенциал сохраняемых живых коллекций современными инновационными путями, в том числе с применением биотехнологических подходов.

#### Литература

1. Конвенция о биологическом разнообразии [Текст] / UNEP/CBD, 1995. – 34 с
2. Авторское свидетельство №12. Название БД: База данных эндемиков, редких и хо-

зяйственно ценных видов растений Кыргызстана. Институт биотехнологии НАН КР. Умралина А.Р., Абдуллин Г.М., Гладышев Д.Ю., Кыргызская Республика. Заявка № 20080005.7. 2008.

3. Использование технологии молекулярных маркеров в исследованиях генетического разнообразия растений [Текст]: методическое руководство. Под ред. М. К. де Висенте и Т. Фултон. – IPGRI, 2003 – 372 с.
4. Умралина А.Р., Лазьков Г.А. Эндемики и редкие виды растений Кыргызстана (Атлас). Бишкек. Издательский Дом „Kirland“. 2008. С. 96-97.
5. Бутенко Р.Г. Клеточные технологии для получения экономически важных веществ растительного происхождения [Текст]: кн. «Культура клеток растений и биотехнология» / Р.Г. Бутенко. - М: Наука, 1986. - С.3-20.
6. Himeji M., Ohtsuki T., Fukazawa H., Tanaka M., Yazaki S, Ui S., Nishio K., Yamamoto H., Tasaka K., Mimura A. Difference of Growth-Inhibitory Effect of *Scutellaria baicalensis* Producing Flavonoid Wogonin among Human Cancer Cells and Normal Diploid Cell // Cancer Letters. 2007. V. 245. P. 269-274.
7. Li-Weber M. New Therapeutic Aspects of Flavonones: the Anticancer Properties of *Scutellaria baicalensis* and its Main Active Constituents Wogonin, Baicalin and Baicalin // Cancer Treat. Rev. 2009. V. 25. P. 57-68.
8. Евразийский патент № 019010 «Штамм культуры каллусной ткани шлемника андрахновидного *Scutellaria andrachnoides* Vved – SCUT.ANDR. (TC) – продуцент вогонозидов и актеозидов». Дата выдачи 30 декабря 2013 г.
9. Евразийский патент № 020503 «Штамм культуры корня шлемника андрахновидного *Scutellaria andrachnoides* Vved – SCUT.ANDR. (HRC) – продуцент вогонозидов и актеозидов». Дата выдачи 28 ноября 2014 г.

## БИОТЕХНОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

УДК: 578.81 (575.2)(04)

### MODELING THE ECOLOGICAL NICHE OF *BACILLUS ANTHRACIS* AND MAPPING LIVESTOCK ANTHRAX CLUSTERS IN KYRGYZSTAN

*Jason K. Blackburn - Spatial epidemiology Ecology Research Laboratory, Department of Geography, University of Florida, Gainesville, FL USA, Emerging Pathogens, Gainesville, Institute, University of Florida, FL USA*

*Saitbek Matararimo - Kyrgyz Institute of Biotechnology, Natinal Academy of Sciences, Bishkek, Kyrgyzstan*

*Sabira Kozhokeeva - Kyrgyz Institute of Biotechnology, Natinal Academy of Sciences, Bishkek, Kyrgyzstan*

*Zhyldyz Tagaeva - Kyrgyz Institute of Biotechnology, Natinal Academy of Sciences, Bishkek, Kyrgyzstan*

*Lindsay K. Bell - Spatial epidemiology Ecology Research Laboratory, Department of Geography, University of Florida, Gainesville, FL USA*

*Ian T. Kracalik - Spatial epidemiology Ecology Research Laboratory, Department of Geography, University of Florida, Gainesville, FL USA, Emerging Pathogens, Gainesville, Institute, University of Florida, FL USA*

*Asankadyr Zhunushov - Kyrgyz Institute of Biotechnology, Natinal Academy of Sciences, Bishkek, Kyrgyzstan*

#### Summary

Anthrax, caused by the environmental bacterium *Bacillus anthracis*, is an important zoonosis (disease that can affect humans and animals) nearly worldwide. In central Asia, anthrax represents a major veterinary and public health concern. In the Kyrgyz Republic, ongoing anthrax outbreaks have been reported in humans associated with handling infected livestock and contaminated animal by-products such as meat or hides. The current anthrax situation has prompted calls for improved insights into the epidemiology, ecology, and spatial distribution of the disease in Kyrgyzstan to better inform control and surveillance. Disease control for both humans and livestock relies on annual livestock vaccination ahead of outbreaks. Toward this, we used a historic database of livestock anthrax reported from 1932 – 2006 mapped at high resolution to develop an ecological niche-model based prediction of *B. anthracis* across Kyrgyzstan and identified spatial clusters of livestock anthrax using a cluster morphology statistic. We also defined the seasonality of outbreaks in livestock. Cattle were the most frequently reported across the time period, with the greatest number of cases in late summer months. Our niche models defined four areas, the plateaus near Talas and Bishkek, the valleys of western Kyrgyzstan along the Fergana Valley, and the low lying areas along the shore of Lake Issykkul. We identified spatial clusters of livestock anthrax within these predicted areas. Areas defined by the niche models can be used to prioritize anthrax surveillance, while the spatial clusters should be used to target livestock vaccination campaigns.

*Keywords:* anthrax, *Bacillus anthracis*, cluster morphology, ecological niche modeling, GIS, Kyrgyzstan, spatial clustering

### МОДЕЛИРОВАНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ НИШИ *BACILLUS ANTHRACIS* И КАРТОГРАФИРОВАНИЕ КЛАСТЕРОВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ У ЖИВОТНЫХ В КЫРГЫЗСТАНЕ

Сибирская язва – болезнь, вызываемая *Bacillus anthracis*, является важным зоонозным заболеванием, которая может поражать людей и животных почти во всем мире. В Центральной Азии сибирская язва представляет большую проблему для ветеринарных служб и здравоохранения. В Кыргызской Республике все еще продолжающиеся вспышки сибирской язвы были зарегистрированы у людей, что связано с владением и уходом за больными животными и зараженными побочными

продуктами, такими как мясо или шкуры. Текущая ситуация с сибирской язвой стала призывом к более лучшему осознанию проблем эпидемиологии, экологии и пространственного распространения болезни в Кыргызстане для того, чтобы лучше информировать о процессе борьбы и контроля за болезнью. Контроль за болезнью, как у людей, так и у животных полностью зависит от ежегодной вакцинации животных упреждающей возникновение вспышек болезни. Для этого мы использовали историческую базу данных по сибирской язве у животных начиная с 1932-2006 годы картографированную в высоком разрешении, чтобы разработать систему прогнозирования *B. anthracis* основанную на экологической нише – модели и определить пространственные кластеры сибирской язвы у животных используя статистику кластерной морфологии.

Мы также, установили сезонность вспышек болезни у животных. Наиболее часто случаи заболевания сибирской язвой наблюдались у КРС в последние месяцы лета. Наши нише-модели определили четыре территории, плато возле Таласа и Бишкека, долины западного Кыргызстана вдоль Ферганской долины и низколежащие территории вдоль побережья озера Иссык-Куль. Мы определили пространственные кластеры сибирской язвы у животных в пределах этих прогнозируемых территорий. Территории, определенные нише - моделями можно использовать для приоритетности контроля сибирской язвы, в то время как пространственные кластеры должны применяться для целевой вакцинации животных.

*Ключевые слова:* сибирская язва, *Bacillus anthracis*, морфология кластеров, моделирование экологической ниши, ГИС, Кыргызстан, пространственная кластеризация

### КЫРГЫЗСТАНДА МАЛДЫН КҮЙДҮРГҮ ЫЛАҢЫН КЛАСТЕРДИК КАРТОГРАФИЯЛОО ЖАНА *BACILLUS ANTHRACIS* ЭКОЛОГИЯЛЫК ОРДУН МОДЕЛДӨӨ

Күйдүргү (Сибир кулгунасы) бүткүл дүйнөдө таралган зооноздук оору. Борбордук Азияда күйдүргү оорусу саламаттык сактоо жана ветеринариялык тейлөө иштериндеги түйшүктүү маселе.

Кыргыз Республикасында ылаңдаган малдан эт, тери, жана башка сырьелор менен байланышта болгон адамдар күйдүргү оорусуна чалдыгышат, ошондой эле бул оору жыл сайын чыгып турат. Малга жана адамга мүнөздүү болгон бул ооруну көзөмөлгө алуу үчүн анын эпидемиологиясын, экологиясын жана мейкиндикте таралышын терең изилдөө актуалдуулугун жогото элек.

Ооруну көзөмөлгө алуунун эң негизги шарты болуп, малды толугу менен эмдөө жана ман-демдүү очокторду зыянсыздандырып туруу керек. Мына ошондо гана бул оорунун чыгып кетишин камсыз кылабыз. Терең изилдөөдө биз 1932-2006-жылдырдагы чыккан малдын күйдүргү ылаңынын тарыхын пайдаланып, жогорку деңгээлдеги чечмеленүүчү картографияны колдонуу менен прогноздоо системасы иштелип чыкты. Бул маселеде *Bacillus anthracis*дин экологиялык орду-модели жана күйдүргү ылаңынын мейкиндиктеги кластери пайдаланылды.

Бул эмгекте биз күйдүргү ылаңынын жыл мезгилинде айда болуу мыйзам ченемдүүлүгү аныкталды. Ири мүйүздүү малда күйдүргү ылаңы жайдын акыркы айларында көп кездешет.

Биз аныктаган күйдүргүнүн экологиялык модели – орду төрт аймакты камтыйт. Алар: Таласка жана Бишкекке жакын «плагоо», батыш Кыргызстандагы Фергана өрөөнүндөгү өзөндөр, Ысык-Көлдүн айланасындагы түздүктөр эсептелет. Кыскасын айтканда Улуу Жибек Жолу өткөн аймактар.

Жыйынтыктап айтканда биз малдын күйдүргүсүнүн мейкиндик кластерин белгилүү бир аймактарда прогноздоонун жолун ачтык. Ал кайсы аймактарда күйдүргү коркунуч туудурат жана ошондой эле малды бул ылаңга каршы эмдөөдө вакцинаны рационалдуу колдонууга көмөк берет.

*Негизги сөздөр:* күйдүргү, *Bacillus anthracis*, кластердин морфологиясы, экологиялык орунду (нишаны) модельдөө, ГИС, мейкиндик кластерлөө.

### Author's Summary

Anthrax, caused by the environmental bacterium *Bacillus anthracis*, is a zoonosis (disease that can spillover from animals to humans) with important public health and national security implications globally. Central Asia continues to see high rates of livestock anthrax and these cases can lead to human disease. Disease control in both humans and livestock is dependent on sustained annual livestock vaccination. Nationwide vaccination is often expensive and unsustainable, particularly in resource limited environments. Mapping the spatial distribution of the pathogen, and specific areas where livestock outbreaks are clustered, can aid in defining priority areas for anthrax surveillance and control, respectively. Toward this, we used an ecological niche modeling experiment and a long-term database of livestock anthrax outbreaks to estimate the geographic distribution of *B. anthracis* for Kyrgyzstan. Suitable habitat for the pathogen is predicted across four regions, with three of those adjacent to neighboring Uzbekistan and Kazakhstan, where the disease is also frequent in livestock. We also defined areas of livestock anthrax clustering, which can be used to prioritize vaccination campaigns. Understanding the geography of *B. anthracis* plays an important role in informing public health by targeting disease control to high risk regions. This is particularly important in resource limited areas where trans-border livestock movements are frequent and could lead to disease persistence.

### Introduction

Anthrax, caused by the spore-forming, environmental bacterium *Bacillus anthracis* is a zoonotic disease that was recently posited as 'undervalued' relative to its health and economic impacts on livestock, wildlife, and humans [1]. Control of anthrax in humans can be achieved by limiting the disease in livestock through vaccination and proper outbreak management [2]. However, in resource limited areas, widespread vaccination may be financially prohibitive and untenable. Of particular concern are agrarian and resource limited countries in the Caucasus [2-4] and Central Asia [5-7], where independence from the former Soviet Union has hindered public health management due to decreased funding [5].

In central Asia, anthrax represents a major veterinary and public health concern [5,7,8].

In the Republic of Kyrgyzstan, ongoing anthrax outbreaks have been reported in humans associated with handling infected livestock and contaminated animal by-products such as meat or hides. A review of Promed Mail reports from 1990-2013 suggests a high human incidence during livestock epizootics (www.promedmail.org). As one example, during a single outbreak in July 2009, over 167 persons were under observation for suspect anthrax from contaminated meat. The current anthrax situation has prompted calls for improved insights into the epidemiology, ecology, and spatial distribution of the disease in Kyrgyzstan to better inform control and surveillance.

Ecological niche modeling is one tool for evaluating a species' potential distribution for management or disease risk mapping [9]. Ecological niche models (ENM) combine species occurrence locations with environmental data (such as climatic variables) to construct ecological envelopes of a species in ecological space and predict the potential geographic distribution in a GIS [9] providing testable hypotheses of distribution potential [10]. ENM approaches have been used to predict the distribution of *Bacillus anthracis* across several landscapes under current [9,11-13] and future climatic conditions [9,14]. Such models provide a *first estimate* of the where the pathogen may persist and Kracalik et al. [7] suggested national passive surveillance should include the appropriate diagnostic tools and regional veterinary training to properly detect outbreaks.

In order to better target disease prevention strategies, it is also important to define hotspots of disease occurrence on the landscape. Several recent studies have used spatial statistics to evaluate hotspot clustering of livestock anthrax [7,15-18]. For example, Kracalik et al. [7] employed a cluster morphology technique to define clusters of cattle anthrax in Kazakhstan and related those areas of high disease incidence with environmental and agricultural risk factors. While niche-based predictions are useful for estimating areas where passive surveillance is required, spatial clusters better define areas requiring active control, such as livestock vaccination campaigns and farmer education.

In this study, we developed a geographic information system (GIS) of livestock anthrax spanning several decades to describe its occurrence

in Kyrgyzstan. We employed a combination of presence-only ENM and spatial clustering to estimate the potential geographic distribution of *B. anthracis* in conjunction with hotspots of livestock anthrax. The objective of these experiments was to better define the ecology of *B. anthracis* and identify areas where improved livestock control and surveillance could be prioritized within the national infectious disease monitoring priorities for Kyrgyzstan.

### Methods

#### Anthrax occurrence data

We constructed a GIS of livestock anthrax using historical data from the Biotechnology Institute of NAS KR (IB NAS KR) in Bishkek (Figure 1). Historical records from 1932-2006 were cataloged in the Nidus database; a self-contained data entry, editing, and review system maintained by IB

NAS KR built on the Microsoft Access platform for veterinary epidemiologists. Nidus contains information on the date, livestock species, and number of individual animals infected (often recording mortality and survival status) for each outbreak. However, total livestock population on affected properties was rarely reported. For this study, an outbreak was defined as any location with one or more anthrax cases.

All dots reflect the distribution of outbreaks in the country. Yellow dots represent the outbreak locations used to train the highest ranking model experiment in the study (Experiment 8). Green dots represent data withheld to perform accuracy metrics on that experiment. Red stars represent major cities as landmarks to define anthrax foci in this study. The color ramp represents altitude in meters above sea level with higher elevations indicated in brown.

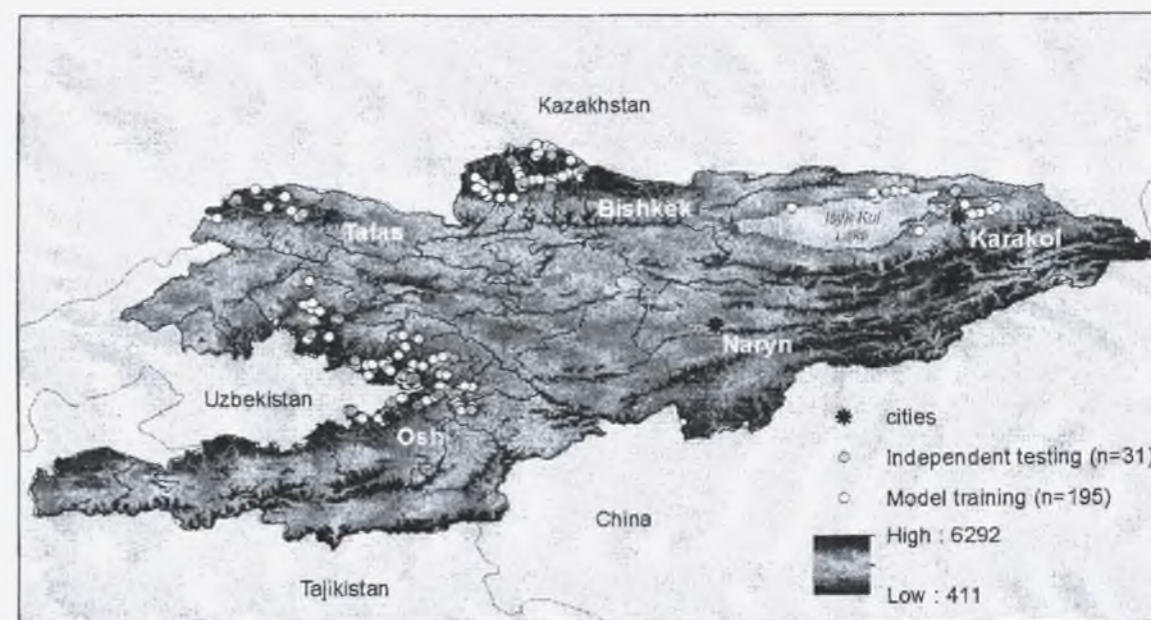


Figure 1. Spatial setting of Kyrgyzstan in Central Asia and the spatial distribution of anthrax outbreak data to model the ecological distribution of *Bacillus anthracis* and test for spatial clustering of outbreaks.

We linked Nidus events with geographic coordinates recorded by IB NAS KR using geographic positioning system (GPS) receivers. From 2008-2010, IB NAS KR personnel traveled to historical field sites and mapped each outbreak to the nearest possible location (e.g. carcass burial site, pasture, field, farm) based on historical

information, expert opinion, or recent known carcass locations. Historically, anthrax control in the Former Soviet Union included covering anthrax burial sites with a layer of concrete (Figure 2), making them easy to find where they still exist. Mapping and analysis was performed in ArcGIS v10.

Figure 2. Examples of burial sites from field efforts to map the geographic distribution of anthrax outbreaks. Historically, anthrax outbreaks were controlled by burying carcasses and pouring concrete slabs over the burial site. This practice was applied in open pastures (A) and backyard (B) settings.



#### Ecological niche modeling

Ecological niche modeling experiments were performed using DesktopGARP (DG) version 1.1.3 (<http://www.lifemapper.org/desktopgarp/>). GARP is a presence-only modeling algorithm that has been extensively tested [19]. The modeling system has been defined in detail elsewhere [20]. Briefly, GARP is an iterative algorithm that searches for non-random relationships between point occurrences and environmental data. GARP develops a series of if/then logic statements, called rules that use one of four types (range, negated range, atomic, or logistic regression) to describe presence or absence of the target species in ecological space. Rules are developed and tested internally using random draws of presence points from known occurrences and pseudo-absences (background). An internal statistical test (a chi-square test) is used to evaluate the quality of each rule at predicting presence or absence with the user's pre-defined proportion of input data. GARP can accept, modify or delete rules using deletions, insertions, cross-overs, etc. to improve predictive accuracy in a genetic fashion. Once a rule-set (50 rules per model) is developed, it is projected onto the geographic landscape to develop a presence/absence map describing the species' potential

geographic distribution. For examples of the relationship between rule-sets and geographic predictions see Mullins et al. [21].

#### Environmental data

Environmental variables used in this study followed Mullins et al. [21] from a study of neighbouring Kazakhstan to allow for comparison. Five bioclimatic variables describing measures of temperature and precipitation were downloaded from the WorldClim online database ([www.worldclim.org](http://www.worldclim.org)) [22]. Worldclim variables are interpolated monthly measurements recorded at stations located worldwide between 1961 and 2000. WorldClim produces 19 "bioclim" variable grids to describe annual trends, seasonality, and ecological parameters such as temperature of the coldest and warmest months. Two normalized difference vegetation index (NDVI) values were obtained from the Trypanosomiasis and Land Use in Africa (TALA) research group (Oxford, United Kingdom) [23]. These variables were derived from a temporal Fourier processed time series of advanced very high resolution radiometer (AVHRR) satellite data to produce measures of NDVI mean (average annual NDVI), amplitude (annual change in NDVI), and phase (seasonality of NDVI). We

also used four variables describing soil pH, moisture, organic content, and calcium concentration. Soils variables were derived from the Harmonized World Soil Database and were available at 1km<sup>2</sup> resolution [24]. All coverages were re-sampled to

1 km<sup>2</sup> (0.01 decimal degrees) and clipped to the boundaries of Kyrgyzstan in ArcView 3.3 (Environmental Systems Research institute, Redlands, CA). Variables are listed by name and source in Table 1.

Table 1.

Environmental covariates used to develop ecological niche models of *Bacillus anthracis* in Kyrgyzstan.

Environmental variable	Variable name	Data source	Reference
Altitude (m)	alt	Worldclim	[22]
Mean annual temperature (°C)	bio 1		
Annual temperature range (°C)	bio 7		
Annual precipitation (mm)	bio 12		
precipitation of the wettest month (mm)	bio 13		
precipitation of the dryest month (mm)	bio 14		
Average base saturation (%)	kgbsavg	HWSD	[24]
Average calcium concentration	kgcaavg		
Average soil pH	kgphavg		
Average soil organic content	kgsoilocav		
TFA mean NDVI	wd0114a0	TALA	[23]
TFA NDVI annual amplitude	wd0114a1		

#### Model Building and Evaluation

GARP models were evaluated with *post hoc* accuracy tests using independent Kyrgyz outbreak data withheld from the modeling experiments. Due to the iterative nature of GARP, the rule-set approach does not arrive at a single solution [25]. Because of this, model performance can be affected by variation in input data [26]. We developed 10 separate GARP experiments to evaluate the effect of input variability on model output. We used a different random subset of training and testing data for each experiment. We randomly selected 10 independent evaluation data sets of 25% of the occurrence points (n = 31) to withhold from GARP experiment to calculate accuracy metrics [25] since it is preferable to use an independent subset of data rather than re-substitution to assess model accuracy [19,25,27]. The remaining 75% of the occurrence points (n = 195) were used

for model building. DesktopGARP internally partitions training/testing data for model building and testing, which was set at 75% and 25%. To maximize GARP performance, model runs were set to a maximum of 1,000 iterations or until convergence of 0.01. The best subset procedure was used to select the 20 best models under a 10% hard omission threshold and a 50% commission threshold [19] for a final 10-model best subset for each GARP experiment. Each 10-model best subset was summated in ArcMap using the raster calculator to create a composite prediction.

Predictive accuracy for each GARP experiment was assessed using the independent dataset (i.e., the 25% of occurrence points withheld from model building). We evaluated each best subset using the area under the curve (AUC) in a Receiver Operating Characteristics (ROC) [28] analysis of the 25% independent datasets [25]. The AUC has been used extensively in species distribution

modeling, and measures the ability of a model to discriminate between sites where a species is present, versus those where it is absent [29]; an AUC of 1 indicates a perfect model while an AUC of 0.5 defines a model that predicts no better than random [28].

Because AUC scores alone may not describe the accuracy of a model [30], we also calculated measures of omission and commission [25]. Total and average omission was calculated from the 10-best models subsets and the independent test data. Total omission was calculated as the total number of independent test points predicted absent by the summated grid of all 10 best models. Average omission was calculated as an average omission across each of the 10 best models. Total and average commission were also calculated. Total commission was calculated as the total number of pixels predicted present across all 10 models divided by the total number of pixels in the study area. Average commission was calculated as the average of the total number of cells predicted present divided by the total number of pixels in the study area on a model-by-model basis for each of the 10-best models in the subset.

For this study we calculated accuracy metrics for each of the 10 randomly subset datasets and ranked experiments by AUC and total omission, selecting the experiment that balanced a high AUC and low omission. The best model was selected to describe the ecological niche characteristics and potential geographic distribution of *B. anthracis* across Kyrgyzstan.

#### Land cover analysis

Land cover types can be useful for on-the-ground epidemiologists and veterinarians attempting to determine priority areas for livestock vaccination. For this study we used the GlobCover v 2.2 GIS data (ESA GlobCover project). GlobCover is a gridded land cover dataset at 300m spatial resolution with a thematic resolution of 22 classes that describe land cover types that is standardized for the entire world and described in detail online (<http://www.ionial.esrin.esa.int>). The dataset was derived from satellite images obtained from 2005 to 2006. The best performing GARP best subset was recoded as present or absent using a 5 model cutoff following Blackburn et al. [11] and converted to a polygon representing predicted suitable *B. anthracis* habitat. We calculated and

plotted the proportion of each land cover type within the GARP-defined polygon.

#### Spatial cluster analysis

There are a number of statistical techniques for identifying local spatial clusters [31]. For this study, we employed the multidirectional optimal ecotope-based algorithm (AMOEBa). The AMOEBa algorithm is derived from the

calculation of  $G_i^*$  values from the Getis and Ord statistic [32]. AMOEBa identifies irregularly shaped continuous clusters of high and low values (here anthrax outbreaks per grid cell) [7]. The statistic has been defined in detail elsewhere [32]. Here we follow the methodology of Kracalik et al. [7]. Briefly, for each hexagonal grid cell  $i$

denoted  $G_i^*(0)$  and all continuous neighbors  $j$ , the statistic is calculated following Aldstadt and Getis [32] where  $N$  is the number of spatial units,  $x_j$  is the number of outbreaks in cell  $j$ , and  $x$  is the mean number of all outbreaks in the study area and study period. The AMOEBa algorithm searches in a multidirectional manner from  $G_i^*(0)$ . If a neighboring  $j$  unit maximizes the  $G_i^*$  value, either negatively (low cluster) or positively (high cluster) then that unit  $j$  becomes a member of the continuous cluster. If the unit  $j$  does not increase the value of the statistic at

$G_i^*(0)$ , then that cell does not become a member of the continuous cluster. For this study we used a statistical significance of  $\alpha = 0.05$ , and the false discovery rate (FDR) method to adjust for multiple hypothesis testing with a rook contiguity weights matrix. We used a hexagonal grid cell with a segment length of 10 km constructed with the geospatial modeling environment ([www.spatial ecology.com](http://www.spatial ecology.com)). AMOEBa was calculated using the AMOEBa toolbox in ArcGIS (<http://www.acsu.buffalo.edu/~geojared/tools.htm>).

#### Results

##### Outbreak data

A total of 487 outbreaks from 1932 and 2006 were captured by the Nidus database (Table 2). Domestic cattle and sheep made up 56.3% and 21.6%, respectively, with horses, swine, unknown (unrecorded) species, donkeys, polecats (from fur farming operation [6]) and animal hides composing the remainder of the outbreaks.

Table 2.

Summary of anthrax outbreaks in Kyrgyzstan 1932-2006 by livestock group and proportion of the total.

Livestock species	Total outbreaks	% of outbreaks
cattle	274	56.3%
sheep	105	21.6%
horse	37	7.6%
unknown	21	4.3%
swine	20	4.1%
cattle, small cattle*	15	3.1%
cattle, horse	4	.8%
cattle, small cattle, swine	4	.8%
soil	3	.6%
cattle skin	1	.2%
donkey	1	.2%
horse, donkey	1	.2%
polecats	1	.2%
Total	487	100.0%

\*Regionally, small cattle is used to describe mixed groups of sheep and goats.

Outbreaks per month are illustrated in Figure 3. Outbreaks were reported in all months of the year, with cattle the only livestock group reported in every month. There was an increase in all groups in the late spring and summer months, with August – October having the highest numbers of outbreaks, as has been documented in other mid- to high latitude regions [18,33].

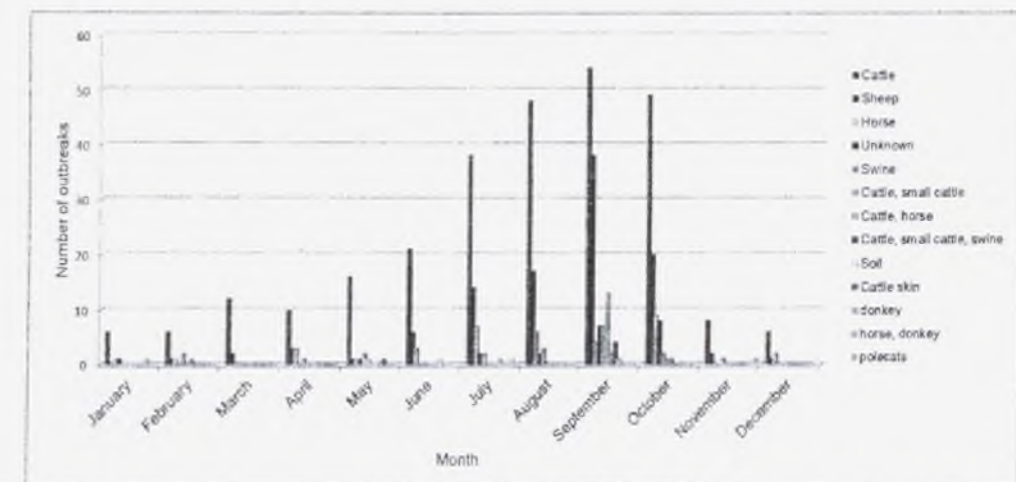


Figure 3. Number of anthrax outbreaks reported by month by livestock group as defined by the national Kyrgyz Nidus anthrax database. Outbreaks were reported from 1932-2006 for this study.

**Ecological niche modeling analysis**

The modeling process reached convergence of accuracy (0.01) prior to the maximum setting of 1000 iterations in each experiment run for this study. All of the models had high accuracy metric and broad agreement in the geographic prediction of *B. anthracis*, suggesting that the random selection of points had little influence on the rule-sets developed. Experiment number 8 had the highest AUC score of all 10 experiments run using random selections of testing data. Table S1 summarizes the accuracy metrics and

rank of all 10 experiments. The AUC score from the ROC analysis for experiment 8 was 0.9285 and was significantly different from a line of no information ( $p < 0.001$ ). Average and total omission for experiment 8 were both 0%, meaning that all *post hoc* testing data were successfully predicted by all models in the best subset (Table 3). The predicted geographic distribution of *B. anthracis* across Kyrgyzstan is illustrated in Figure 4 as the summation of the 10-model best subset for experiment number 8.

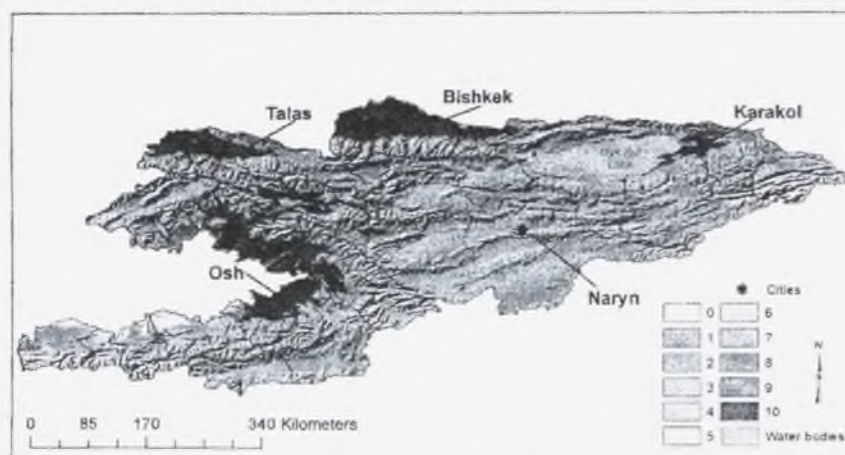


Figure 4. Potential geographic distribution of *Bacillus anthracis* across Kyrgyzstan based on a GARP ecological niche modeling experiment. Darker red colors represent higher levels of individual model agreement in the best subset of 10 individual models within the highest ranking experiment. Gray hill shade reflects elevation across the landscape.

Table 3.

**Sample sizes and accuracy metrics of the highest ranking ecological niche modeling experiment to predict the potential geographic distribution of *Bacillus anthracis* in Kyrgyzstan.**

Metric	Model specifications
N to build models	195†
N to test models (independent)	31
Total Omission	0
Average Omission	0
Total Commission	13.8
Average Commission	21.12
AUC*	0.9285†‡

\*AUC = area under curve

†N was divided into 75% training/25% testing at each model iteration

‡z = 11.61 (p < 0.001)

SE = 0.0321

The predicted distribution of *B. anthracis*, as defined by areas of high model agreement in the best subset, was primarily restricted to four regions within Kyrgyzstan. The plateaus of northwestern and north central Kyrgyzstan, near Talas and Bishkek, respectively, were predicted with high model agreement as suitable areas for *B. anthracis* persistence. The north and western flatlands around Issykkul Lake and the lowland areas of Osh near the Fergana Valley were also predicted with high model agreement. High mountain areas and high plateaus in the north were not predicted. Likewise, flatlands of south central Kyrgyzstan were also excluded. Additionally, there was a patch of suitable habitat predicted with moderate

model agreement west of Naryn in the central part of the country.

**Niche model predictions and land cover**

Twelve Globcover land classes overlapped with ENM-based geographic predictions (Figure 5), with land cover class 11 (*post-flooding or irrigated crop lands*), class 140 (*closed to open (>15%) grassland*), class 200 (*bare areas*) and class 150 (*sparse vegetation*) and class 30 (*mosaic vegetation/grassland*) comprising the greatest proportions, in order, of land cover types overlapping with areas predicted as suitable for *B. anthracis* (Figure 6).

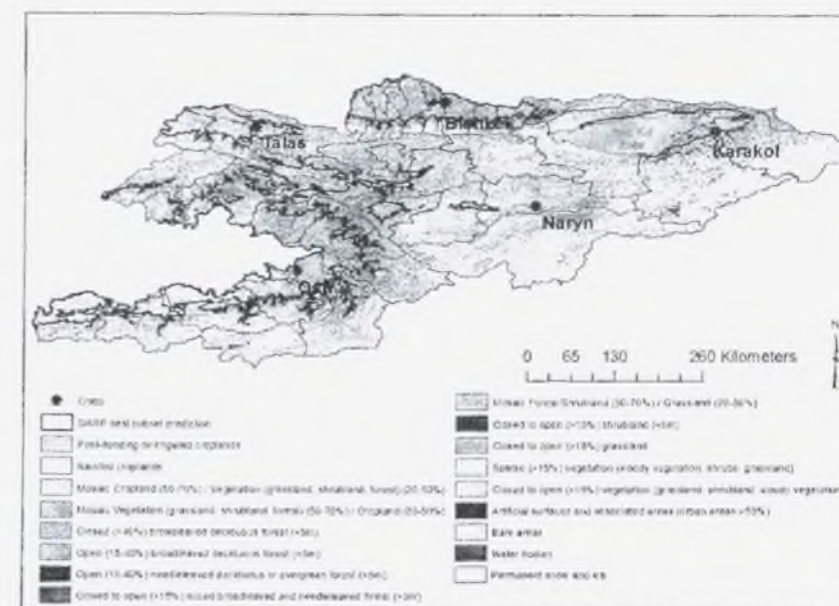


Figure 5. The spatial distribution of land cover types defined by the Globcover database for Kyrgyzstan. Red outlines are defined by the best subset of the highest ranked ecological niche modeling experiment from a set of 10. Globcover land cover classes are standardized for the entire world and defined in detail online (<http://www.ionial.esrin.esa.int>).



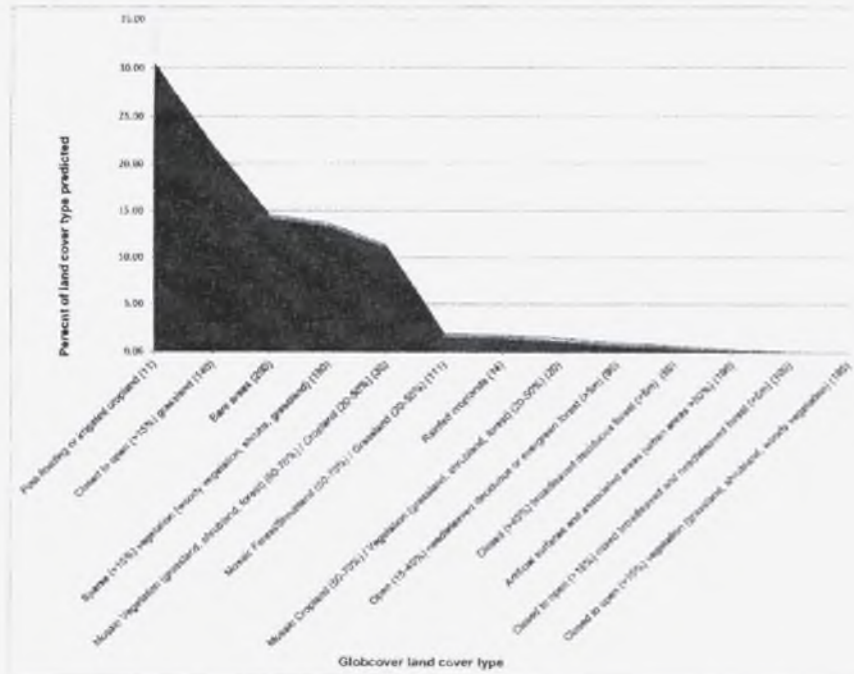


Figure 6. Proportion of each land cover type from the Globcover classification predicted by the geographic space that supports *Bacillus anthracis*. GARP area extracted from the highest ranking ecological niche modeling experiment. Globcover land cover classes are standardized for the entire world and defined in detail online (<http://www.ionial.esrin.esa.int>).

**AMOEBA-based spatial clustering**

AMOEBA-defined spatial clusters of high outbreaks were located in and around historical foci in Bishkek, Karakol, and Osh. No continuous clusters were identified in the Talas focus, though four hexagonal grid cells were classified as high outside of clusters in Talas. The other three foci had cells defined as outside of clusters, with the greatest number in the northern portion of the Osh focus and a single cell in each the Bishkek and Karakol foci (Figure 7).

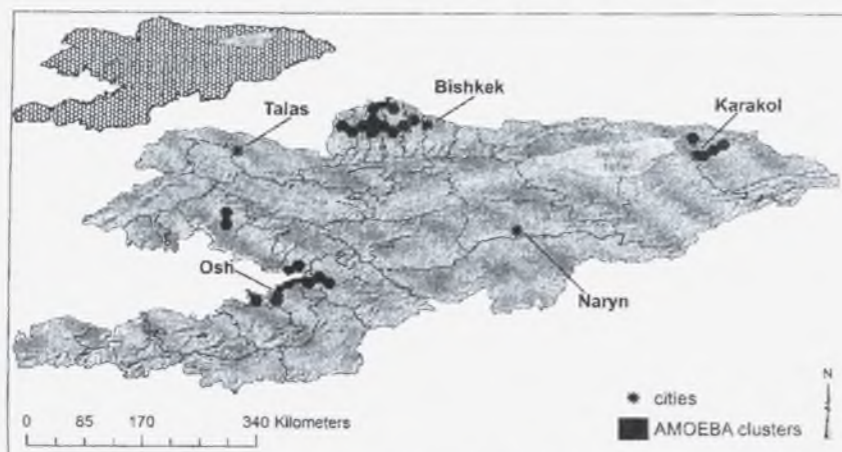


Figure 7. Spatial clusters of livestock anthrax outbreaks in Kyrgyzstan defined by the AMOEBA spatial clustering algorithm. Anthrax data were reported from 1932-2006 and aggregated to 10 km hexagons. Inset illustrates the hexagon surface of the entire country. Cluster map only identifies statistically significant clusters (red cells).

**Supporting Information Legends**

Table S1. Summary statistics for 10 GARP modeling experiments using randomly subset testing and training data to evaluate model variability due to changes in input data. Experiments are ranked by AUC score and omission values.

Table S1.

Summary statistics for 10 GARP modeling experiments using randomly subset testing and training data to evaluate model variability due to changes in input data. Experiments are ranked by AUC score and omission values.

GARP Experiment	AUC	z-score	SE	Total Omission	Average Omission	Total Commission	Average Commission
Random 8	0.9285	11.61	0.0321	0	0	13.80	21.12
Random 5	0.9221	11.46	0.0333	0	0	15.06	21.90
Random 6	0.9212	11.26	0.0335	0	0	15.77	22.80
Random 3	0.9197	11.90	0.0338	0	0	14.92	19.73
Random 4	0.9155	11.10	0.0345	0	0	16.20	23.28
Random 7	0.9081	10.99	0.0358	0	1	16.36	22.69
Random 1	0.9040	12.30	0.0365	3.2	2.5	14.47	18.59
Random 2	0.9024	11.98	0.0367	3.2	5.1	14.01	18.96
Random 10	0.9020	11.26	0.0368	0	1.6	17.35	22.63
Random 9	0.8885	11.30	0.0388	3.2	2.8	17.08	22.88

**Discussion**

We analyzed 74 years of livestock anthrax outbreaks using a combination of ecological niche modeling and spatial analysis to provide insight into the ecology and geographic distribution of the disease in Kyrgyzstan. We had three main objectives in this study. First, we provided a descriptive analysis of livestock anthrax in Kyrgyzstan from 1936-2006. Second, we predicted the potential geographic distribution of *B. anthracis* for the country. And lastly, we identified hotspots of livestock anthrax transmission. Our study revealed discontinuous areas of ecological suitability for *B. anthracis* and localized hotspots of livestock anthrax transmission with four main regions of likely persistence: 1) The plateau of northwestern Kyrgyzstan near Talas; 2) the high plateau of north central Kyrgyzstan near the capital of Bishkek (Chuy oblast); 3) the steppe east of Issykkul Lake (Issykkul oblast); and 4) the low valleys of Western Kyrgyzstan on the Uzbek

border (Jalal-Abad, Osh, and Batken oblasts). These findings can be used to direct control efforts such as livestock vaccination.

Worldwide, domestic cattle are the most commonly reported livestock type with anthrax [5]. Despite Kyrgyzstan maintaining a larger sheep population than cattle (National Statistical Committee of Kyrgyz Republic, stat.kg), we documented a larger proportion of outbreaks in cattle. In contrast, neighboring Kazakhstan, reported more sheep outbreaks compared to cattle during a similar reporting period (1937-2005) [6]. Although differences may be due to variation in susceptibility or their geographic distribution, it has been suggested that as cattle are more valuable, sheep losses from anthrax may go undetected if outbreaks are small [5]. Interestingly, sheep herding practices tend to include high altitude summer pastures [34], which may reduce exposure to *B. anthracis* during summer months (based on

our ENM predictions; Figure 4); though exposure to mid-elevation grasses could result in exposure during the migration up to or down from summer grazing.

As documented in previous studies [35,36], our findings indicated marked seasonality in anthrax reporting. Outbreaks increased from May through September and only cattle outbreaks were reported in every month. This late summer and early fall peak in anthrax has been reported at other mid-to high-latitude locations, including Texas [35]. This finding supports the theory of nutritional stress and increased soil contact during drier times of year before moving to wintering pastures. Winter time outbreaks (at this latitude) have been previously attributed to food-borne contamination and moving stressed animals [36,37]. Due to harsh winters in Kyrgyzstan, many animals are housed communally indoors during harsh winters and fed fodder (hay) prepared in the previous summer, raising the risk of food-borne outbreaks. Recent livestock anthrax outbreaks in Bangladesh were hypothesized to be food-borne (fodder) [38]. Given that Kyrgyz livestock practices have raised concerns over adequate provision of winter nutrition [39], surveillance efforts should be aware of anthrax in all months.

The goal of an ENM experiment is to identify a combination of environmental or climatic variables that relate known occurrence points (here anthrax outbreaks) to regions on the landscape that can support the species of interest (here *B. anthracis*) beyond where sampling or reporting occurred. Research using GARP to model the distribution of *B. anthracis* in the United States and Kazakhstan has shown that the bacterium is likely limited by a combination of factors [11,14,21]. In keeping with this research, we predicted four likely foci as suitable for *B. anthracis*. The steppe region of Talas reaches north and west into the Zhambyl area of Kazakhstan, previously defined as suitable *B. anthracis* habitat where hotspots of anthrax transmission occurred in cattle and small ruminants (sheep and goat) during a 40-year period [7]. The little research on anthrax in Uzbekistan predicted the Fergana Valley, in the east, as suitable for *B. anthracis* [40]. This valley leads into west central Kyrgyzstan, where we define the Osh anthrax focus (Osh, Jalal-Abad and Batken oblasts). A review of archival Promed records suggests a persistent anthrax problem (humans and animals)

in Uzbekistan, similar to Kyrgyzstan, illustrating the need for joint surveillance and control in this trans-border region. Although these areas of suitable *B. anthracis* habitat are relatively small, proper outbreak management and reporting of livestock mortality during seasonal animal migrations are needed to limit the spread of the disease.

Croplands and grasslands (Globcover classes 11, 140, 150, 30) comprised the majority of GARP-defined *B. anthracis* habitat in Kyrgyzstan. Ecologically these areas are similar to those long defined as habitat for large anthrax epizootics elsewhere [11]. Pasture land increased in response to a livestock population crash fueled by the economic downturn following Soviet independence in the 1990s. Since then, Kyrgyz legislation and market demand have rebounded livestock populations to ~1/2 of their pre-independence populations [41]. This has been coupled with efforts by herders to settle pastures [42]. From a practical standpoint, field epidemiologists and regional veterinarians can prioritize ecological zones for surveillance and control including seasonal migration routes. The majority of livestock are privately owned [39], so outreach should include efforts to engage household-level herders with educational materials on vaccination strategies and outbreak response.

Following the work of Kracalik et al. [7] in neighboring Kazakhstan, we identified hotspots of anthrax transmission, using a local spatial statistic, within the broader ENM-based prediction. This statistic was designed as a cluster morphology technique, more sensitive to irregular shapes than other methods [32]. In a recent study, hotspots of livestock anthrax showed agreement with the ENM-based prediction of *B. anthracis* presence [7]. We found, anthrax clusters were concentrated in the Osh focus along the Kyrgyz/Uzbek border, particularly where the Jalal-Abad and Osh oblasts meet Uzbekistan. Hotspots were also concentrated throughout the Bishek focus (Chuy oblast) across high plateau along the border with Kazakhstan proximate to cluster defined by Kracalik et al. [7]. Like the Bishkek focus, much of the plateau west of Isyk Kul Lake was defined as a spatial cluster of outbreaks.

Each the ENM experiments and spatial cluster analyses have limitations that require discussion. ENM models, by their definition and use of averaged climate data, may over generalize the

landscape that supports viable populations of *B. anthracis*. Recent studies in Kazakhstan [21] and the US and Italy [12] have illustrated subtle, but likely important, differences in ENM predictions when models are restricted to single genetic lineages. Comprehensive efforts have been completed to genotype *B. anthracis* in Kazakhstan [6], Italy [43], and the US [44], such efforts have not yet been completed in Kyrgyzstan. Such studies should be a priority. Aikembayev et al. [6] characterized genetic data from a limited number of Kyrgyz *B. anthracis* strains available in the Kazakh archive and identified at least two divergent lineages present in Kyrgyzstan, which may influence ENM predictions. At the same time, accuracy metrics for ENM predictions are still limited in value, in particular AUC [30]. For this study, we also limited our inclusion of ecological variables to those employed in recent studies of neighboring Kazakhstan to allow for comparison of a neighboring country with a well-studied anthrax situation. It is possible that alternative climatic variables, or combinations of variables, would refine the models built in this study. Future efforts can link the rule-set writing tools described in Mullins et al. [21] with additional variables and genetic data (as they become available) to refine the spatial patterns of this study. The scale of our spatial analysis was selected based on a tradeoff between scale and computational time as previously detailed [7,45], changing this scale may have altered our findings.

In summary, the results of this study identify priority areas for anthrax surveillance, based on the ENM prediction, and anthrax control, based on the AMOEBA clusters, for Kyrgyzstan. Anthrax remains an important zoonosis in this country and Central Asia, particularly in areas with limited public or veterinary health resources. The results of this study should inform anthrax policy in Kyrgyzstan and can be used to implement best practices for anthrax reporting and control in the areas most affected by the disease. Clusters along the Kazakh and Uzbek borders highlight the need for regional, trans-border control efforts to ensure disease management in each of these countries. Recent foot and mouth disease (FMD) outbreaks in Kazakhstan along these same border areas support our suggestion for multi-national cooperation [46] to control livestock diseases.

## References

1. Fasanella A, Galante D, Garofolo G, Jones MH. Anthrax undervalued zoonosis. *Vet Microbiol.* 2010;140: 318–331.
2. Kracalik I, Abdullayev R, Asadov K, Ismayilova R, Baghirova M, Ustun N, et al. Changing Patterns of Human Anthrax in Azerbaijan during the Post-Soviet and Preemptive Livestock Vaccination Eras. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014;8: e2985. doi:10.1371/journal.pntd.0002985
3. Kracalik IT, Malania L, Tsertsvadze N, Manvelyan J, Bakanidze L, Imnadze P, et al. Evidence of Local Persistence of Human Anthrax in the Country of Georgia Associated with Environmental and Anthropogenic Factors. *PLoS Negl Trop Dis.* 2013;7: e2388.
4. Kracalik I, Malania L, Tsertsvadze N, Manvelyan J, Bakanidze L, Imnadze P, et al. Human Cutaneous Anthrax, Georgia 2010–2012. *Emerg Infect Dis.* 2014;20: 261.
5. Hugh-Jones M. 97 global anthrax report. *J Appl Microbiol.* 1999;87: 189–191.
6. Aikembayev AM, Lukhnova L, Temiraliyeva G, Meka-Mechenko T, Pazylov Y, Zakaryan S, et al. Historical distribution and molecular diversity of *Bacillus anthracis*, Kazakhstan. *Emerg Infect Dis.* 2010;16: 789–796. doi:10.3201/eid1605.091427
7. Kracalik IT, Blackburn JK, Lukhnova L, Pazylov Y, Hugh-Jones ME, Aikembayev A. Analysing the spatial patterns of livestock anthrax in Kazakhstan in relation to environmental factors: a comparison of local (Gi\*) and morphology cluster statistics. *Geospatial Health.* 2012;7: 111–126.
8. Woods CW, Ospanov K, Myrzabekov A, Favorov M, Plikaytis B, Ashford DA. Risk factors for human anthrax among contacts of anthrax-infected livestock in Kazakhstan. *Am J Trop Med Hyg.* 2004;71: 48.
9. Blackburn J. Integrating geographic information systems and ecological niche modeling into disease ecology: a case study of *Bacillus anthracis* in the United States and Mexico. In: K.P. O'Connell EWS A. Sulakvelidze, L. Bakanidze, editor. *Emerging and Endemic Pathogens: Advances in Surveillance, Detection, and Identification.* Springer; 2010. pp. 59–88.

10. McNyset KM. Ecological niche conservatism in North American freshwater fishes. *Biol J Linn Soc.* 2009;96: 282–295. doi:10.1111/j.1095-8312.2008.01121.x
11. Blackburn JK, McNyset KM, Curtis A, Hugh-Jones ME. Modeling the geographic distribution of *Bacillus anthracis*, the causative agent of anthrax disease, for the contiguous United States using predictive ecologic niche modeling. *Am J Trop Med Hyg.* 2007;77: 1103–1110.
12. Mullins JC, Garofolo G, Van Ert M, Fasanella A, Lukhnova L, Hugh-Jones ME, et al. Ecological Niche Modeling of *Bacillus anthracis* on Three Continents: Evidence for Genetic-Ecological Divergence? *PloS One.* 2013;8: e72451.
13. Blackburn JK, Odugbo MO, Van Ert M, O'Shea B, Mullins J, Perrenten V, et al. *Bacillus anthracis* Diversity and Geographic Potential across Nigeria, Cameroon and Chad: Further Support of a Novel West African Lineage. *PLoS Negl Trop Dis.* 2015;9: e0003931.
14. Joyner TA, Lukhnova L, Pazilov Y, Temiralyeva G, Hugh-Jones ME, Aikimbayev A, et al. Modeling the potential distribution of *Bacillus anthracis* under multiple climate change scenarios for Kazakhstan. *PLoS One.* 2010;5: e9596. doi:10.1371/journal.pone.0009596
15. Epp T, Argue C, Waldner C, Berke O. Spatial analysis of an anthrax outbreak in Saskatchewan, 2006. *Can Vet J.* 2010;51: 743.
16. Kracalik I, Lukhnova L, Aikimbayev A, Pazilov Y, Temiralyeva G, Blackburn JK. Incorporating retrospective clustering into a prospective cusum methodology for anthrax: Evaluating the effects of disease expectation. *Spat Spatio-Temporal Epidemiol.* 2011;2: 11–21. doi:10.1016/j.sste.2010.06.001
17. Bezymennyi M, Bagamian KH, Barro A, Skrypnyk A, Skrypnyk V, Blackburn JK. Spatio-temporal patterns of livestock anthrax in Ukraine during the past century (1913–2012). *Appl Geogr.* 2014;54: 129–138.
18. Blackburn JK, Hadfield TL, Curtis AJ, Hugh-Jones ME. Spatial and Temporal Patterns of Anthrax in White-Tailed Deer, *Odocoileus virginianus*, and Hematophagous Flies in West Texas during the Summertime Anthrax Risk Period. *Ann Assoc Am Geogr.* 2014;104: 939–958.
19. Anderson RP, Lew D, Peterson AT. Evaluating predictive models of species' distributions: criteria for selecting optimal models. *Ecol Model.* 2003;162: 211–232. doi:10.1016/S0304-3800(02)00349-6
20. Stockwell D, Peters D. The GARP modelling system: problems and solutions to automated spatial prediction. *Int J Geogr Inf Sci.* 1999;13: 143–158.
21. Mullins J, Lukhnova L, Aikimbayev A, Pazilov Y, Van Ert M, Blackburn JK. Ecological Niche Modelling of the *Bacillus anthracis* A1. a sub-lineage in Kazakhstan. *BMC Ecol.* 2011;11. doi:10.1186/1472-6785-11-32
22. Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *Int J Climatol.* 2005;25: 1965–1978. doi:10.1002/joc.1276
23. Hay SI, Tatem A, Graham A, Goetz S, Rogers D. Global environmental data for mapping infectious disease distribution. *Adv Parasitol.* 2006;62: 37–77.
24. FAO/IIASA/CISS-CAS/JRC. Harmonized world soil database (version 1.0). Rome, Italy and Laxenburg, Austria: FAO; 2008.
25. McNyset KM. Use of ecological niche modelling to predict distributions of freshwater fish species in Kansas. *Ecol Freshw Fish.* 2005;14: 243–255. doi:10.1111/j.1600-0633.2005.00101.x
26. Joyner TA. Ecological niche modeling of a zoonosis: a case study using anthrax and climate change in Kazakhstan. MS, UNIVERSITY OF FLORIDA. 2010.
27. Fielding A, Bell J. A review of methods for the assessment of prediction errors in conservation presence/absence models. *Environ Conserv.* 1997;24: 38–49.
28. Zweig MH, Campbell G. Receiver-operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. *Clin Chem.* 1993;39: 561–577.
29. Wiley EO, McNyset KM, Peterson AT, Robins CR, Stewart AM. Niche modeling and geographic range predictions in the marine environment using a machine learning algorithm. *Oceanography.* 2003; 16: 120–126.
30. Lobo JM, Jiménez-Valverde A, Real R. AUC: a misleading measure of the performance of predictive distribution models. *Glob Ecol Biogeogr.* 2008; 17: 145–151.

31. Robertson C, Nelson TA, MacNab YC, Lawson AB. Review of methods for space-time disease surveillance. *Spat Spatio-Temporal Epidemiol.* 2010;1: 105–116.
32. Aldstadt J, Getis A. Using AMOEBA to create a spatial weights matrix and identify spatial clusters. *Geogr Anal.* 2006; 38: 327–343.
33. Blackburn JK, Asher V, Stokke S, Hunter DL, Alexander KA. Dances with Anthrax: Wolves (*Canis lupus*) Kill Anthrax Bacteremic Plains Bison (*Bison bison bison*) in Southwestern Montana. *J Wildl Dis.* 2014; 50: 393–396.
34. Crewett W. Introducing decentralized pasture governance in Kyrgyzstan: Designing implementation rules. *Environ Sci Policy.* 2015;
35. Blackburn JK, Goodin DG. Differentiation of Springtime Vegetation Indices Associated with Summer Anthrax Epizootics in West Texas, USA Deer. *J Wildl Dis.* 2013; 49: 699–703. doi:10.7589/2012-10-253
36. Turner A, Galvin J, Rubira R, Miller G. Anthrax explodes in an Australian summer. *J Appl Microbiol.* 1999;87: 196–199.
37. Parkinson R, Rajic A, Jenson C. Investigation of an anthrax outbreak in Alberta in 1999 using a geographic information system. *Can Vet J.* 2003; 44: 315.
38. Fasanella A, Garofolo G, Hossain M, Shamsuddin M, Blackburn J, Hugh-Jones M. Bangladesh anthrax outbreaks are probably caused by contaminated livestock feed. *Epidemiol Infect.* 2012; 1: 1–8.
39. van Gelder R. Livestock production and agriculture in Kyrgyzstan. *Sci Access.* 2004;1: 200–203.
40. Blackburn JK, Ten R, Aikembayev AM, Zhunushov A, Hugh-Jones ME. M. Using ecological modeling with GIS to improve international anthrax surveillance. New Orleans, Louisiana; 2007.
41. Baibagushiev E, Kreutzmann H, Abdulalishoev K, Zhaohui L, Richter J. Recent changes in pastoral systems. Case study on Kyrgyzstan. Deutsche Gesellschaft für Internationale Zusammenarbeit (GIZ) GmbH; 2011. pp. 102–118.
42. Van Veen TWS. The Kyrgyz sheep herders at a crossroads. Odi, Pastoral Development Network; 1995.
43. Fasanella A, Van Ert M, Altamura SA, Garofolo G, Buonavoglia C, Leori G, et al. Molecular diversity of *Bacillus anthracis* in Italy. *J Clin Microbiol.* 2005;43: 3398.
44. Van Ert M, Easterday W, Huynh L, Okinaka R, Hugh-Jones M, Ravel J, et al. Global genetic population structure of *Bacillus anthracis*. *PloS One.* 2007; 2: 461.
45. Barro AS, Kracalik IT, Malania I, Tsertsvadze N, Manvelyan J, Imnadze P, et al. Identifying hotspots of human anthrax transmission using three local clustering techniques. *Appl Geogr.* 2015;60: 29–36.
46. Symik I, Karibayev T, Tyulegenov S, Abenova A, Tashkenbayev A, Yerimbetov S. Surveillance of foot and mouth disease: a study of 2011–2012 outbreaks in Kazakhstan. *Ветеринарная медицина.* 2013; 51–54.

УДК: 578:599.325(575.2)(04)

### Разработка технологии изготовления тканевой инактивированной гидроокисьалюминиевой вакцины против ВГБК из местного штамма «КБ-биотех»

Институт биотехнологии НАН КР

*Н.К. Султаналиев - кандидат ветеринарных наук  
Карыбек уулу Самат - аспирант*

В статье обсуждается технология изготовления тканевой инактивированной гидроокисьалюминиевой вакцины против ВГБК. Показаны результаты изучения иммунобиологических свойств вакцины против ВГБК из местного штамма «КБ-Биотех»

*Ключевые слова:* инактивированная вакцина, биотехнология, вирусология, иммуногенность.

### Коёндун шүүшүндүү ылаңына каршы ткандык инактивацияланган гидроокисалюминийлүү вакцинасын жергиликтүү «КБ-биотех» штаммынан даярдоо технологиясын изилдөө

Илимий макалада коёндун шүүшүндүү ылаңына каршы ткандык инактивацияланган гидроокисалюминийлүү вакцинанын даярдоо технологиясы талкууланат. Коёндун шүүшүндүү ылаңына каршы жергиликтүү «КБ-Биотех» штаммынан даярдалган вакцинанын иммунобиологиялык касиеттерин изилдөө көрсөтүлгөн.

*Негизги сөздөр:* инактивацияланган вакцина, биотехнология, вирусология, иммуногендүүлүк.

### Development of technologies of manufacturing tissue inactivated hydroxide aluminum vaccine against viral hemorrhagic disease for rabbits from local strain "KB-biotech"

The technologies' for manufacturing tissue vaccine, inactivated by hydroxide aluminum and made from local strain "KB-Biotech" against Viral Hemorrhagic Disease for Rabbits are being discussed in the article. The study outcomes of immune and biological features of vaccine against VHDR from local strain "KB-Biotech" are shown.

*Keywords:* inactivated vaccine, biotechnology, virology, immunogenicity.

Вирусная геморрагическая болезнь кроликов - ВГБК (некротический гепатит, геморрагическая пневмония кроликов) - остро протекающая высококонтагиозная болезнь вирусной этиологии, наносящая значительный экономический ущерб кролиководству.

ВГБК характеризуется явлениями геморрагического диатеза во всех органах кроликов, в особенности в легких и печени. Поражаются кролики старше 1,5 - месячного возраста. О заболевании этим вирусом животных других видов и человека не сообщалось. Впервые ВГБК вспыхнула в Китае весной 1984 года в одной из Восточных провинций, и уже к концу года болезнь распространилась на юге Китая и в некоторых северных регионах страны. В 1986 году ВГБК установлена в России. С 1987 года болезнь регистрировали в 5 областях Украины (Сумская, Харьковская, Киевская, Запорожская, Одесская), в Белоруссии, Молдове, Латвии, Узбекистане, Казахстане и Туркменистане. В конце 1988 года в популяции домашних кроликов в Кыргызской Республике неожиданно возникла новая, ранее неизвестная болезнь, сопровождающаяся огромными потерями животных (100% летальность).

Экономический ущерб, наносимый ВГБК, складывается из-за высокого процента гибели взрослых особей и молодых кроликов с момента отъема.

Вакцинопрофилактика ВГБК занимает основное место в комплексе противозoonотических мер, направленных на борьбу с этим заболеванием. Для вакцинопрофилактики вирусной геморрагической болезни кроликов применяют инактивированные моно - и ассоциированные вакцины российского производства.

Для изготовления инактивированных вакцин против ВГБК в России используются штаммы «Воронежский-87» и «Белгородский-03». Молекулярно-генетические исследования зарубежных ученых за последнее десятилетие показывают, что все штаммы ВГБК (в тех областях, где болезнь была диагностирована) принадлежат к одному серотипу. Сравнительное секвенирование выделенных изолятов показывает, что в консервативных областях генома они имеют отличия по аминокислотному составу в пределах от 2 до 5%. Однако выделенные в последнее время температурозависимые изоляты вируса ГБК в Германии, Италии

значительно отличаются по гемагглютинирующим свойствам при более низкой температуре +4°C и по аминокислотному составу от ранее известных вирусов ГБК в области E генома, где у представителей калицивирусов представлены основные антигенные детерминанты.

Недостатками ранее выделенных штаммов являются их низкая биологическая, антигенная и иммуногенная активность.

Поэтому в Кыргызской Республике необходимо вести генетический мониторинг и сравнение гемагглютинирующих и иммунобиологических свойств местных изолятов ГБК в очагах инфекции, но и иметь в музейных коллекциях штаммы вируса ГБК, позволяющие изготавливать из них более эффективные средства специфической профилактики против ВГБК исходя из эпизоотической ситуации.

Задачей настоящего изобретения являлась получение местного производственного и диагностического штамма вируса геморрагической болезни кроликов, сохраняющего свои иммунобиологические свойства после инактивации и пригодного для изготовления высокоиммуногенных вакцинных препаратов.

### Материалы и методы

Исходный вирус для получения штамма «КБ-биотех» вируса геморрагической болезни кроликов был выделен во время вспышки в городе Кара-Балта, Чуйской области, Кыргызской Республики от больных и павших кроликов.

Производственный штамм «КБ-биотех» вируса геморрагической болезни кроликов получен путем последовательных пассажей на кроликах.

Полученный штамм депонирован в лаборатории вирусологии института биотехнологии НАН КР под регистрационным шифром Штамм «КБ-биотех».

Для получения вируса, используемого при изготовлении тканевой инактивированной гидроокисьалюминиевой вакцины против ВГБК из штамма «КБ-биотех», использовали полученную и охарактеризованную матровую раскладку Masterseed (M.s.) вируса геморрагической болезни кроликов из вышеуказанного штамма. Изначально готовили разведение вируса на физиологическом растворе таким образом, чтобы в конечном разведении содержалось 100 ЛД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Указанное разведение

вируса вводили внутримышечно кроликам в объеме 1,0 см<sup>3</sup>. Предварительно сыворотку крови кроликов исследовали на наличие антител к вирусу ВГБК в РЗГА с эритроцитами крови человека 0 (I) группы. При наличии специфических антител к вирусу геморрагической болезни кроликов в титре 1:4 и выше кроликов в опыт не брали. Инфицированных кроликов содержали в оборудованном инфекционном виварии в индивидуальных металлических клетках.

Из полученной от павших кроликов печени готовили 10%-ную вирусную суспензию на забуференном физрастворе (рН 7,0-7,4). В материал вносили хлороформ (конечная концентрация 2%) и помещали в холодильник при 4°C на 18 часов. Затем суспензию печени центрифугировали в течение 1 ч при 6000 g, при 4°C. Вирусная суспензия, используемая для изготовления тканевой инактивированной вакцины, должна иметь активность в РГА не менее 1:1280 - 1:2560 ГАЕ.

Инактивацию вируса проводили с помощью 4% - ного раствора формалина. Исходя из концентрации формальдегида готовили 4% - ный раствор формалина (т.е. 1,1-1,4% раствор формальдегида) на стерильной дистиллированной воде. Раствор формалина готовили в стеклянных бутылках в день составления сырья для вакцины и вносили в вирусную суспензию до конечной концентрации 0,14-0,1% формальдегида.

Инактивировали вирус при температуре 27-28°C в течение 3-х суток с периодическим перемешиванием (1 раз в час, в течение 5 мин).

Началом инактивации считали время после доведения температуры в емкости до 27-28°C и добавления формалина. После инактивации формалином к суспензии при постоянном перемешивании добавляли метабисульфит натрия (1М раствор) до полной нейтрализации остаточного формальдегида.

Из инактивированного материала брали пробу для проверки стерильности, активности и полноты инактивации. Для проверки полноты инактивации двум кроликам массой 2,5-3,0 кг, не имеющим антител к вирусу геморрагической болезни кроликов, вводили по 3,0 см<sup>3</sup> внутримышечно инактивированный материал. Животные в течение 7 суток наблюдения оставались здоровыми.

После окончания инактивации вирусосодер-

жащей суспензии в емкость с вирусной суспензией добавляли гель гидрата окиси алюминия (ГОА) с 3% сухого остатка после размолла из расчета на 1000 см<sup>3</sup> суспензии 150 см<sup>3</sup> ГОА (20%) при рН 7,2-7,4 и температуре 4-8°C. Сорбцию проводили в течение 1-2 часов с периодическим перемешиванием. Вакцину хранили при 8°C до получения результатов контроля препарата. Смесь перед фасовкой перемешивали при температуре 10-12°C в течение 1 часа.

Содержание антигена в дозе вакцины на уровне 640-1280 ГАЕ является его оптимальным количеством в препарате, обеспечивающим достижение технического результата.

Полученную вакцину проверяют на внешний вид, стерильность, уровень рН, полноту инактивации вируса, иммуногенность и безвредность.

Вакцина представляет собой прозрачную жидкость серо-коричневого цвета с рыхлым осадком, образующимся при хранении, который при встряхивании легко разбивается в однородную взвесь.

Стерильность вакцины определяли в соответствии с ГОСТ 28085-89. Безвредность препарата определяли путем его введения четырем кроликам внутримышечно по 3 см<sup>3</sup>. Вакцина считается безвредной, если она не вызывает гибель или заболевания кроликов, а также изменений некротического характера на месте введения в течение 14 суток наблюдения.

Полноту инактивации вируса в вакцине проверяли на 4 кроликах, которым вводили внутримышечно в область средней трети бедра по 3,0 см<sup>3</sup>.

За кроликами вели наблюдение в течение 10 дней. Вакцину считают не содержащей инфекционного вируса, если она не вызывает гибели кроликов от вирусной геморрагической болезни в течение 10 суток после введения препарата.

В используемых флаконах с вакциной определяли рН, средняя величина показателей должна быть в пределах 7,2 - 7,4.

#### Результаты и обсуждения

Гемагглютинирующую активность антигена каждой серии вакцины определяют в реакции гемагглютинации (РГА) с эритроцитами человека 0 (I) группы и выражают в гемагглютинирующих единицах. Гемагглютинирующий титр в вакцине должен быть не ниже 8,0 log<sub>2</sub>, что соответствует разведению 1:256 ГАЕ.

Таблица 1

Уровень накопления антител, задерживающих гемагглютинацию при гипериммунизации кроликов инактивированным вирусом ВГБК штамм «КБ-биотех»

№ кроликов	Титр антител задерживающих гемагглютинацию		
	До введения	После 1-й инъекции (log <sub>2</sub> )	После 2-й инъекции (log <sub>2</sub> )
1	0	7	12
2	0	7	11
3	0	8	12
4	0	6	10

Таблица 2

Иммуногенная активность тканевой инактивированной гидроокисьалюминиевой вакцины против ВГБК из штамма «КБ-биотех»

№ п/п	Наименование испытуемого материала	Титры антител в РЗГА		
		До вакц-и (log <sub>2</sub> )	Через 5 дн.	Через 14 дн. (log <sub>2</sub> )
1	Сыворотка вакцинированного кролика	0	4	8
2	*-	0	5	8
3	*-	0	4	7
4	*-	0	4	8
5	*-	0	5	8
6	*-	0	5	8
7	*-	0	5	7
8	*-	0	5	8
9	Сыворотка невакцинированного кролика	0	0	0
10	Сыворотка невакцинированного кролика	0	0	0

Результаты, приведенные в таблице 2, свидетельствуют о том, что тканевая инактивированная гидроокисьалюминиевая вакцина против ВГБК из штамма «КБ-биотех» обладает высокой гемагглютинирующей активностью.

При изучении иммуногенной активности тканевой инактивированной гидроокисьалюминиевой вакцины против ВГБК из штамма «КБ-биотех» установлено, что у кроликов старше 1,5-2-мес. возраста, привитых однократно внутримышечно в дозе 0,5 мл, уже на 5 день после введения препарата индуцируется иммунный ответ, обеспечивающий 90-100% образование гуморальных антител и защиту от заболевания. Экспериментально показано, что одна прививная доза в объеме 0,5 мл содержит не менее 640-1280 ГАЕ. Результаты исследований, представленные в таблице 2, подтверждают высокую эффективность инактивированной вакцины против ВГБК из штамма «КБ-биотех».

Таким образом, приведенная выше информация свидетельствует о выполнении при использовании предлагаемого изобретения следующей совокупности условий:

- штамм «КБ-биотех» вируса геморрагической болезни кроликов, воплощающий пред-

лагаемое изобретение, предназначен для использования в сельском хозяйстве, а именно в ветеринарной вирусологии и биотехнологии,

- штамм «КБ-биотех», полученный в соответствии с предлагаемым изобретением, обладает высокой инфекционной, антигенной и иммуногенной активностью и пригоден для изготовления вакцинных препаратов против ВГБК.

#### Литература

1. Вирусная геморрагическая болезнь кроликов / Шевченко А.А., Вишняков И.В., Бакулов И.А., Власова Т.А., 2015.
2. Устойчивость вакцинированных кроликов и перекрестному заражению полевым изолятом вируса / А.В. Николаев, Н.В. Малоголовкина, Н.К. Бобровская, Е.Н. Глухарева, В.И. Уласов, А.В. Луницин // Диагностика, лечение и профилактика опасных инфекционных заболеваний. Микробиология. Биотехнология. Экология: материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Екатеринбург, 2009. – С. 68-70.
3. Инфекционные болезни. Бессарабов Б.Ф.

УДК: 576.851(575.2)(04)

### МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГЕНОМОВ ИЗОЛЯТОВ И ШТАММОВ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ ПОЛУЧЕННЫХ НА ТЕРРИТОРИИ КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

*С.А. Кожокеева – аспирант Института биотехнологии НАН КР, зав. лабораторией Ветеринарно-санитарной экспертизы Госинспекции ВФСБ*

*Дж.С. Тагаева – научный сотрудник лаборатории биотехнологии и питания ИБ НАН КР*

В статье приводятся исследования по изучению молекулярно-генетических особенностей геном и их эволюционных преобразований, полученных изолятов и штаммов сибирской язвы на территории Кыргызской Республики.

На первоначальном этапе изучались морфо-культурально-логические и биохимические характеристики образцов, показавшие активность изолятов и штаммов. Филогенетические исследования проводились в Istituto Zooprofilattico Sperimentale - Dept. «Anthrax Reference Institute of Italy».

*Ключевые слова:* Сибирская язва, В.Anthraxis, плазмид рХ 02 (капсульный), плазмид рХ01 (токсинаобразующий), Морфо - культуральные и биохимические характеристики.

### КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНЫН АЙМАГЫНАН БӨЛҮНҮП АЛЫНГАН КҮЙДҮРГҮНҮН ИЗОЛЯТТАРЫНЫН ЖАНА ШТАММДАРЫНЫН ГЕНОМУНУН МОЛЕКУЛЯРДЫК-ГЕНЕТИКАЛЫК КАСИЕТТЕРИ

Бул илимий эмгекте Кыргыз Республикасынын аймагынан бөлүнүп алынган куйдүргүнүн изоляттары менен штаммдарынын геномунун молекулярдык-генетикалык өзгөчөлүктөрү жана алардын эволюциялык өзгөрүүлөрү изилденди.

Биринчи этабында Bas.Anthraxisдин морфо-культуралдык жана биохимиялык касиеттери, алардын активдүүлүгү изилденди. Экинчи этабында филогенетикалык изилдөөлөр Италиядагы Istituto Zooprofilattico Sperimentale - Dept. «Anthrax Reference Institute of Italy» менен биргелишип аткарылды.

*Негизги сөздөр:* куйдүргү, В.Anthraxis, плазмид рХ01, плазмид рХ02, морфо-культуралдык жана биохимиялык касиеттери

### MOLECULAR AND GENETIC FEATURES OF ANTHRAX ISOLATE GENOMES AND STRAINS OBTAINED ON THE TERRITORY OF THE KYRGYZ REPUBLIC

The article describes the researches on molecular and genetic features of genomes and their evolutionary transformations of the obtained anthrax isolates and strains on the territory of the Kyrgyz Republic.

At the primary stage morpho - cultural and logical and biochemical characteristics of the samples were studied. The results showed the activity of isolates and strains. Phylogenetic studies were carried out at Istituto Zooprofilattico Sperimentale – Dept. “Anthrax Reference Institute of Italy”.

*Key words:* anthrax, Bacillus anthracis, plasmid pX 02 (capsule), plasmid pX01 (toxinforming), morpho-cultural and biochemical characteristics.

Начало молекулярно-генетических исследований сибирезязвенного (антракс) токсина связано с обнаружением в 1983 году в клетках возбудителя плазмы рХ 01 (рВА1) размера 176 т.п.н. (P.Miskell et. al., N.Robilarol et. al.).

Обстоятельные исследования по генотипированию сибирезязвенных штаммов были проведены M.Hugh-Jones, P.Keim (1971), M. Hugh-Jones et. al (1998).

Нами, помимо патологического материала от животных и людей, лабораторно исследовались пробы из объектов внешней среды. Исследовались пробы почвы, смывы, мясо и другие объекты, представлявшие интерес, как фактора сохранения возбудителя сибирской язвы на первично установленном эпидемиологическом очаге. В ходе работы исследовано более 100 проб.

Доставленные в лабораторию биологические объекты проходили предварительную стадию подготовки для дальнейшего лабораторного исследования. Пробы исследовались: бактериологическим, бактериоскопическим и биологическим методами.

В ходе бактериоскопического исследования готовились специальные мазки, которые окрашивались красителями по Грамму, Гинс-Бури и специфической люминесцирующей сывороткой. Первичные посева материала проводились в диагностической среде для накопления микроба и заражались биопробные животные (в опыте использовались беспородные белые мыши).

В ходе выполненных исследований на первом этапе были поставлены основные тесты, которые позволили нам исключить из дальнейшей работы близкородственные культуры типа *V.segeus* от типичных *V.Anthraxis* по характеру роста на твердых и жидких питательных средах, окраска по Грамму, фаготипирование и заражение белых мышей.

При обработке специфической люминесцентной сывороткой наблюдалось зеленоватое свечение в темном поле. При прохождении ультрафиолетовых лучей установили что некоторые клетки микроорганизмов уже содержали сформировавшиеся споры.

На диагностическом агаре посева микроорганизмов через 24 часа образовывались серовато-белые колонии R-формы. При воздействии сибирезязвенным бактериофагом выделялась зона лизиса. При просмотре колоний под малым увеличением был виден феномен «Твор-

та», виде «таяния» колоний, от первоначально изменения края колоний до уменьшения ее размеров.

Заражение биопробных животных, в частности белых мышей, приводила их к гибели на 3 сутки, где мы могли видеть характерную патологическую картину изменения внутренних органов.

Проводилась идентификация штаммов выделенных из объектов внешней среды, в частности почвы первичных очагов, где регистрировались случаи заражения людей сибирской язвой в Ошской и Жалал-Абадской областях. Всего изучено 12 культур, которые были выделены на территории двух районов Жалал-Абадской и двух районах Ошской области.

Характер роста на твердом питательном агаре сибирезязвенного микроба через 24 часа при температуре 37° образовывались довольно крупные R-формы серовато - белые пушистые колонии диаметром 0,7 - 0,9 мм. Под малым увеличением были видны довольно четкие очерченные края колоний.

Рост микроорганизмов на питательном бульоне был характерным и напоминал «комочек ваты», а бульон оставался прозрачным.

Морфологические особенности клетки возбудителя сибирской язвы мы могли видеть в ходе окраски мазков люминесцирующей сибирезязвенной сывороткой с просмотром в ультрафиолетовом поле. Споры и бактерии давали ярко зеленое свечение характерной формы клетки, в отличие от близкородственных микроорганизмов, которым было характерно равномерное свечение.

Определение гемолитической активности проводили на питательном агаре с добавлением 5% дефебрированной крови. Зона гемолиза отсутствовала.

Посевы сибирезязвенного микроба в среде с желатином давал рост в виде перевернутой елочки, опрокинутой верхушкой вниз с беловато-хлопьевидным осадком, что является специфическим признаком для микроба, его отношением к желатину. Характерно, что близкородственные микробы разлагают желатин, а сибирезязвенный нет.

Проведенные исследования способности исследуемых штаммов к капсулообразованию в 100% случаев дал положительный результат как *in vitro*, так *in vivo*. Это является наиболее достоверным таксономическим признаком, отличающим возбудитель сибирской язвы от

других представителей рода *Bacillus*. Процесс капсулообразования является одним из характерных признаков вирулентности возбудителя по отношению к животным, а также одним из эпидемиологических и эпизоотологических тестов по отношению к сельскохозяйственным животным.

Одновременно штаммы были изучены по отношению к сибирезязвенному бактериологическому фагу. Результаты учитывались через 5-6 часов инкубации под малым увеличением. Окончательный учет производился через 12-24 часа невооруженным глазом. В положительных случаях мы могли наблюдать на месте нанесения капли бактериофага полный или частичный лизис колоний.

Чувствительность к пенициллину мы определяли путем постановки специфического теста «жемчужное ожерелье» и роста на среде с добавлением пенициллина разных концентраций. На пластине питательного агара делали высев 3-х часовой культуры выращенной на питательном бульоне с добавлением 0,5 ЕД пенициллина. И подращивали еще 3 часа. По-

сле подраста делали мазки. Сибирезязвенный микроб в мазках располагался в виде цепочек шарообразной формы, напоминающий ожерелье из жемчуга или бус.

Изучаемые штаммы были получены для идентификации и хранения в коллекции РЦКИ ООИ. В трех регионах Ошской, Жалал-Абадской и Баткенской областях были зарегистрированы случаи заражения людей сибирской язвой. В ходе проводимой работы по профилактике и ликвидации выявленных очагов были собраны образцы биологического материала от больных людей, а так же в местах, где были случаи падежа животных или их убой. В ходе работы нами изучены 15 штаммов из указанных регионов, в том числе 8 штаммов от больных людей, 7 штаммов из внешней среды и мяса. Идентификация проводилась по классической схеме с использованием всех основных тестов. Ниже, в таблице 1 приведены параметры морфо - культуральные и биохимические показатели изолятов и штаммов *Vac. anthrax*, которые были типичными для этого микроба.

Таблица 1. Морфо - культуральные и биохимические характеристики изолятов и штаммов *Vac. anthracis*

Номер изолята и штамма в коллекции	Место выделения	Характеристика штамма						Биохимическая активность										
		Морфология микроба по граму	МФА со специфической связороткой	Спорообразование	Каталитическое образование	Рост на агаре Хоттин-гера	Рост на бульоне Хоттингера	Гемолитическая	Фосфатазная	Лецитиназная	Подвижность	Тест "жемчужное ожерелье"	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.				
ВА-83Н/20101	с/у Кызыл-Туу, с.Таштак (Сыдыков М.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.
ВА-37Н/20101	а/о Акман, уч. Жаны-Акман (Жээнбекова З.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.
ВА-83Н/20101	с.Соку-Таш, с/у Кызыл-Туу (Насирдинов К.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.

**Жалал - Абадская область, Сузакский р-н**

ВА-121Н/20101	с/у Кызыл-Туу, с. Кочкор-Ага (Ботобаева Т.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.	
ВА-131Н/20101	с.Кызыл-Байрак, ул.Мир-сайтова, 39 (Кармышаков М.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.	
ВА-137Н/20101	с.Кызыл-Коль, с.Ак-Тоок (Мусанова З.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.	
ВА-141Н/20101	с.Сузак, ул.Панфилова, 2 (Атажанов А.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.	
<b>Ноокенский р-н</b>																			
ВА-41Н/20101	с.Момбеково, ул.Масирова 11 (Арапбаева У.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.	
ВА-44Н/20101	с.Момбеково, ул.Масирова 6 (Минбаева А.)	палочка, грамм +	4+	+	+	типичный	типичный	.	.	.	.	.	.	+	полный лизис	+	Чувствительность к синергическому бак-терифагу	Вирулентность для лаб. жив.	



ВА-48Н/20101	с.Момбеково, ул.Масирова 13 (Абдырхман кызы Айтурек,)	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+
<b>Аксайский р-н</b>																	
ВА-98Н/20101	с.Аксы (Осмонбекова К.)	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+
<b>Базар-Коргонский р-н</b>																	
ВА-114Н/20101	с.Акман, уч.Кыш-Так (Тажобаева А.)	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+
<b>Ошская область,</b>																	
<b>Каракулджинский район</b>																	
ВА-72Н/20100	с.Кара-Кульджа, ул.Мамагбай у К. (Карыбеков Т.)	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+
ВА-70Н/20100	с.Кара-Кульджа, ул.Бекен (Тыныбаев А.)	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+

ВА-68Н/20100	а/о Сарыбулак, уч.Кызыл-Булак (Атыбеков Ж.)	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+
ВА-64Н/20100	с.Кара-Кульджа, ул.Бекен (Шамат у. Толкубек, )	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+
ВА-62Н/20100	с.Кара-Кульджа, ул.Бекен (Раимжанов А.)	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+
<b>г.Ош</b>																	
ВА-77Н/20100	г.Ош, а/о Жапалак, ул.Усубалиева, 32 (Эркин у. Зайнаш)	палочка, грамм +	4+	+	+	+	+	+	+	+	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	ТИПЧЫЙ	+	+	ПОЛНЫЙ ЛИЗИС	+

Для проведения исследований образцов изолятов и штаммов методом ПЦР – Реал Тайм, проводилась работа по подготовке проб. Все пробы предварительно были обработаны антибиотиком и прогреты при температуре 1000С на водяной бане, в течение 60 минут. Данной обработкой была снижена патогенность сибирезвенного микроба, но были сохранены все его основные антигенные и генетические свойства.

Затем пробы обработали специальными реагентами для выделения генетических компонентов, а затем была проведена техническая подготовка проб для последующего анализа.

Полученные пробы были помещены в систему Реал Тайма для выделения и накопления основных генетических копий *V.Anthraxis*. В ходе амплификации получены генетические копии основных показателей, таких как рХ 02 (капсульный), рХ01 (токсикообразующий).

Во всех материалах присутствовали основные гены возбудителя сибирской язвы.

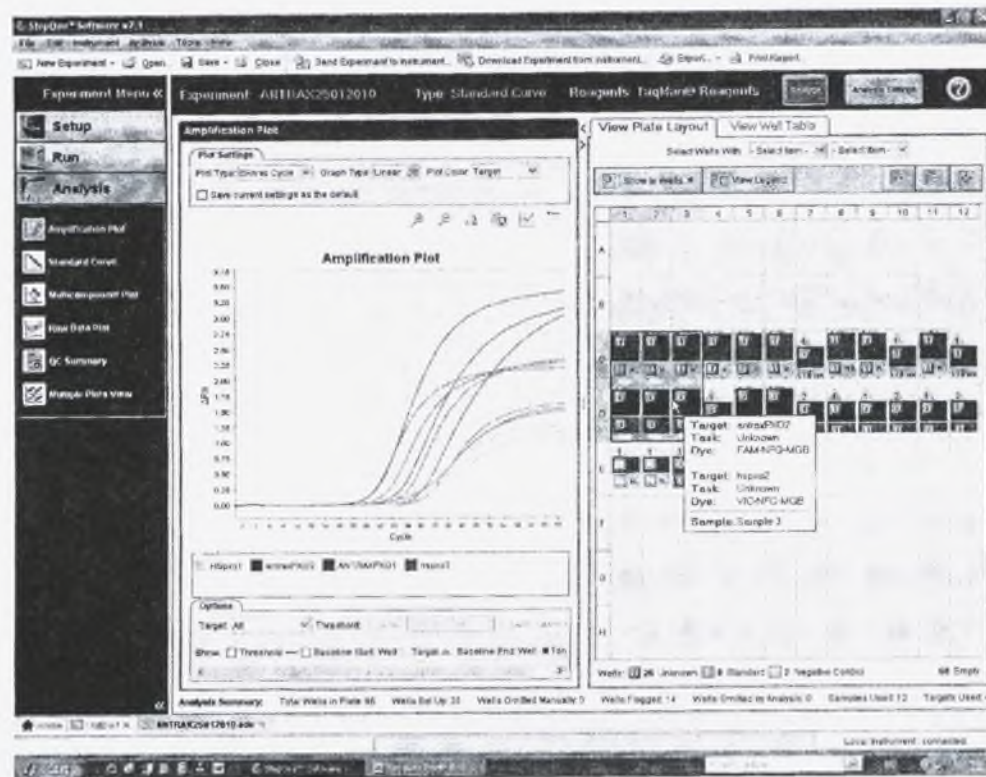


Рис. 1 Результаты амплификации штамма сибирской язвы

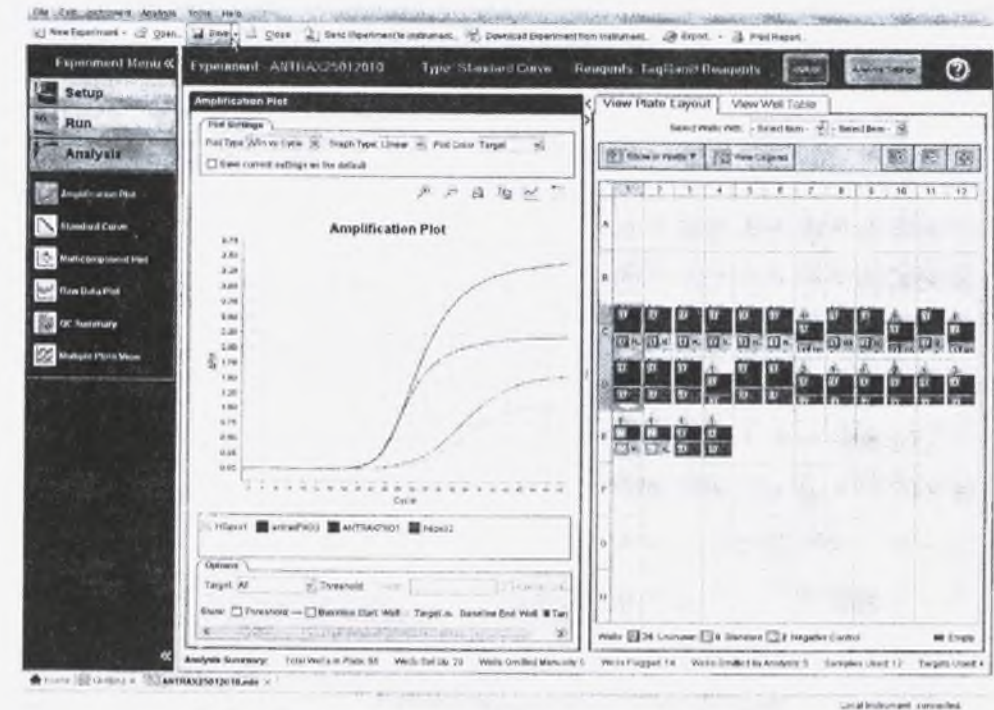


Рис.2 Результаты амплификации одного из штаммов сибирской язвы

*V.Anthraxis* содержит в себе 2 плазида рХ01 (токсикообразующий) и рХ02 (капсульный).

Плазмид рХ01 содержит 3 токсинных гена – отечный (*stx*), протектиновый агент (*pag*), летальный фактор (*lef*). Имеются также гены регуляторы, отвечающие за синтез этих продуктов: положительный регуляторный синтез экзотоксина – *AtxA*, отрицательный регулятор синтез экзотоксина протектинового антигена (*PadR*) и группа генов обеспечивающих прорастание спор (*Der*). Плазмид (рХ01) может быть легко элиминирована из клеток под воздействием температурного фактора, в частности рекультивирование штаммов при 42-430С.

Плазмид рХ02 – наиболее значимый генопределяющий синтез капсулы: положительный регулятор синтеза D-глутаминовой кислоты (*AspA*) и дублированный (*AtxA*), а так же ген ограничивающий полимеризацию капсульной субстанции (*Der*). Вирулентность возбудителя сибирской язвы согласно последних данных связана с продукцией 3-х компонентного белкового токсина D- глутаминовой кислоты (*AspA*) входящей в состав капсулы микроба.

Элиминирующим агентом для капсульной рХ02 плазмиды является антибиотик новее - биоцин.

Капсула препятствует фагацитозу, защищает бактерии от бактерицидного действия жидкости организма, а так же способствует фиксации бруцеллы, что ведет к резким нарушениям обменных процессов, быстрой дегенерации и гибели организма.

Капсула сибирезвенного микроба, разрушается в организме резистентных или иммунизированных животных, но сохраняется в организме восприимчивых животных.

В исследуемом материале в общей концентрации генного материала основным была *Vac.anthraxis.*, в результате видно нарастание кривых свидетельствующих, что все 5 штаммов относятся к возбудителю *Vac.anthraxis.* и имеют факторы инвазии и токсогенности, состоящих из хромосомы и 2-х плазмид рХ01 и рХ02

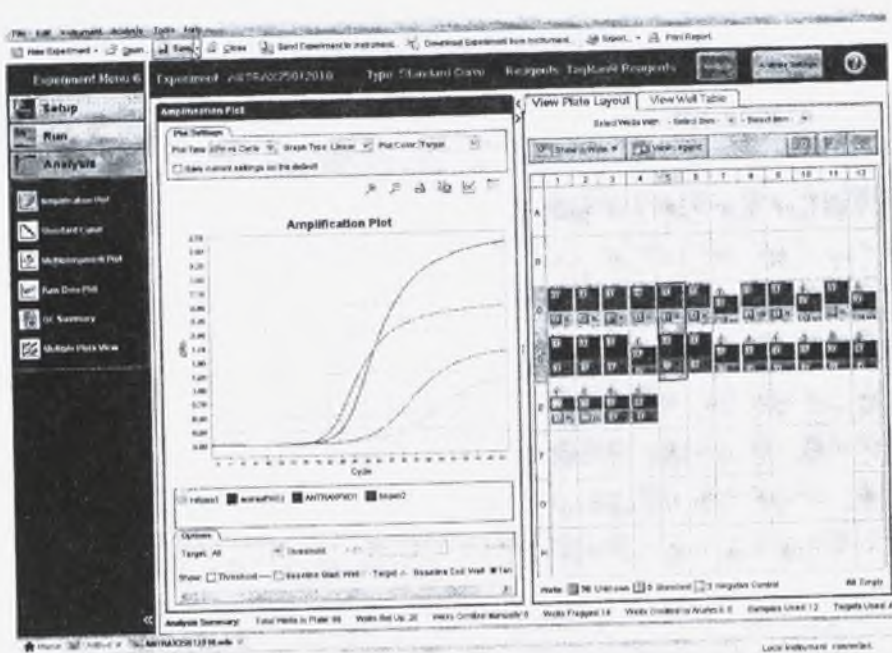


Рис. 3. Результаты амплификации при отсутствии рХО2 и присутствии рХО1

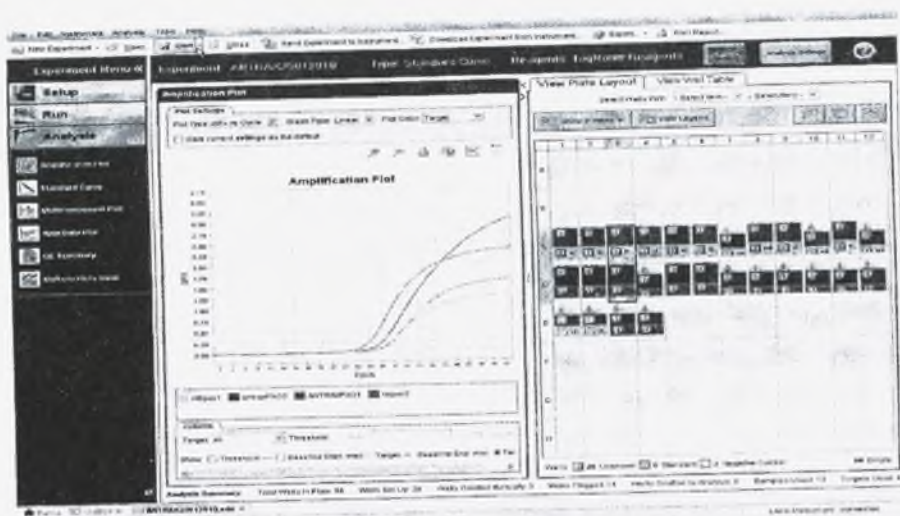


Рис. 4. Результаты ампликации штамма от больного из Жалал-Абадской области.

Ниже в таблице 2 и рисунках представлены результаты молекулярно-генетических исследований образцов ДНК *Vac. Anthracis*, выделенных на территории Кыргызской Республики, которые представлены в зонах 4-го уровня риска (Сузакский, Нокенский, Аксыйский, Базаркоргонский районы, Жалал-Абадской области, Каракульжинский район и г. Ош, Ошской области).

Таблица 2. Сводные данные ПЦР анализа 10 образцов штаммов сибирской язвы из Кыргызской Республики

Генотип	№ штам- мов	vrb1	vrta	vrb2	pXO1	vrtr1	pXO2	vrtr2	eg3	vntr16	Vntr	Vntr	Vntr	Vntr	Vntr23	Vntr35
GEN_4	Kyrgi_22	223	306	154	127	584	135	522	148	262	19	32	12	17	193	116
GEN_4	Kyrgi_12	223	306	154	127	584	135	522	148	262	90	563	110	381	193	116
GEN_3	Kyrgi_98	223	306	154	130	584	137	522	148	262	90	563	110	381	193	116
GEN_5	Kyrgi_80	223	306	154	127	584	137	522	148	262	90	563	110	381	193	116
GEN_5	Kyrgi_39	223	306	154	127	584	137	522	148	262	90	563	110	381	193	116
GEN_5	Kyrgi_131	223	306	154	127	584	137	522	148	262	90	563	110	381	193	116
GEN_1	Kyrgi_63	223	306	154	127	584	137	522	153	262	90	563	110	381	193	116
GEN_2	Kyrgi_136	223	306	154	127	584	137	522	148	262	90	501	110	381	193	109
КОН- ТРОЛЬ	foggia pos	223	306	154	124	584	133	594	148	262	93	501	110	381	193	109
0	kyrgi_7	223?	-	154	121	-	133	-	148	280	90	378	-	-	193	116
0	Kyrgi_48						133							381	193	109

Анализ выделенных изолятов и штаммов *Vac. anthracis* проводился в сравнении с положительным контролем (*Vac. anthracis*, штаммом Ames) и отрицательным контролем (вода).

По связыванию VIC или FAM праймеров с исследуемыми пробами следовало выявить однонуклеотидные замены. Данные таблицы 2 и рисунков 5 и 6 показывают, что практически по всем триадаги локусам результаты сходны с положительным контролем.

B. anthracis					
	kyrgi_7	vrrb1	vrra	vrrb2	pXO1
GEN_5	Kyrgi_39	223	306	154	127
GEN_4	Kyrgi_22	223	306	154	127
GEN_4	Kyrgi_12	223	306	154	127
GEN_3	Kyrgi_98	223	306	154	130
GEN_5	Kyrgi_80	223	306	154	127
GEN_1	Kyrgi_63	223	306	154	127
	Kyrgi_48			154	124
GEN_2	Kyrgi_136	223	306	154	127
GEN_5	Kyrgi_131	223	306	154	127
	foggia_pos	223	306	154	124

**UPGMA Tree**  
8/8 strains selected

vrrc1	pXO2	vrrc2	cg3	vntr16	vntr19	vntr32
	133		148	280	90	378
584	137	522	148	262	90	583
584	135	522	148	262	90	563
584	135	522	148	262	90	563
584	137	522	148	262	90	563
584	137	522	148	262	90	563
584	137	522	148	262	90	563
584	137	522	153	262	90	583
	133			280	90	400
584	137	522	148	262	90	501
584	137	522	148	262	90	563
620	133	594	148	262	93	501

vntr12	vntr17	vntr23	vntr36
		193	116
110	381	193	116
110	381	193	116
110	381	193	116
110	381	193	116
110	381	193	116
110	381	193	116
		193	109
110	381	193	109
110	381	193	116
110	381	193	109

Рис. 5

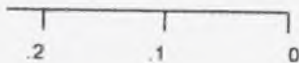
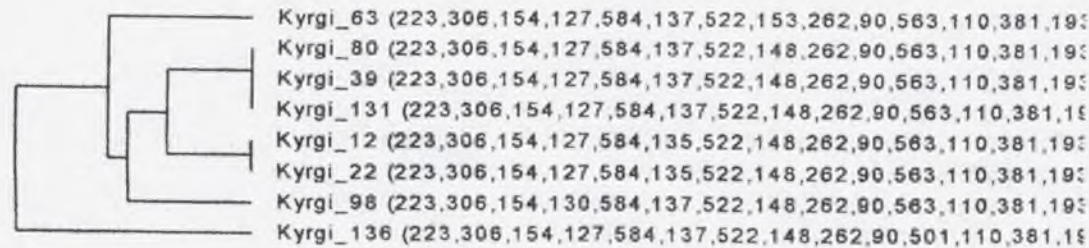


Рис. 6

Генотипирование штаммов *Bac.anthraxis* проводилось по однонуклеотидному полиморфизму локусов с использованием проб Tagman minor groove binding (MGB) на основе Реал Тайм ПЦР. Данный анализ позволил установить специфические нуклеотиды по тринадцати различным локусам, разбросанным по всему геному. Метод применен согласно Van Ert et al.(2007).

Анализ образцов штамма *Bac.anthraxis* проведен на уровне разрешающей способности метода MLVA 8, основанная на изменчивости тандемных повторов. Для генотипирования использованы шесть хромосомных и два локуса плазмидных маркеров (vrr A, vrr B1, HcvrrC1, HcvrrC2, CG3, pXO1, pXO2). Полученные результаты показали, что большинство исследованных штаммов имеют одинаковый качественный набор тринуклеотидных повторов за исключением плазмидного маркера pXO 2. Таким образом, разрешаемая способность метода MLVA 8 недостаточно эффективна для двунуклеотидного повтора в данном случае.

Анализ филогенетического древа изолятов и штаммов *Bac. Anthracis*, выделенных на территории Кыргызской Республики и сравнение их с каталогизированными штаммами других стран показали, что согласно различиям между маркерами и полученным результатам по характеристикам варибельного числа тандемных повторов, штаммы из Кыргызской Республики являются ветвью A<sub>3</sub> в между 61 и 62 штаммами Jer (Stern) из США и Великобритании.

**Литература**

1. Andrea Ciammaruconi et al//Fieldable genotyping of Bacillus anthracis and Yersinia pestis based on 25-loci Multi Locus VNTR Analysis // BMC Microbiology, 2008
2. P.Keim et al // Multiple-Locus Variable-Number Tandem Repeat Analysis Reveals Genetic Relationships within Bacillus anthracis//Journal of Bacteriology//Vol.182, #10, 2000//p.2928-2936
3. Florigio Lista et al // Genotyping of Bacillus anthracis strains based on automated capillary 25-loci Multiple Locus Variable-Number Tandem Repeats Analysis//BMC Microbiology, 2006
4. Циганкова О.И., Еременко Е.И., Рязанова А.Г., Циганкова Е.А. Перспективы применения генотипирования Bacillus Anthracis в эпидемиологическом анализе./ Эпидемиология и инфекционные болезни, -№ 1, - 2006. - С. 24
5. Бакулов И.А., Гаврилов В.А., Семиверсов В.В.. Сибирская язва (Антракс). Новые страницы в изучении «старой» болезни. - Вольгинский.- 2000. - 288с.
6. Junushov A.T. Development of extremely dangerous diseases (anthrax etc) under the conditions of transition. Veterinary medicine. Moscow 2001. N3. P.11-12
7. Van Ert, M.N., Easterday, W.R., Huynh, L.Y.,Okinaka, R.T., Hugh-jones, M.E., Ravel, J., et.al. Global Genetic Population Structure of Bacillus anthracis. PLoS ONE, 2, e461.2007

УДК 619: 636: 599.325 (575.2)(04)

## ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА ВИРУСНОЙ ГЕМОМОРРАГИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНИ КРОЛИКОВ В КЫРГЫЗСТАНЕ

Институт биотехнологии НАН КР

*Карыбек уулу Самат - аспирант*

В статье показаны изучение патоморфологических изменений внутренних органов больных и павших животных от геморрагической болезни кроликов (ВГБК)

*Ключевые слова:* патоморфологическая диагностика, инфекционная активность, дистрофия, некроз.

## КЫРГЫЗСТАНДАГЫ КОЁНДОРДУН ШҮҮШҮНДҮҮ ЫЛАҢЫНЫН ПАТОМОРФОЛОГИЯЛЫК ДИАГНОСТИКАСЫ

Илимий макалада коёндун шүүшүндүү ылаңы менен ооруган жана өлгөн жаныбарлардын ички органдарындагы патоморфологиялык өзгөрүүлөрү көрсөтүлгөн.

*Негизги сөздөр:* патоморфологиялык диагностика, жугуштуулук активдүүлүгү, дистрофия, некроз.

### “Pathomorphological diagnosis of viral hemorrhagic disease for rabbits”

The article describes the study of pathological and morphological modifications of internal organs of sick and dies animals from hemorrhagic disease for rabbits (HDR)

*Key words:* pathological and morphological diagnosis, infectious activity, dystrophy, necrosis.

Вирусная геморрагическая болезнь кроликов (ВГБК) – это остро протекающая болезнь, определяющаяся случаями геморрагического состояния организма во всех органах, больше всего в печени и лёгких. Болеют только кролики. Люди и другие животные не заражаются. Возбудитель геморрагической болезни кроликов – вирус, содержащий РНК и относящийся к семейству калицивирусов. Степень болезнетворности возбудителя очень высока. Без снижения вирулентности возбудитель сохраняется до минус 50 градусов более 5 лет. Чувствительны к возбудителю кролики старше 3 месяцев и весом 3 килограмма. Молодые животные не подвергаются воздействиям возбудителя. Инкубационный период продолжается от 2 часов до 4 дней. Геморрагическая болезнь кроликов длится до 2 дней. Передаётся через корм, воду, подстилку, инфицированных больных кроликов. Также через человека, пух и шкурки больных животных. В шкурках вирус сохраняется в течение 3 месяцев хранения.

Геморрагическая болезнь кроликов опасна тем, что клинически никак не проявляется, при молниеносном сверхостром течении симптомы не проявляются. Иногда может наблюдаться затруднённое дыхание, воспаление век, посинение губ и слизистых. При остром течении геморрагической болезни кроликов через 2-4 суток после инфицирования у кроликов наблюдаются расстройства нервной системы, признаки угнетения, судорожные движения конечностей. Животные раздражительны, отказываются от корма, запрокидывают голову, стонут и пищат. За 1,5 дня до гибели у кроликов может подняться температура до 40,7 градусов. Перед смертью могут появиться выделения из носа желтоватого или зеленовато-красного цвета.

Диагноз ставится на базе лабораторных анализов. Для профилактики проводится вакцинация.

#### Материалы и методы

Для изучения вируса ГБК из штамма «КБ-биотех», использовали три ампулы с вирусом, на уровне второго пассажа на кроликах, павших от введения им 10% суспензии печени от кроликов, павших в городе Кара-Балта (инфекционная активность не ниже 104,0 ЛД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>). В каждую ампулу вносили стерильный растворитель (дистиллированная вода или физиологический раствор, рН 7,0-7,4) до объема, указанного на этикетке. Затем содержимое ампул объединяли и из общей пробы готовили разведение вируса на физиологическом растворе таким образом, чтобы в конечном раз-

ведении содержалось 100 ЛД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Указанное разведение вируса вводили внутримышечно 5 кроликам в объеме 1,0 см<sup>3</sup>. Инфицированных кроликов содержали в оборудованном инфекционном виварии, в индивидуальных металлических клетках.

У инфицированных кроликов через 15-25 ч отмечали характерные клинические признаки болезни: угнетение, отказ от корма, повышение температуры тела до 40,7°C, носовое кровотечение и гибель в течение 24-96 ч. Трупы животных погружали на 5-10 мин в раствор марганцовокислого калия (1:10000), затем в лабораторной комнате инфекционного вивария подвешивали на вешалки, снимали шкурки, обрабатывали брюшную полость раствором марганцовокислого калия (1:10000), разрезали брюшные мышцы по белой линии, извлекали внутренние органы.

#### Патоморфологические изменения ВГБК

Макроскопические и наиболее значительные изменения отмечали в органах дыхания. Легкие были кровенаполнены, интенсивно отечны и неравномерно окрашены, у естественно больных кроликов имели серовато-розовый цвет с единичными или множественными точечными и пятнистыми кровоизлияниями под плеврой. С поверхности их разреза стекала красная или почти бесцветная жидкость, из бронхов при надавливании выделялась пенный экссудат. Закономерностей в локализации патоморфологических изменений в какой-либо доле легкого (верхушечная, сердечная, диафрагмальная) не установили: поражились все доли сразу, либо преимущественно та или иная часть. Стенки трахеи, носовых полостей, в меньшей степени гортани резко геморрагичны. Их красный цвет чаще обуславливалась венозная гиперемия, а не редкие кровоизлияния. Просвет трахеи и гортани заполняла красноватая или бесцветная пенная жидкость. Шерсть вокруг носа у отдельных особей загрязнена кровянистыми истечениями. Изменения в печени были постоянны, но не всегда однотипны и обусловлены степенью ее кровенаполнения, что вызывало изменение цвета, объема и консистенции. В первые минуты после гибели животного печень обычно резко наполнена кровью, увеличена в объеме, легко рвалась, имела красновато-коричневый цвет с желтоватым оттенком в центральных участках долей. Капиллярная сеть органа имела вид красных черточек и точек неправильной формы. Иногда под капсулой органа наблюдали точечные геморрагии. Через несколько часов после гибели печень обычно

имела светло-коричневый цвет, плотную консистенцию, заостренные края. С поверхности разреза, представляющего собой однородную массу, кровь не стекала, а по виду была заметна лишь в крупных сосудах, орган напоминал «вареную» печень. Желчный пузырь содержал немного желчи, его слизистая была шероховатой, немного отслаивалась. Селезенка в 1,5-3 раза увеличена в объеме, набухшая, темно-вишневого цвета с характерным лиловым оттенком. Почки резко наполняются кровью, обретают красно-коричневый цвет и увеличиваются в несколько раз. Тимус был слегка покрасневшим, нередко с множественными точечными или пятнистыми кровоизлияниями в грудной части. Лимфатические узлы были сочными, серовато-розового, реже красного цвета, в размерах существенно не менялись (за исключением регионарных мест введения вируса у экспериментальных животных). Сердце (особенно его правая половина) было заполнено большим объемом черно-красной крови, увеличено в объеме, стенки желудочков растянуты, истончены, имели дряблую консистенцию. Множественные точечные и пятнистые кровоизлияния под эпи- и эндокардом часто встречались у естественных больных кроликов и очень редко в эксперименте. Изменения в желудочно-кишечном тракте характеризовали катаральное (реже катарально-геморрагическое) воспаление, иногда кровоизлияния в двенадцатиперстной и прямой кишках, отслоение слизистой желудка.

Патологоанатомические изменения в других органах были выражены слабее и менее постоянны. В форме геморрагии их иногда находили в матке и надпочечниках, в виде застойной гиперемии - в половых органах, зубной железе, головном мозге. По тяжести, постоянству и диагностической значимости гистологических изменений органы можно расположить следующим образом: печень, органы дыхания, почки, селезенка, сердце, головной мозг, тимус и другие органы.

У павших животных печень поражалась в 100% случаях. Первичные изменения (дистрофия и некроз отдельных клеток) появлялись в отличие от других органов уже через 12 часов после экспериментального заражения.

Иногда, в основном у кроликов, павших в течение первых суток после заражения, некротические изменения были выражены

в перипортальной ткани печеночных долек. Изменения в легких характеризовали отек и диффузные, реже очаговые кровоизлияния. Патология почек состояла из нарушения микроциркуляции и процессов некротического характера и затрагивала слой коры и мозговые слои. В селезенке наблюдали практически полное отсутствие форменных элементов крови, отек ретикулярного каркаса был ярко выражен. Миокард находился в состоянии зернистой дистрофии, сердечные сосуды были наполнены кровью, соединительная ткань отекала, иногда пронизана эритроцитами. Идентичные нарушения гемодинамики возникали в тимусе и лимфатических узлах. Изменения в других органах, кроме головного мозга, где довольно часто отмечали негнойный энцефалит, не были стабильны и существенного значения в патологии болезни не имели.

Проведенные исследования позволили сделать вывод, что тяжелые поражения печени - основной момент в патогенезе ВГБК, чем и объясняется ее скоротечность и летальный исход. В данном органе раньше, чем в других накапливался возбудитель, и развивались несовместимые с жизнью патоморфологические изменения. Появившиеся в других органах на заключительном этапе развития болезни патологические изменения (расстройство гемодинамики, некротические процессы) - результат резкого нарушения функции печени. Развившийся отек легких был главной причиной гибели животных.

#### Литература:

1. Инфекционные болезни молодняка сельскохозяйственных животных. Крупальник В.Л., Куриленко А.
2. Шевченко А.А. Эффективность термоинaktivированной болезни кроликов / А.А. Шевченко // Вестник Российской академии вакцины против вирусной геморрагической Н сельскохозяйственных наук. - 1994. - № 4. - С. 53-55.
3. Жаров А.В., Иванов И.В., Стрельников А.П. Вскрытие и патоморфологическая диагностика болезней животных. - М: Колос, 2000. - 397 с.

УДК: 578.57.083.2

### СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ РЕЖИМА ИНАКТИВАЦИИ ВИРУСА БЛУТАНГА БЕТА-ПРОПИОЛАКТОНОМ

*К.Д. Жугунисов - аспирант института*

*А.Т. Жунушов - член-корреспондент НАН КР, доктор ветеринарных наук, профессор, директор Института биотехнологии НАН КР*

В данной статье представлены результаты работы по совершенствованию режима инаktivации вируса блутанга с использованием бета-пропиолактона в различных концентрациях.

*Ключевые слова:* Блутанг, вирус, инаktivация, бета-пропиолактон.

### БЛУТАНГ ВИРУСУНУН БЕТА-ПРОПИОЛАКТОН МЕНЕН ИНАКТИВДЕНДИРҮҮ РЕЖИМИН ЖАКШЫРТУУ

Бул макалада блутанг оорусуна каршы инаktivделген вакцина даярдоо үчүн блутанг вирусун бета-пропиолактондун ар түрдүү концентрациясы менен инаktivдендирүү режимин жакшыртуу боюнча жасалган жумуштардын натыйжалары көрсөтүлгөн.

*Негизги сөздөр:* Блутанг, вирус, инаktivдендирүү, бета-пропиолактон

### IMPROVING THE BETA-PROPIOLACTONE INACTIVATION MODE OF THE BLUETONGUE VIRUS

This article presents the results of work to improve the mode of inactivation of the bluetongue virus with beta-propiolactone in various concentrations.

*Keywords:* Bluetongue, virus, inactivation, beta-propiolactone

Одним из наиболее важных и сложных вопросов в системе противоэпизоотических мероприятий при блутанге является вакцинация. Для профилактики блутанга в мире разработаны моно [1, 2], поливалентные живые [3] и инактивированные вакцины [4-7]. Инактивированные вакцины для профилактики блутанга широко применяют на практике в силу их ряда преимуществ перед живыми препаратами.

Важным условием эффективности инактивированных вакцин является количество и качество вирусного антигена, выбор инактиванта и оптимальных условий инактиваций, позволяющих полностью лишить вирус инфекционности при максимальном сохранении антигенной активности [8].

На процесс инактивации влияют следующие факторы: концентрация инактиванта, продолжительность воздействия, pH и температура реакционной среды. Следует отметить, что инактивация должна быть не только эффективной, но и максимально падающей. Иными словами, сопутствующие изменения в структуре вирусных частиц и их компонентов должны быть минимальными. Однако механизм инактивирующих воздействий во многих отношениях недостаточно выяснен, и их использование зачастую носит эмпирический характер. Необходимо выбрать оптимальные «щадящие» условия инактивации, при которых не снижается исходная антигенная активность возбудителя, а инфекционная активность полностью утрачивается [8].

В производстве инактивированных вакцин, в том числе против блутанга, наиболее широко применяются формальдегид, димерэтиленмин (ДЭИ) и бета-пропиолактон (БПЛ). В сравнительном аспекте, по результатам ранее проведенных исследований среди указанных химических веществ, более щадящим инактивантом для вируса блутанга являлся БПЛ [9]. Однако, исследование ограничивалось всего лишь выбором инактиванта и определением отдельных параметров инактивации. Важным условием получения качественного вирусного антигена, является выбор инактиванта и определение оптимальных условий инактивации, позволяющих полностью лишить вирус инфекционной активности при максимальном сохранении антигенности.

Цель нашей работы усовершенствование режима инактивации БПЛ вируса блутанга, изучение влияния концентрации инактиванта, pH реакционной среды, температуры, продолжительности процесса инактивации, и влияние данных параметров на антигенные свойства вируса.

#### Материалы и методы

##### Проведение эксперимента

В эксперименте использовали вирусосодержащую суспензию (ВСС) штамма «RT-RIBSP 07/16» вируса блутанга, наработанную в культуре клеток почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21) с инфекционной активностью  $6,75 \pm 0,12 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$  и антигенной активностью 1:64. В качестве инактиванта использовали бета-пропиолактон (БПЛ) очищенный 98%. Для инактивации вируса готовили 8% рабочий водный раствор.

Для инактивации вируса блутанга в ВСС добавляли раствор БПЛ в конечных концентрациях 0,05%, 0,1% и 0,2%. Инактивацию вируса проводили при температурах 4, 22 и 37°C. Величину pH среды устанавливали в диапазонах 6,5-6,9; 7,0-7,4 и 7,5-8,0. Проверку процесса инактивации проводили отбором образцов проб через каждые 1 ч в течение всего периода инактивации для определения снижения инфекционной активности вируса и оценки сохранности антигена. Остаточное содержание БПЛ в пробах нейтрализовали путем добавления 25%-го рабочего раствора тиосульфата натрия в конечной концентрации 0,25%.

Инфекционная активность вируса определялась по общепринятой методике с учётом результатов титрования по методу L. Reed и H. Muench и выражением в  $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ .

Оценку сохранности антигенной активности вируса блутанга проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа (ТФ-ИФА).

Полноту инактивации вируса проверяли в культуре клеток ВНК-21 путём трёхкратного пассирования и интрацеребральным заражением мышат-сосунов 3-5 сут. возраста. Авирулентными считали инактивированные суспензии, из которых вирус не проявлял цитопатическое действие при пассировании в культуре клеток и не вызывал гибели мышат.

#### Результаты исследований

Инактивация БПЛ вируса блутанга в конечных концентрациях 0,05, 0,1 и 0,2% при разных температурных режимах

При инактивации БПЛ применяли разные температурные режимы. Результаты исследований оценивали по кривым инактивации, представленным на рис. 1, 2 и 3.

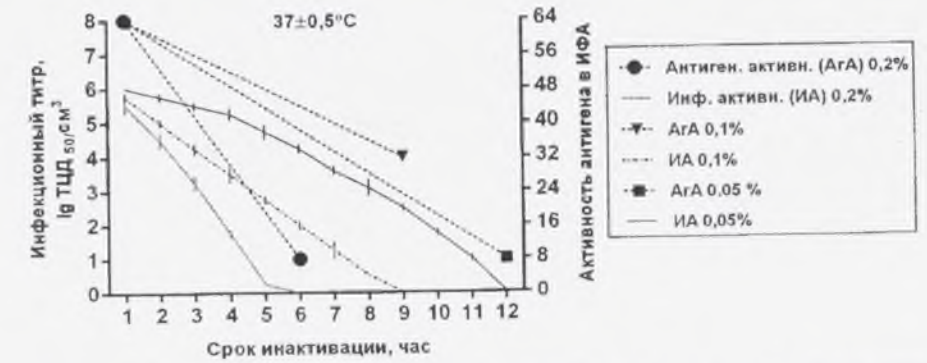


Рис. 1. Кинетика инактивации БПЛ штамма «RT-RIBSP 07/16» вируса блутанга при температуре  $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$

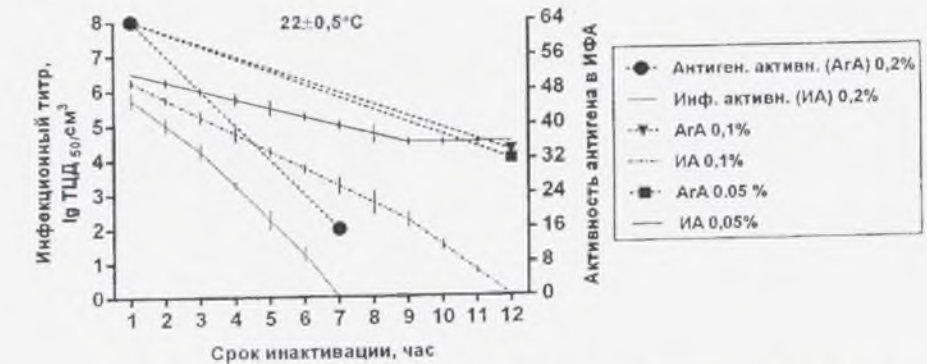


Рис. 2. Кинетика инактивации БПЛ штамма «RT-RIBSP 07/16» вируса блутанга при температуре  $(22 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$

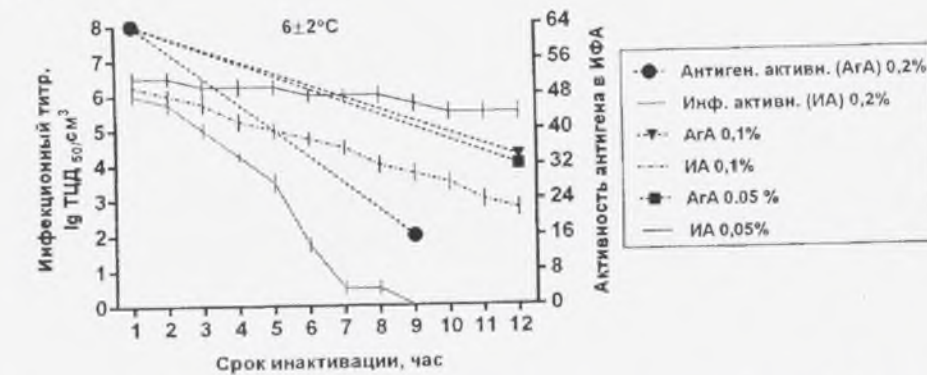


Рис. 3. Кинетика инактивации штамма «RT RIBSP07/16» вируса блутанга БПЛ при температуре  $(6 \pm 2) ^\circ\text{C}$

Из данных рис. 1, 2 и 3 видно, что полная потеря инфекционной активности вируса при инаktivации БПЛ в конечной концентрации 0,2 % и температурах  $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$ ,  $(22 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  и  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  наступает на 9, 7, и 6 ч., соответственно. При концентрации инаktivанта 0,1% вирус теряет инфекционную активность через 9 ч., снижение концентрации БПЛ до 0,05 % и температура  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  увеличивают время, необходимое для инаktivации вируса до 12 ч. (рис. 1).

На рис. 2 в виде кривой линии изображена скорость инаktivации вируса блутанга БПЛ при температуре  $(22 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ . Как видно из рисунка, при воздействии 0,1 % концентрации инаktivанта в течение 12 ч. происходит полная инаktivация инфекционной активности вируса блутанга, а при 0,05 % концентрации БПЛ за 12 ч. инфекционная активность вируса снижалась на  $1,50 \text{ Ig TЦД}_{50}/\text{см}^3$ . Опыты показали, что обработка вируса БПЛ в указанной концентрации не приводит к дальнейшему снижению его инфекционной активности.

На рис. 3 графически изображена динамика инаktivации блутанга БПЛ при температуре  $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$ . Как видно из рисунка, при концентрациях 0,05 % и 0,1 % активность вируса за 12 ч снижается на  $1,50 \text{ Ig TЦД}_{50}/\text{см}^3$  и  $3,0 \text{ Ig TЦД}_{50}/\text{см}^3$ , соответственно. Увеличение продолжительности обработки вируса БПЛ в указанных концентрациях не приводит к дальнейшему снижению его активности.

Инфекционная активность вируса в контроле (без инаktivанта) в течение 12 ч. инкубирования при температуре  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  снизилась на  $0,25 \pm 0,01 \text{ Ig TЦД}_{50}/\text{см}^3$ , при температурах  $(6 \pm 2)^\circ\text{C}$  и  $(24 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  титр вируса оставался на исходных уровнях.

Антигенная активность вируса при инаktivации БПЛ в конечной концентрации 0,1 % вне зависимости от температурных условий сохранилась максимально в течение всего срока наблюдения. В более минимальной

(0,05%) и высокой концентрации БПЛ (0,2%), при всех испытанных температурных режимах антигенная активность вируса снижалась на 2-3 порядка. Антигенная активность вируса в контрольных пробах в процессе всего периода инаktivации оставалась на исходном уровне.

Анализируя приведённые выше результаты исследований, можно отметить, что БПЛ в концентрации 0,1% при температуре  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  в течение 9 ч. полностью разрушает инфекционные свойства вируса блутанга, сохраняя при этом его антигенную активность. Отработанные вышеизложенные параметры инаktivации вируса блутанга БПЛ являются не окончательными для получения высокоактивного инаktivированного материала. С этой целью в дальнейших экспериментах нами были проведены исследования по подбору pH реакционной среды, способствующей получению инаktivированного вируса блутанга с более высокой антигенной активностью.

*Инаktivация вируса БПЛ при разных значениях pH реакционной среды*

В ходе проведенного исследования было установлено, что оптимальная инаktivация вируса достигается БПЛ в концентрации 0,1 % при температуре  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ , pH раствора не оказывает влияния процесс инаktivации. Однако при pH (6,5-6,9) снижение антигенной активности вируса проходит быстрее и к 12 ч активность антигена составляла 1:4 (рис. 4). А также при значении pH (7,5-8,0) антигенная активность вируса снизилась на 1 порядок, и составлял в титре 1:32. Наиболее продолжительный процесс инаktivации наблюдается при значении pH (7,0-7,4). При этом антигенная активность вируса оставалась на исходном уровне в течение всего срока инаktivации (рис. 4).

Таким образом, инаktivация вируса блутанга эффективнее протекает при pH инаktivанта, близких к нейтральному или слабощелочному значению (7,0-7,4).



Рис. 4. Кинетика инаktivации вируса блутанга БПЛ в концентрации 0,1% при разных значениях pH реакционной среды

*Проверка полноты инаktivации вируса блутанга*

Для изучения полноты инаktivации применяли метод обнаружения вируса из инаktivированных 0,1% препаратом в культуре клеток в течение 3 последовательных пассажей. В результате установлено, что каких-либо деструктивных изменений в монослое клеток не обнаружено. Далее определяли авирулентность инаktivированных материалов на 3-5 дневных мышатах-сосунках. В результате проведенных экспериментов все зараженные мышата – сосуны остались живыми, без проявления каких-либо клинических признаков болезни в течение 7 сут (срок наблюдения). Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследованные пробы являются авирулентными.

#### Обсуждение

Одним из проверенных и достаточно надежных химических агентов используемых для инаktivации вирусов является БПЛ. Данный инаktivант представляет собой высокоактивный алкилирующий агент, нестойкий в водных растворах и легко гидролизующийся с образованием безвредных веществ: гидроакриловой и бета-оксипропионовой кислот [8].

В настоящее время с использованием БПЛ изготовлены авирулентные, безвредные вакцины и диагностические препараты против клещевого энцефалита, ящура, полиомиелита, энцефаломиелита птиц, болезни Ньюкасла, чумы свиней и болезни Ауески [10, 11].

Инаktivация вирусов БПЛ зависит от концентрации, температуры, pH среды и содержания белка в вирусной суспензии. Действие БПЛ на вирусы детально изучено многими исследователями, которые полагают, что инаktivированный эффект этого реагента обусловлен реакцией с пуриновыми и пиримидиновыми основаниями нуклеиновых кислот. При этом протеиновая оболочка как носитель иммунной и антигенной активности вирусов остается неповрежденной. Для инаktivации вирусов обычно используют его в концентрации от 0,1 до 1 %, обработку ведут при температурах  $(4 - 37)^\circ\text{C}$  [12, 13].

Нами были проведены исследования по инаktivации вируса блутанга БПЛ в разных концентрациях при различных температурных режимах. В результате проведенных работ установлено, что БПЛ в концентрации 0,1% при температуре  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  в течение 9 ч. полностью разрушает инфекционные свойства вируса блутанга, сохраняя при этом его антигенную активность. Также были проведены исследования по влиянию pH среды на инфекционную и антигенную активности вируса при инаktivации. В ходе проведенного исследования было установлено, что инаktivация вируса в суспензиях достигается в концентрации 0,1% БПЛ при температуре  $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$  при испытанных значениях pH. Однако, наилучшие результаты были получены при значении pH (7,0-7,4). При этом полностью разрушены инфекционная активность вируса блутанга, тогда как антигенная активность вируса оставалась



на исходном уровне в течение всего срока инактивации.

Аналогичные исследования были проведены Т.Хлыбовой с соавторами в 1970-е годы. Результаты этих исследований показали, что при концентрации БПЛ 0,2 % при 4 °С вирус инактивируется в течение 24 ч., повышение концентрации до 0,4 % приводит к потере инфекционности за 8 ч. При проведении аналогичных исследований при температуре 37 °С было установлено, что при 0,2 % инактивация происходит за 4 ч., при 0,4 % за 1 ч. [13]. При этом было установлено, что в результате воздействия температуры 37°С инактивация вируса проходила быстрее, чем при 4 °С.

Селиверстов и др. [14] провели исследования по изучению влияния pH среды на инфекционную активность вируса инфекционной бурсальной болезни штамма «К-58» при инактивации аминотилэтиленмином и БПЛ в различных концентрациях и при различных pH. В результате установлено, что инактивация вируса инфекционной бурсальной болезни эффективнее протекает при значениях инактивантов, близких к нейтральному (pH 7,0).

Полученные нами результаты согласуются с литературными данными, однако при инактивации других вирусов необходимо учитывать их биологические особенности, а также устойчивость к физическим и химическим факторам, так как вирус блутанга репродуцируется и сохраняет свою инфекционную и антигенную активность при pH 7,0-7,5 [15]. Низкие значения pH можно использовать для инактивации тех вирусов, которые более устойчивы в данных условиях. Данный метод эффективен в отношении вирусов с оболочкой (капсидом), для других вирусов, его возможно, совмещать с повышением температуры.

#### Заключение

В данной работе показаны результаты исследований динамики инактивации вируса блутанга БПЛ с учетом влияния различных концентраций, температуры и pH реакционной среды на инфекционные и антигенные активности вируса блутанга. По завершении проведенных исследований оптимальными параметрами инактивации БПЛ вируса блутанга являются: конечная концентрация инактиванта

0,1%, температура реакционной среды (37±0,5) °С, значение pH реакционной среды (7,0-7,4), продолжительность инактивации 12 часов. При данном режиме инактивации сохраняются антигенные свойства вируса блутанга, что отражается на качестве и эффективности вакцин.

#### Литература

- Hunter P., Modumo J. A monovalent attenuated serotype 2 bluetongue virus vaccine confers homologous protection in sheep. Onderstepoort J Vet Res. 2001 Dec;68(4), -p.331-3.
- Dungu BK., Louw I, Potgieter Ch, Teichman B.F von. Attenuated Live Bluetongue Virus 8 Vaccine Protects Sheep from Challenge with the European BTV-8. The Open Veterinary Science Journal, 2008, 2, -p.130-133
- Zhugunisov K., Yershebulov Z., Barakbayev K., Bulatov Y., Taranov D., Amanova Z., Abduraimov Y. Duration of protective immunity after a single vaccination with a live attenuated bivalent bluetongue vaccine. Veterinary Research Communications, 2015. 39(4), -p.203-210.
- Eschbaumer M., Hoffmann B., König P., Teifke JP, Gethmann JM, Conraths FJ, Probst C, Mettenleiter TC, Beer M. Efficacy of three inactivated vaccines against bluetongue virus serotype 8 in sheep. Vaccine. 2009 Jun 24; 27(31), -p.4169-4175.
- Бальшева В.И., Закутский Н.И., Лантеева О.Г., Горшкова Т.Ф., Бальшев В.М., Цыбанов С.Ж., Новикова М.Б., Федоров Г.П., Дмитренко В.В., Нестеров Е.А. Эффективность инактивированной вакцины против вируса блутанга 8-го серотипа // Журнал Ветеринария, 2008. №11. – с.20-22
- Savinia G, MacLachlan N.J, Sanchez-Vizcaino JM, Zientarad S. Vaccines against bluetongue in Europe. Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases 31 (2008), -p.101-120
- Bhanuprakash V, Indrani BK, Hosamani M, Balamurugan V, Singh RK. Bluetongue vaccines: the past, present and future. Expert Rev. Vaccines, 2009, 8(2), -p.191-204
- Сергеев В.А., Непоклонов Е.А., Алипер Т.И. Вирусы и вирусные вакцины. – Москва: Библионека, 2007. -с.524
- Жугунисов К.Д., Абдураимов Е.О., Кошметов Ж.К., Нурабаев С., Таранов Д.С., Ажибаев А., Ершебулов З.Д. Выбор эффективного инактиванта и оптимизация условий инактивации вируса катаральной лихорадки овец. – КазАТУ им. Сейфулина, 2009. №2, - с.35-41
- Dermer O., Ham G. Ethyleneimine and other Aziridines // Acad. Press. New York, 1969. -p.65-68
- Denmark : revivig agter pseudorabies Pig American. 1983, 8(11), -p.48-49.
- Parker J., Hernimann K.A.J. & Gibbs E.P.J. (1975). – An experimental inactivated vaccine against bluetongue. Vet. Rec., 96, -p.284-287.
- Хлыбова Т.В. «Экспериментальная исследования по разработке метода приготовления инактивированной вакцины против КЛО». Дисс. на соискание уч.степ., канд.вет.наук. пгт Гвардейский, 1974 г.
- Селиверстов А.В., Борисов А.В., Кузнецов В.Н. Инактивация вируса инфекционной бурсальной болезни штамма «К-58». Труды федерального центра Охраны здоровья животных, т. VIII, Владимир, 2010. - с.148-155
- Сюрин В.И., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Диагностика вирусных болезней животных. Москва; ВО Агропромиздат, 1991. – с.393-400

УДК:619:616.981.55(575.2)(04)

## ЗАБОЛЕВАНИЕ ЛОШАДЕЙ БОТУЛИЗМОМ И МЕРЫ БОРЬБЫ

Институт биотехнологии НАН КР

*Р.С. Галиев - доктор ветеринарных наук, профессор  
Дж.Н. Темирова - кандидат ветеринарных наук*

Показана возможность применения эффективного и своевременного лечения 60% лошадей больных ботулизмом в острой и хронической форме.

*Ключевые слова:* ботулизм, токсин, антисыворотка, антибиотики, микробы.

## ЖЫЛКЫЛАРДЫН БОТУЛИЗМ ЫЛАҢЫ ЖАНА АГА КАРШЫ КҮРӨШҮҮ

Эффективдүү жана өз убагында дарылоо жолу менен ботулизмдин тез жана узакка созулган түрү менен ооруган жылкылардын 60 пайызын сактап калууга мүмкүнчүлүк бар экендиги далилденди.

*Негизги сөздөр:* ботулизм, токсин, антисыворотка, антибиотиктер, микробдор.

## ILLNESS OF HORSES BY BOTULISM AND PREVENTION CONTROL.

By effective and timely treatment was shown possibility to achieve recovery of 60% of horses which are ail with botulism in under-acute and mainly in chronic form.

*Key words:* botulism, toxin, antiserum, antibiotic, microbes

Ботулизм – это остро и тяжело протекающая болезнь с поражением центральной нервной системы, проявляющееся параличами глотки, языка, нижней челюсти, резким ослаблением тонуса скелетной мускулатуры, которое вызывается токсином, вырабатываемым возбудителем ботулизма *Cl.botulinus*. Токсин поступающий в желудочно-кишечный тракт с кормом всасывается в кровь, желчь, мочу и паренхиматозные органы, вызывает функциональные расстройства двигательной мускулатуры, сосудистые, приводящие к развитию кровоизлияний, застою и тромбозу в капиллярах.

Заболевание было впервые установлено в 1895г. Ван-Эрменгемом, выделившего возбудителя из трупа умершего человека. Ботулизм различных видов животных регистрируется во многих странах. В СССР заболевания ботулизмом наблюдались у лошадей, крупного и мелкого рогатого скота, свиней, птиц и пороков.

Заболевание встречается редко, но характеризуется высокой летальностью – 90-95% и поэтому наносит большой ущерб хозяйствам. Известны шесть типов возбудителя заболевания, при этом каждый тип вырабатывает свой специфический токсин, который нейтрализуется только гомологичной антисывороткой. Силу токсина характеризуют следующие данные: так 1 г. токсина может уничтожить 60 миллиардов мышей; 28г. токсина (одна унция) убивает 28 коров. Для человека смертельной является доза токсина равная 3500 мышинных летальных доз.

Токсин ботулинуса разрушается при кипячении через 15-20 минут, в плотной среде – через 2 часа. Желудочный сок не действует на токсин. Особенно устойчивы споры возбудителя, которые не погибают даже при кипячении в течение 6 часов. У лошадей ботулизм чаще всего вызывается токсином типа В, реже –А и С; у крупного рогатого скота – типами Д и С; у овец, пороков и птиц – типом С.

Микробы ботулизма широко распространены в природе. Их можно обнаруживать в почве, на различных растениях, фруктах, овощах, в испражнениях животных и птиц, в гниющих трупах животных, особенно в личинках мух, вылупившихся из яиц в таких трупах. Возбудитель попадает в корм различными способами: с частицами земли, фекалиями, испорченного силоса, отрубей, половы, сечки, а также самонагреваемых кормов – овса, ячменя, пшеницы. Тем самым, происходит размножение микроба и образование смертоносного токсина, который приводит к гибели животных.

Заболевание чаще всего наступает через 1-3 дня после приема животным токсического корма, при этом тяжесть и длительность болезни зависит от количества и силы токсина, в основном это бывает 8-12 дней. Острое течение болезни обычно длится 1-2 дня, реже 3-6 дней, при сверхостром, молниеносном течении болезни смерть наступает через несколько часов.

### Материалы, методы и результаты

На конеферме СХК «Ветка» Аламудунского района заболело с клиникой ботулизма 29 лошадей, из них 11 голов в сверх острой и острой форме, которая проявлялась следующими клиническими симптомами. У шести голов заболевание протекало в молниеносной форме, животные погибли в течение нескольких часов, без существенных клинических признаков, это форма отравления практически не поддается диагностике. У пяти лошадей заболевание протекало в острой форме в течение полутора-двух суток и сопровождалось резким расслаблением скелетной мускулатуры, параличами глотки, языка, нижней челюсти. Больные лошади вставали с трудом и вскоре снова ложились (рис.1), при этой форме заболевания клинические симптомы выражены наиболее ярко. Эти лошади пали в течение двух суток.



Рис.1. Лошади больные ботулизмом

Вышеуказанные 11 голов лошадей получили с лечебной целью антитоксическую сыворотку против *Cl. botulinus* типов А и В двукратно с интервалом пять часов в дозе 700 тыс. АЕ на одну внутривенную инъекцию. Кроме

этого, применяли целый ряд лекарственных препаратов, которые вводили внутривенно с физиологическим раствором. Однако, применяемые меры лечения не дали положительного результата.

У 18 голов лошадей заболевание протекало относительно медленно, отмечалось вялость жевания, слюнотечение, частная зевота, в этот период язык лошади, вынутый из рта, медленно вытягивается обратно. Спустя некоторое время наступал паралич глотки, у лошадей сохранялся аппетит, усиливалась жажда. Предложенный корм пережевывался непрерывно, но он не проглатывался и вываливался из рта, воду тоже не могли пить (рис.2). У больных лошадей постепенно расслаблялась скелетная мускулатура, они с трудом передвигались, походка становилась шаткой, терялся голос.



Рис. 2. Лошадь, больная ботулизмом, которая не может проглотить

С лечебной целью больным лошадям ежедневно вводили внутривенно 15-18 л физиологического раствора, три литра 5%-ного раствора глюкозы, 10 мл раствора хлористого кальция двукратно в день, 5 мл кофеина, 20 мл катазала, 0,5 л 40%-ного раствора алкоголя, 20 мл флуниксина, 10мл церулина, по три литра дважды в день растворы реополиглюкина и Рингера, по 100 мл дважды в день раствор гипосульфита, 100 мл аскорбиновой кислоты. Для опорожнения кишечника ежедневно делали глубокие теплые клизмы.

В зависимости от тяжести заболевания лечение продолжалось в течение 12-16 дней. Своевременное применение трудоемкого и затратного метода лечения позволило добиться выздоровления лошадей больных ботулизмом

в острой и в основном в хронической форме заболевания.

Затраты на лечение больных были большими и в зависимости от тяжести заболевания на каждую лошадь было израсходовано медикаментов на 15-20 тыс.сомов.

#### Профилактика

С целью профилактики ботулизма необходимо обеспечивать животных доброкачественными кормами. При заготовке и хранении кормов необходимо избегать загрязнения их землей, следить за уборкой и очисткой кормушек от остатков корма. Нельзя давать животным заплесневелый и загнивший корм, немедленно устранять из рациона подозрительные на наличие токсина корм. Большое значение для профилактики ботулизма имеет способ заготовки и скирдования сена. В стогах сена сложеного даже из частично влажного происходит самонагревание, что создает условия для размножения возбудителя ботулизма и образования токсина. Зернофураж при хранении в условиях с повышенной влажностью подвергается самонагреванию, что благоприятствует развитию попавших с землей спор ботулинуса.

#### Выводы:

1. Лошадей больных ботулизмом молниеносной и сверх острой форме не удается спасти от гибели, если даже назначено своевременное и квалифицированное лечение с применением большого арсенала лекарственных средств;

2. Спасти от гибели 60% заболевших лошадей в остро-хронической форме возможно, с помощью антитоксической сыворотки против ботулизма и большого арсенала лекарственных препаратов

#### Литература

1. Коваленко Я.Р. Анаэробные инфекции сельскохозяйственных животных. -М, 1954. - С. 336-353.
2. Сосов Р.Ф. Эпизоотология. - М, 1974. - С. 94-99

## ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК:581.527.14(575.2)(043.3)

### МЕТОДЫ СОХРАНЕНИЯ ЭНДЕМИКОВ И РЕДКИХ ВИДОВ РАСТЕНИЙ В КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ

Институт Биотехнологии НАН КР

А.Р. Умралина - доктор биологических наук

Т.П. Чернышева - кандидат биологических наук

В статье описаны методы изучения и сохранения эндемиков с использованием биотехнологии. Биоразнообразие эндемиков представлено в семенном банке, банке меристем, банке ДНК и в коллекциях *in vitro* клеток, изолированных органов и трансформированных культур. Показаны перспективы в изучении эндемиков для создания инновационных направлений практического значения.

*Ключевые слова:* эндемики, гермоплазма, биоразнообразие, криосохранение, семенной банк, культуры *in vitro*.

### КЫРГЫЗСТАНДА ЭНДЕМИКТЕРДИН ЖАНА СЕЙРЕК КЕЗДЕШУҮЧҮ ӨСҮМДҮКТӨРДҮ САКТАП КАЛУУ ЫКМАСЫ

Илимий макалада биотехнологияны колдонуу менен эндемиктерди изилдөө жана сактоо ыкмалары жазылган. Эндемиктердин биоартүрдүүлүгү уруктар, меристема, ДНК банктарында жана *in vitro* клеткалардын коллекциясында, бөлүнгөн органдарда жана трансформацияланган культураларда көрсөтүлгөн. Инновациялык багыттын практикалык маанисин түзүү үчүн эндемиктерди изилдөө багыты көрсөтүлгөн.

*Негизги сөздөр:* эндемиктер, гермоплазма, биоартүрдүүлүк, криосактоо, уруктар банкы, *in vitro* культуралары.

### METHODS OF CONSERVATION OF ENDEMIC AND RARE PLANT SPECIES IN KR

Methods of study and conservation of endemics using biotechnology are described. Endemic biodiversity is presented in the seed bank, bank of meristems, DNA bank and *in vitro* collections of cells, isolated organs and transformed cultures. Perspectives in endemic study for establishment the new innovative trends of practical importance are shown.

*Keywords:* endemics, germplasm, biodiversity, cryoconservation, seed bank, *in vitro* culture.

Кыргызская Республика отличается высокой степенью эндемизма, горные экосистемы занимают большую часть территории республики. Горные вершины считаются наиболее подходящими участками для сравнения экосистем вдоль климатических градиентов и были одобрены в качестве эталонных единиц в процессе изучения изменения климата [1]. Эндемики являются приоритетными объектами охраны. Многие из них имеют узкие ареалы, являются редкими или исчезающими и в силу этого требуют первостепенного внимания. Каждый вид растений является носителем уникальной генетической информации о наследственных качествах, как используемых сегодня в хозяйстве, так и неиспользуемых, включая еще неизвестные свойства, которые могут оказаться полезными в будущем. Поэтому важен правильный подход к вопросам изучения и сохранения растений, особенно эндемиков и редких видов. *Ex situ* хранение семян можно считать страховым полисом от вымирания растений [2]. По данным Международного Союза по охране природы и естественных ресурсов более 8000 видов растений во всем мире находятся под угрозой исчезновения, и это число растет с каждым днем. Исследователи недавно подсчитали, что в серьезном состоянии находятся от 22 до 47% мировой флоры [3].

В рамках проекта по сохранению биоразнообразия в генетических банках в Институте биотехнологии созданы – семенной банк дикорастущей флоры, банк ДНК, коллекции клеток и культур *in vitro*, а также коллекции изолированных органов растений. Приоритетным направлением в процессе создания генетического банка было сохранение и изучение эндемиков и редких видов. Большая роль в исследованиях по поиску и сбору природоохранных видов принадлежит д.б.н. Г.Лазькову.

Была проведена инвентаризация и оценка современного состояния эндемиков и редких видов растений и разработаны модели и процедуры сохранения и устойчивого использования растений на основе научных исследований [4].

Банки долговременного хранения геномов позволяют не только собрать и сохранить редкие и исчезающие виды, но и сберечь морфологическое, физиологическое и адаптационное богатство внутривидовой изменчивости по культурным и дикорастущим видам. Продолжительность жизни семян большинства дикорастущих видов не изучена и зависит от

видовой принадлежности, анатомических, физиологических, морфологических особенностей семян и условий их хранения (температуры, влажности и др.). Особенно это актуально для эндемиков и редких видов, для которых нет готовых протоколов для обработки семян. Для продления жизни семян широко применяется хранение при пониженных температурах – неглубокое замораживание (-20°C) и криоконсервация в жидком азоте (-196°C).

Семенной банк — это надежный и не требующий много места способ хранения зародышевой плазмы или гермоплазмы. В настоящее время в мире создано множество семенных банков в разных странах мира. Существуют также семенные банки, деятельность которых связана исключительно с сохранением видов, имеющих природоохранный статус эндемики, редкие и исчезающие виды. Эти банки обеспечивают работы по размножению эндемиков и редких видов растений и по возвращению их в природу

Семена дикорастущих видов сильно отличаются от семян культурных растений: большей частью они мелкие, часто с затрудненным прорастанием (из-за наличия покоя, обусловленного плотной кожурой, недоразвитием зародыша и др.), они весьма неоднородны по морфологическим и физиологическим показателям на внутри и межпопуляционном уровнях [5]. Изученность анатомии, морфологии и биологии семян дикорастущих видов (особенно эндемиков и редких видов) недостаточна: по большинству видов нет данных по размерам и массе семян; оптимальным режимам определения лабораторной всхожести; продолжительности покоя и условиям выхода из него и др.

Для долговременного хранения семян необходимо проведение ряда процедур - их необходимо высушить, а затем хранить при правильном балансе температуры и влажности, разработаны регламенты обработки материала перед закладкой на хранение:

1. первый этап включает постановку задачи, для каких целей будут собираться семена и какие виды должны входить в сборы;
2. сбор семян;
3. транспортировка семян в лабораторию, поддержание семенного материала по возможности в прохладном и сухом состоянии;
4. присвоение идентификационных номеров образцам, документирование коллекции;

5. сушка семенного материала в течение 2-3-х месяцев при температуре 15-20°C;
6. очистка семян от примесей;
7. определение морфометрических показателей;
8. закладка семян в специальные маркированные пакеты;
9. помещение упаковок семян в места хранения – морозильную камеру (-20 °C) или сосуд Дьюара (-196 °C);
10. определение всхожести семян – лабораторной и после хранения;
11. мониторинг всхожести семян во время хранения и научные исследования.

Предобработка семян и морфометрия проводилась согласно общепринятым методам с учетом ключевых элементов стандартов генетических банков [6]. Закладка семян для хранения в криобанке проводилась при двух низкотемпературных режимах: неглубокое замораживание при -20°C и при -196°C (жидкий азот). Определение всхожести семян, заложенных на хранение в жидкий азот, проводилось после месяца хранения; всхожесть семян, хранившихся при температуре -20°C, определялась после 1-1,5 годов хранения. Стерилизацию семян проводили по общепринятой методике. Для преодоления состояния покоя семян использовался метод стратификации и скарификации.

В настоящее время в семенном банке ИБ хранятся коллекции семян эндемиков 96 видов, 516 – субэндемиков, из них 41 вид включен в Красную книгу КР. Семена хранятся при двух температурных режимах: -20°C и в жидком азоте при -196 °C.

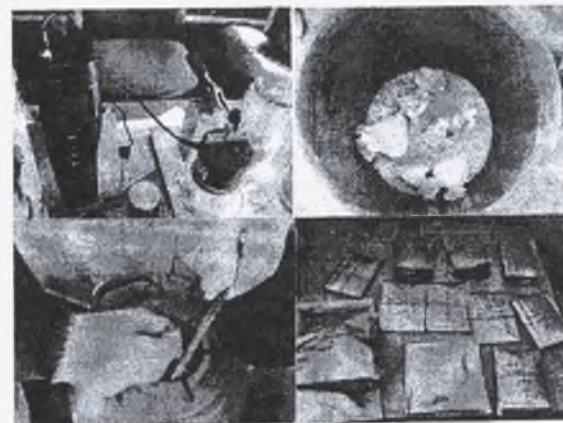


Рис. 1. Определение влажности и закладка семян в условиях низкотемпературного хранения

Дубликаты семян, в соответствии с Меморандумом о сотрудничестве, хранятся в Millenium Seed Bank (MSB) Королевского ботанического Сада, Кью, Великобритания. Королевский Ботанический сад является коллаборатором нашего института и курирует исследования, направленные на создание банка семян эндемиков и редких видов растений в Кыргызской Республике.

Растения редких и исчезающих видов встречаются иногда в единичных экземплярах, собрать достаточное количество семян для многих видов практически невозможно, кроме того, из-за низкой всхожести или невыполненных семян они не могут храниться в условиях банка семян. Для сохранения гермоплазмы этих видов необходимо искать другие подходы. Одним из них является хранение генетического материала в банках хранения живых тканей и клеток. Длительное сохранение *in vitro* не только способствует депонированию ценных генотипов, но и является основой для изучения процессов морфогенеза и регенерации в культуре ткани и исследований процессов адаптации микроклонов к условиям *ex vitro*.

Создание криобанка апикальных меристем включает в себя несколько этапов:

- введение растений из семян в культуру *in vitro*;
- подбор способов и среды для успешного микроразмножения и укоренения полученных побегов, при которых сохранялась бы идентичность наследственного материала;
- отработка методов выделения апикальных меристем и подбор среды для их регенерации;
- разработка протокола криоконсервации меристем;
- создание криобанка апикальных меристем.

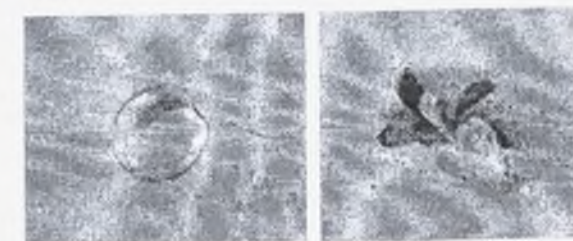


Рис. 2. Регенерация апикальной меристемы

В ИБ гермоплазма эндемиков, помимо семенного банка, сохраняется в банке ДНК и в банке *in vitro* клеточных культур - апикальных

меристем рис. 2. В криобанке (-196°C) апикальных меристем хранятся 11 видов растений.

Актуальным направлением клеточных технологий в настоящее время является сохранение и воспроизводство редких и исчезающих видов растений. Достижения в области культуры *in vitro* привели к созданию эффективных и экономически выгодных технологий клонального микроразмножения растений [7]. В основе клонального микроразмножения лежит использование уникальной способности растительных клеток реализовать присущую им тотипотентность под влиянием экспериментальных воздействий и дать начало целому растительному организму. Реализация морфогенетического потенциала в культуре *in vitro* осуществляется путём как активации существующих в растении меристем, так и индукции возникновения почек или эмбрионов (соматических зародышей) *de novo* непосредственно из тканей экспланта и из каллуса, образованного клетками экспланта. Используя в качестве объекта боковые почки, зародыши, молодые ткани, можно клонировать растения, т.е. получать растения, генетически идентичные исходному материалу. Культивируемые клетки и ткани можно выращивать в виде неорганизованной клеточной массы (каллус), линий гермоплазмы [8], изолированных органов растений [9], способных к синтезу видоспецифичных биологически активных соединений, и заменять ими традиционное растительное сырьё. Разработка технологии ускоренного размножения, основанная на изучении потенциальных возможностей культивируемых *in vitro* тканей, является актуальной для решения проблемы сохранения ценных и редких генотипов и в тоже время - расширения сырьевой базы.

Коллекции *in vitro*. Микроразмножение проводили двумя способами – микрочеренкованием и снятием апикального доминирования при помощи гормональных добавок в питательную среду. Основой всех сред для микроразмножения были агаризованные среды Мурасиге и Скуга и Стрита с добавлением фитогормонов и гормоноподобных синтетических регуляторов роста в различных концентрациях и сочетаниях. Для мультипликации побегов использовались среды с добавлением цитокининов: кинетин и 6-бензиламинопурина.

В результате опытов были разработаны протоколы для микроразмножения 74 ви-

дов эндемиков и редких видов растений из 12 семейств (рис.3).



Рис. 3. Микроклонирование эндемиков и редких видов растений

Технология получения искусственных семян заключается в получении инкапсулированных апикальных и пазушных меристем, с целью длительного сохранения в условиях криоконсервации. Эта технология способствует сохранению генетических признаков растений, а полимерная капсула позволяет защитить семена от воздействия внешней среды. Для получения искусственных семян использовался метод инкапсулирования [10]. Растения разрезали на микрочеренки размером 1,5-2 мм, на которых были расположены по 1 или 2 апикальные или латеральные меристемы. В качестве эксплантов в опыте служили растения не прошедшие и прошедшие холодовую закалку при +3-5°C [11]. Микрочеренки заключали в шарики 3% альгинатного геля, приготовленного на среде MS без гормонов. Способ изготовления шариков такой же, как в методе инкапсуляции-дегидратации. Бусинки отмывали от хлористого кальция в жидкой среде MS и помещали в стерильную чашку Петри без среды. Чашку хранили при 4°C в течение

месяца, затем шарики высаживали на среду для регенерации меристем. Часть искусственных семян сразу же подвергали проращиванию (контроль). Остальные хранились при +3-5°C. Жизнеспособность проверялась после 1, 2, 3 и 5 месяцев хранения.

В результате наших исследований были разработаны протоколы получения «искусственных семян» 20 видов, а также отработаны методы перевода «искусственных семян» в полустерильные условия в почву 7 видов эндемиков: *Silene sussamyrica* Lazkov; *Silene fetissovi* Lazkov; *Allochrysa paniculata* (Regel) Ovcz. Et Czuk.; *Nepeta pseudococanica* Pojark; *Salvia schmalhauseni* Regel; *Scutellaria andrachnoides* Vved; *Scutellaria lanipes* Juz.

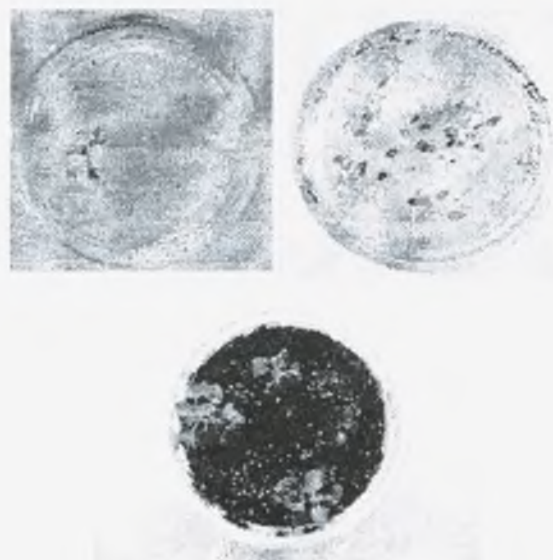


Рис. 4. «Искусственные семена», побеги искусственных семян, полученных из эксплантов *S. andrachnoides* и растения, полученные из «искусственных семян» после посадки в почву.

Искусственные семена из размножаемых *in vitro* растений являются эффективным альтернативным методом размножения эндемиков и редких, а также коммерчески важных видов. «Искусственные семена» могут также служить способом среднего и длительного хранения генетического материала растений, а также удобной формой обмена стерильным материалом между лабораториями. В настоя-

щее время метод чаще используется в научных целях, одной из которых является сохранение исчезающих растений, но в перспективе он может быть использован для реинтродукции редких видов в естественные природные условия. Данный биотехнологический способ позволит в будущем сохранить естественно произрастающие запасы редких и исчезающих видов лекарственных растений.

Коллекции тканевых культур эндемиков в генбанке ИБ представлены изолированными органами – корневыми культурами – изолированными и трансформированными культурами. Всего нами было получено 18 трансформированных корневых культур эндемиков и редких видов.

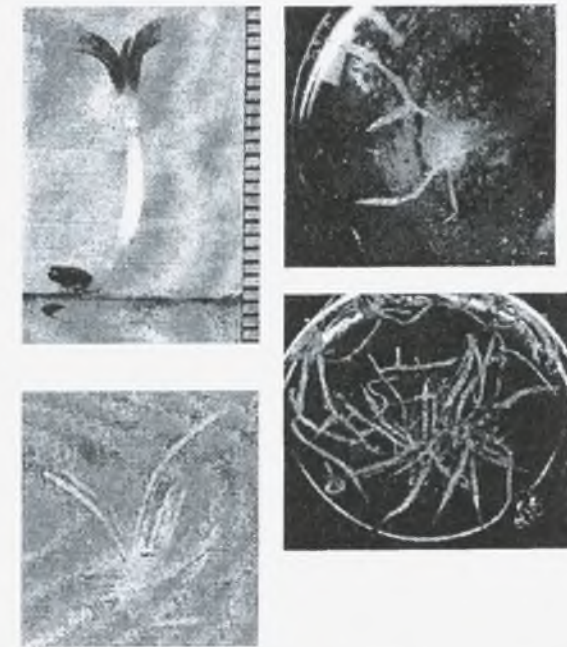


Рис. 5. Этапы проведения генетической трансформации *Hedysarum enaffae*

Работа по сохранению эндемиков и редких видов растений такого объема и уровня исследований с использованием методов биотехнологии проводится в республике впервые. Гермоплазма эндемиков в банках семян, культур клеток и тканей помимо основного назначения – сохранения в условиях *ex situ*, также служит для изучения научного и хозяйственного потенциала их как объектов инновационных технологий.

## Литература

1. [http://www.gloria.ac.at/method\\_reference.html](http://www.gloria.ac.at/method_reference.html)
2. Maunder, M. Realizing the full potential of *ex situ* contributions to global plant conservation. [Text] / M. Maunder, E. O. Guerrant, K. Havens // *Ex Situ Plant Conservation: Supporting Species Survival in the Wild*. Washington (DC): Island Press. – 2004. – P. 389–418.
3. Conservation and management of rare plant species. [Text] / E.J. Farnsworth // In: *Encyclopedia of Earth*. Eds. Cutler J. Cleveland (Washington, D.C.: Environmental Information Coalition, National Council for Science and the Environment). [First published in the *Encyclopedia of Earth* April 24, 2010; Last revised Date April 24, 2010; Retrieved March 27, 2012.
4. Умралина, А.Р. Биотехнология сохранения *ex-situ* эндемиков и редких видов растений Кыргызстана. - Бишкек, 2012. - 124 с.
5. Тихонова, В.Л. Ресурсы внутривидовой изменчивости дикорастущих травяных растений, их изучение, сохранение и использование [Текст]: дис...докт.биол.наук. - СПб: ВИР, 1992. - 471с.
6. Методические указания по семеноведению интродуцентов, 1980; FAO/IPGRI, 1994; Technical Information Sheet #4, 2008.
7. Pilatti, F. K. In vitro and cryogenic preservation of plant biodiversity in Brazil. [Text] / F. K. Pilatti, T. Aguiar, T. Simões, E. E. Benson, A. M. Viana. // *In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant*. - 2011. - Vol. 47. Issue 1. - P.82-98.
8. Murch, S.J. A metabolomic analysis of medicinal diversity in Huang-qin (*Scutellaria baicalensis* Georgi) genotypes: discovery of novel compounds [Text] / Murch S.J., Rupasinghe H.P., Goodenowe D. et al. // *Plant Cell Reports*. – 2004. – V. 23(6) – P. 419-425.
9. Flores, H.E. Green roots: Photosynthesis and Photoautotrophy in an underground plant organ. [Text] / H.E. Flores, Dai Y-R, J.L. Cuello, I.E. Maldonado-Mendoza, V.M. Loyola-Vargas // *Plant Physiol*. – 1993. - V. 101. – P. 363-371.
10. Redenbaugh, K. Encapsulation of somatic embryos in synthetic seed coats [Text] / K. Redenbaugh, D. Slade, P.Viss // *HortScience*. – 1987. – V.22(5). – P.803-809.
11. Adriani, M. Effect of different treatments on the conversion of 'Hayward' kiwifruit synthetic seeds to whole plants following encapsulation of *in vitro*-derived buds [Text] / M. Adriani, E. Piccioni, A. Standardi // *New Zealand J. of Crop and Horticultural Science*. – 2000. – V. 28. – P. 59-67.

УДК: 633.88:574.3(575.2)(04)

### ОЦЕНКА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ АСТРАГАЛА И КОПЕЕЧНИКА ИЗ КОЛЛЕКЦИИ СЕМЕННОГО БАНКА ИНСТИТУТА БИОТЕХНОЛОГИИ НАН КР

А.А. Рыжова - аспирантка  
 Р.У. Копурбаева - научный сотрудник  
 И.В. Бабченко - научный сотрудник  
 С.В. Хегай - старший научный сотрудник  
 А.Р. Умралина - доктор биологических наук

В работе впервые описан опыт скрининга методом DPPH на содержание антиоксидантной активности растений *Astragalus* и *Hedysarum* в Кыргызстане. Антиоксиданты у большинства видов *Hedysarum* (0,51 г/мл) и *Astragalus* (0,11 г/мл) накапливаются в листьях по сравнению с другими частями растения (в корнях, цветках и стеблях).

Ключевые слова: экстракты растений, метод DPPH, биологическое разнообразие.

### УИА БИОТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТУНУН УРУКТАР БАНКЫНЫН КОЛЛЕКЦИЯСЫНДАГЫ АСТРАГАЛ ЖАНА ТЫЙЫНЧАНАК ӨСҮМДҮКТӨРҮНҮН АНТИОКСИДАНТТЫК АКТИВДҮҮЛҮГҮНӨ БАА БЕРҮҮ

Илимий макалада биринчи жолу скрининг тажрыйбасы DPPH ыкмасы менен *Astragalus* жана *Hedysarum* өсүмдүктөрдүн антиоксиданттык активдүүлүк курамы көрсөтүлгөн. *Astragalus* (0,11 г/мл) жана *Hedysarum* (0,51 г/мл) көпчүлүк түрлөрүндө антиоксиданттар өсүмдүктөрдүн башка бөлүктөрүнө салыштырмалуу (тамырында, гүлүндө жана сабагында) жалбырагында көбүрөөк жыйналат.

Негизги сөздөр: өсүмдүктөрдүн экстракттары, DPPH ыкмасы, биологиялык ар түрдүүлүк

### ASSESSMENT OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF ASTRAGALUS AND HEDYSARUM PLANTS FROM THE SEED BANK COLLECTION OF THE BIOTECHNOLOGY INSTITUTE OF NAS KR

Screening with the DPPH method for antioxidant activity of *Astragalus* and *Hedysarum* plants of Kyrgyzstan is described for the first time. Antioxidants in the most species of *Hedysarum* (0,51 g/ml) and *Astragalus* (0,11 g/ml) are accumulated in leaves compared with the other plant parts (roots, flowers and stems).

Keywords: plant extract, DPPH method, biological diversity.

Из огромного растительного биоразнообразия Кыргызстана в качестве объекта исследования были выбраны виды род *Hedysarum* (копеечник), *Astragalus* (астрагал) семейства Fabaceae (бобовые).

Род *Astragalus* очень полиморфный, представлен в виде кустарников, полукустарников и трав. Один из самых многочисленных родов насчитывается более 2400 видов (таб.1). Род *Hedysarum* представлен одно-и многолетней травой. Распространен в Северной Америке, Северной Африке, Азии, Европе.

Кыргызстан богат видовым растительным разнообразием. Род *Astragalus* насчитывает 7,7%, а род *Hedysarum* 17 % мирового видового разнообразия (рис.1). Копеечники и астрагалы в Кыргызстане в основном произрастают в предгорных районах. Почвенно-климатические условия позволяют благоприятно развиваться растениям, но в связи с изменением климата, а так же с антропогенными факторами можем в скором будущем потерять субэндемичные, эндемичные и краснокнижные растения (Умралина и Лазьков, 2008).

Таблица 1

Биологическое разнообразие видов астрагала и копеечника, и количество видов хранящихся в коллекции семенного банка ИБ НАН КР на 2017 г.

Род	Количество видов		Количество видов хранящихся в коллекции семенного банка ИБ НАН КР	
	в мире	из них в Кыргызстане	в семенном банке ИБ НАН КР	исследовано видов в данной работе
Астрагал	2455 <sup>А</sup>	189 (7,7%)	32 (17 %)	18
Копеечник	201 <sup>А</sup>	34 (17%)	17 (50%)	9

<sup>А</sup>The Plant List – по данным Королевского ботанического сада Кью (Великобритания) и Ботанического сада Миссури (США)

Известно, что растения данных родов широко применяются в Китайской, Иранской народной медицине благодаря своим противобактериальным и противовирусным свойствам (Zargary, 1990). Но также встречаются виды Астрагалов, которые нельзя употреблять в пищу или для профилактики лечения, они могут быть токсичными для человека. В этой связи ученые Института биотехнологии НАН КР проводят экспедиции по сбору и сохранению, а также изучению свойств растений для использования в фармакологии и в народном хозяйстве.

Целью данной исследовательской работы было провести скрининг на содержание антиоксидантной активности в растениях родов *Astragalus* и *Hedysarum*.



*Astragalus schmalhauseni*    *Astragalus ampylorrhynchus*    *Astragalus stenocystis*    *Astragalus krauseanus*    *Astragalus globiceps*

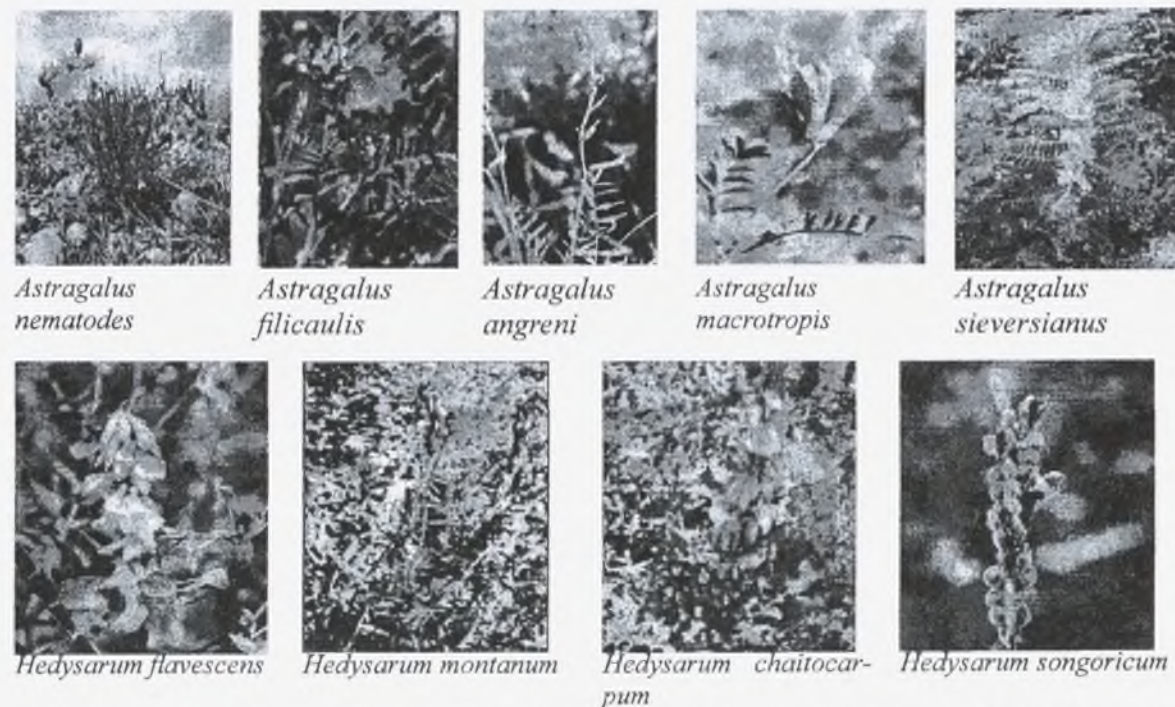


Рисунок 1. Виды растений в природе, семена которых хранятся в семенном банке Института биотехнологии НАН КР и используемые в данной работе

#### Материалы и методы

##### Подготовка растительных экстрактов.

Растительный материал (листья, корни, стебли, цветки) был предварительно высушен и измельчен на электрической мельнице. Экстракт состоял из полученной растительной навески 0,5 грамм с добавлением 50 мл 70° спирта и затем перенесен на водяную баню на 30 мин. Крупные частицы удаляли с помощью фильтрации. Экстракт доводили до объема 50 мл 70° спиртом (Умралина, 2016).

**Приготовление DPPH.** К навеске DPPH (SigmaAldrich) 0,0072 гр. добавляли 75 мл спирта (70°). Затем раствор перемешивали 30 минут на качалке при скорости 100 об/мин в темной комнате согласно методике (Ashwini, 2015) с небольшими изменениями.

Антиоксидантную активность в растительном экстракте определяли методом DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом).

При определении значения величины IC50 (показатель концентрации лекарственного вещества для ингибирования антиоксидантной активности на 50%) для каждого образца проводили серию разведений 70° спиртом, в трехкратной повторности с шагом 1,5. После смешивания экстрактов с DPPH переносили в темноту на 30 мин и снимали показания на

спектрофотометре Beckman Coulter DU-520 (США) при длине волны 517 нм. Статистическую обработку данных проводили на программе Эксель.

Антиоксидантная активность высчитывалась по формуле  $[(A_0 - A_1) / A_0] \times 100 \%$  где:

$A_0$  – величина антиоксидантного поглощения DPPH раствора (контроль);

$A_1$  – антиоксидантная активность исследуемого раствора с DPPH реактивом.

##### Результаты и обсуждение

**Оценка антиоксидантной активности**  
Спектрометрические данные показали, что не все виды астрагалов и копеечников содержат антиоксиданты (таблица 2).

Было исследовано всего 37 образцов из 18 видов астрагала и у 9 видов были обнаружены антиоксиданты. Единственный вид, который содержал антиоксидантную активность в стеблях – *A. campylorrhynchus*. В 3х видах антиоксиданты были обнаружены в корнях, в том числе у двух субэндемиков – *A. stenocystis* и *A. macrotropis* и одного эндемика – *A. duanensis*. У большинства видов (9 видов) антиоксидантная активность была обнаружена в листьях, а самым высоким показателем у *A. campylorrhynchus* (0,286 г/мл).

У рода *Hedysarum* всего было исследовано 21 образец разных частей растений. Наиболее активные показатели антиоксидантов у вида *H. flavescens* обнаружены в цветках (1,284 г/мл)

и листьях (1,324 г/мл). Корни копеечников по результатам спектрофотометра не достигают 50% ингибирования в реакции.

Таблица 2.

#### Результаты содержания антиоксидантов в экстрактах астрагалов и копеечников

Вид и его общее распространение	Содержание антиоксидантов в различных частях растения (г/мл)			
	Листья	Стебли	Корни	Цветки
<i>A. schmalhauseni</i> (СЭ)	Не достигает	-	-	-
<i>A. managildensis</i> (СЭ)	Не достигает	Не достигает	Не достигает	-
<i>A. campylorrhynchus</i> (Шр)	0,286	0,168	Не достигает	-
<i>A. duanensis</i> (Э)	0,043	Не достигает	0,093	-
<i>A. reverdattoanus</i> (Э)	0,028	-	-	-
<i>A. managildensis</i> (СЭ)	0,047	-	Не достигает	-
<i>A. stalinskyi</i> (Шр)	0,143	Не достигает	-	-
<i>A. stenocystis</i> (СЭ)	Не достигает	Не достигает	0,06	-
<i>A. krauseanus</i> (СЭ)	Не достигает	Не достигает	Не достигает	-
<i>A. globiceps</i> (СЭ)	0,177	Не достигает	-	-
<i>A. nematodes</i> (СЭ)	-	Не достигает	-	-
<i>A. dipelta</i> (СЭ)	-	Не достигает	-	-
<i>A. filicaulis</i> (Шр)	-	-	Не достигает	-
<i>A. caudicosus</i> (Э)	0,052	-	-	-
<i>A. angreni</i> (СЭ)	Не достигает	Не достигает	-	-
<i>A. sandalascensis</i> (Э)	Не достигает	-	-	Не достигает
<i>A. macrotropis</i> (СЭ)	0,127	Не достигает	0,04	-
<i>A. sieversianus</i> (Шр)	Не достигает	Не достигает	Не достигает	-
<i>H. daraut-kurganicum</i> (Э)	0,346	0,122	Не достигает	0,12
<i>H. dmitrieva</i> (СЭ)	0,522	0,202	Не достигает	1,128
<i>H. chaitocarpum</i> (Э)	0,311	Не достигает	Не достигает	-
<i>H. montanum</i> (СЭ)	0,415	0,15	Не достигает	0,41
<i>H. flavescens</i> (СЭ)	1,324	0,23	-	1,284
<i>H. songoricum</i> (СЭ)	0,407	0,078	-	0,366
<i>H. parvum</i> (Э)	0,368	Не достигает	Не достигает	0,346
<i>H. cumushtanicum</i> (Э)	-	0,275	-	-

А – *Astragalus*;

Н – *Hedysarum*;

Э – эндемичный вид;

СЭ – субэндемичный вид;

Шр – широко распространенный вид;

“-” нет данных

Сравнительный анализ показал, что антиоксиданты накапливаются больше в листьях копеечника (среднее значение 0,51 г/мл), чем у астрагала (0,11 г/мл). Однако в стеблях астрагала антиоксидантная активность была выше на 0,3 г/мл в сравнении с растениями копеечника.

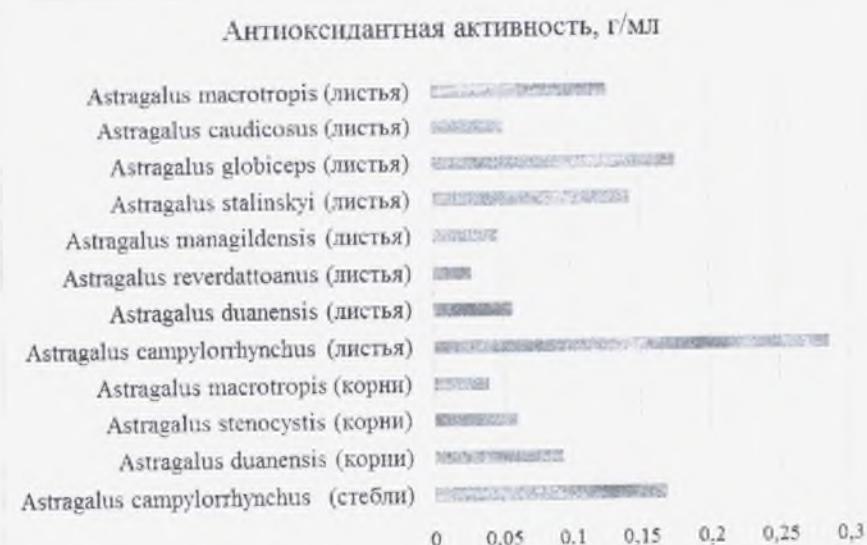


Рисунок 2. Сравнительный анализ антиоксидантной активности в разных частях растений видов астрагала.

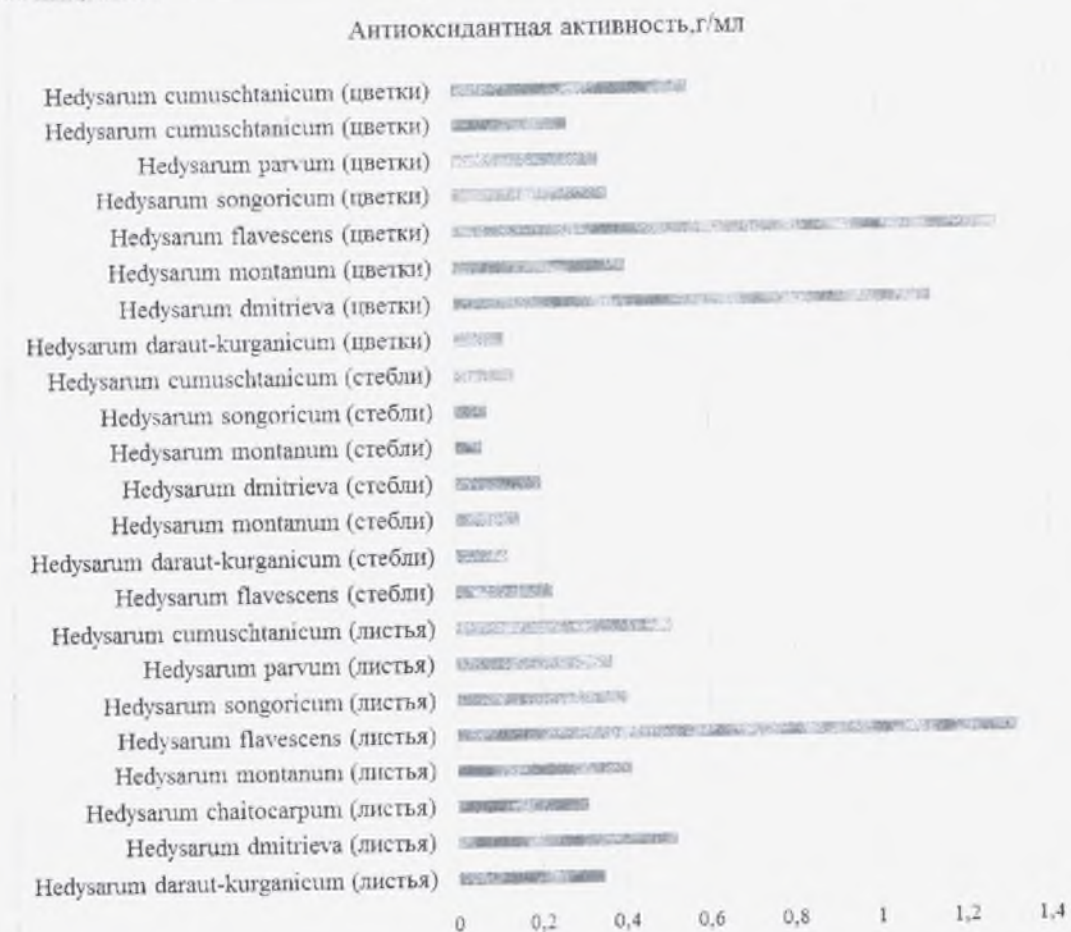


Рисунок 3. Сравнительный анализ антиоксидантной активности в разных частях растений видов копеечника.



Самыми активными частями растения у копеечника являются листья и цветки. Его показатели в несколько раз превышают показатели по астрагалам. У всех взятых нами образцов корней копеечника, антиоксидантная активность не обнаружена.

Широко распространённый вид *A. campylorrhynchus* имеет высокую антиоксидантную активность в листьях и стеблях и является перспективным для дальнейших фармакологических исследований (рис.2).

Субэндемичный вид *H. flavescens* имеет высокую антиоксидантную активность в листьях и в цветках (рис.3).

В будущем коллекция семенного банка ИБ НАН КР будет пополняться недостающими видами копеечника и астрагала. Планируется продолжить изучение собранных новых видов, а так же провести молекулярно-генетический анализ и скрининг; изучить биологическое разнообразие, провести ВЭЖХ тестирование на наличие вторичных соединений, планируется разработать методику по введению в культуру и получения трансформированных корней.

### Литература

1. Умралина А.Р., Лазьков Г.А. Эндемики и редкие виды растений Кыргызстана: Атлас.- Б.: 2008. -164 с.
2. Умралина А.Р. Отчет лаборатории биотехнологии растений Института биотехнологии НАН КР, - Б.: 2016.
3. Appaji M Ashwini Quantification of phytochemical contents and in vitro antioxidant activity of *exacum bicolor* (roxb.), an endemic medicinal plant: International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.:Vol 7, Issue 6, 2015 pp. 225-230.
4. Zargary A. Medicinal plants. 5th Edition. Tehran: Tehran University Publications 1990; pp. 312–314.
5. The Plant List (2013). Version 1.1. Published on the Internet; <http://www.theplantlist.org/> (accessed 05.09.2017).

УДК 547.792(575.2)(04)

### ИССЛЕДОВАНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В КОРНЯХ НАТИВНЫХ РАСТЕНИЙ РОДА SCUTELLARIA КЫРГЫЗСТАНА МЕТОДАМИ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

Институт биотехнологии НАН КР

*Б.А. Асанакунов - старший научный сотрудник, кандидат биологических наук*  
*Т.П. Чернышева - старший научный сотрудник, кандидат биологических наук*

В статье приводятся данные о проводимых в лаборатории биотехнологии растений Института биотехнологии НАН КР исследованиях нативных растений рода *Scutellaria* Кыргызстана методами высокоэффективной жидкостной хроматографии. Выявлена корреляция между положением видов в систематике и содержанием флавоноидов в корнях нативных растений и определены перспективные виды для их исследования методами биотехнологии.

*Ключевые слова:* высокоэффективная жидкостная хроматография, *Scutellaria*, флавоноид, байкалин, байкалеин, вогонозид, вогонин.

### КЫРГЫЗСТАНДА КЕЗДЕШҮҮЧҮ SCUTELLARIA ТҮРҮНҮН ФЛАВОНОИДДЕРДИ ТАМЫРЛАРЫНДА КАРМАП ТУРУУСУН ЖОГОРКУ ЭФФЕКТИВДҮҮ СУЮК ХРОМАТОГРАФИЯ БКМАСЫ МЕНЕН ИЗИЛДӨӨ

Илимий макалада Кыргыз Улуттук Илимдер Академиясынын Биотехнология институтунун өсүмдүктөрдүн биотехнологиясы лабораториясында жогорку эффективдүү суюк хроматография бкмасы менен Кыргызстанда кездешүүчү *Scutellaria* түрүн изилдөө маалыматы берилген. Систематикада түрлөрдүн абалы менен өсүмдүктөрдүн тамырында флавоноиддердин кармалышынын ортосундагы корреляциясы, ошондой эле алар үчүн биотехнологиялык ыкмалар менен изилдөөнүн келечектүү түрү аныкталды.

*Негизги сөздөр:* жогорку эффективдүү суюк хроматография, *Scutellaria*, флавоноид, байкалин, байкалеин, вогонизид, вогонин.

### STUDY OF FLAVONOID CONTENT IN ROOTS OF SCUTELLARIA GENUS NATIVE PLANTS OF KYRGYZSTAN WITH THE HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY METHODS

Data on study of native plants of *Scutellaria* genus of Kyrgyzstan with the High-Performance Liquid Chromatography methods conducted at the Plant Biotechnology Laboratory of the Biotechnology Institute of NAS KR are given. Correlation between the species position in the systematics and the flavonoid content in native plant roots is revealed. Species, perspective for biotechnological studies, are discovered.

*Keywords:* High-Performance Liquid Chromatography, *Scutellaria*, flavonoid, baicalin, baicalein, wogonoside, wogonin.

### Введение

В Лаборатории биотехнологии растений и грибов Института биотехнологии НАН КР проводится работа по изучению методами биотехнологии и биохимии дикорастущих растений Кыргызстана. Одним из основных объектов исследования являются растения рода *Scutellaria* (шлемники). В Кыргызстане произрастает более 30 видов этого рода (1). Экстракты из корней шлемников широко применяются в восточной медицине как противовоспалительное, антиспазматическое, вяжущее, жаропонижающее, успокоительное, седативное и тонизирующее средство (2,3). Широкий терапевтический спектр действия экстрактов корней шлемников во многом обусловлен высоким содержанием в них таких флавоноидов, как байкалин, байкалеин, вогонозид и вогонин (4). Методы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) позволяют с большой точностью определить содержание этих соединений в экстрактах растений рода *Scutellaria*(5), а также изучать разнообразие видов этого рода в Кыргызстане.

### Материалы и методы исследования

Экстракция растительного материала проводилась в водном растворе этилового спирта (EtOH) в различных концентрациях на ультразвуковой (УЗ) бане и простым погружением в различные периоды времени. Затем экстракт центрифугировался при 3000 об./мин в течение 10 мин, фильтровался через мембранный фильтр 0,45 мкм вводился в хроматограф для анализа. Анализ ВЭЖХ проводился на хрома-

тографе Agilent 1260 Infinity, колонка Eclipse-PlusC18, 5 μm, 4,5 x 250 мм. Объем вводимой пробы 10 μL. Разделение проводилось градиентом растворителей А–H<sub>2</sub>O:В–0,1%-ный р-р трифторуксусной кислоты в ацетонитриле в течение 50 мин по следующей программе: 0' – В–0%, 5' – В–20%, 35' – В–55%, 40' – В–100%, 50' – В–0%. Детектирование проводилось на УФ-детекторе при длине волны 280 нм. Калибровка стандартных соединений байкалина, байкалеина, вогонозид и вогонина проводилась по шести концентрациям с построением калибровочных кривых, коэффициент корреляции для всех стандартов составил >0,999.

### Результаты и их обсуждение

Предварительным этапом анализа ВЭЖХ является экстракция растительного материала, которая проводится в водном растворе EtOH. Процентное содержание EtOH и химический состав флавоноидов оказывают существенное влияние на способность растворителя извлекать флавоноиды из растительного материала. Так, байкалин и вогонозид, являясь более водорастворимыми, успешнее извлекаются при более низком процентном содержании EtOH, чем менее водорастворимые байкалеин и вогонин. Поэтому подбор растворителя с оптимальным процентным содержанием EtOH является одним из решающих этапов в анализе ВЭЖХ. С этой целью была проведена серия анализов ВЭЖХ экстрактов нативных корней *S. Przewalskii* с различными концентрациями EtOH на содержание флавоноидов (таблица 1).

Таблица 1

Содержание флавоноидов в экстрактах корней нативных растений *S. Przewalskii* с различной концентрацией EtOH, мг/г сухого в-ва

Концентрация EtOH	Байкалин	Байкалеин	Вогонозид	Вогонин	Всего
96%	4,47	0,36	1,96	0,42	7,21
70%	29,12	2,87	18,07	8,76	58,82
60%	49,37	3,11	27,95	13,21	93,64
50%	55,4	3,67	32,19	15,84	107,1
40%	51,83	3,24	29,08	14,42	98,57

Как видно из таблицы, наиболее высокое содержание флавоноидов обнаружено в экстрактах с содержанием EtOH 50% (107,1 мг/г сухого в-ва), немного меньшее содержание флавоноидов было в экстрактах с содержанием EtOH 40% и 60% (98,57 и 93,64 мг/г сухого в-ва соответственно), наиболее низкое содержание флавоноидов было обнаружено в экстрактах с содержанием EtOH 96% (7,21 мг/г сухого в-ва).

Результаты показывают, что для экстракции флавоноидов оптимальным растворителем является 50%-ный водный раствор EtOH.

Другими важными факторами являются метод и время экстракции растительного материала. Были испытаны два метода экстракции: простым погружением в растворитель и экстракция на ультразвуковой бане в различные периоды времени (таблица 2).

Таблица 2

Влияние метода и времени экстракции на содержание флавоноидов в экстрактах корней нативных растений *S. Przewalskii*, мг/г сухого вещества

Метод и время экстракции	Байкалин	Байкалеин	Вогонозид	Вогонин	Всего
20 мин на УЗ бане	50,22	2,23	44,88	7,23	104,55
30 мин на УЗ бане	45,99	3,71	36,01	11,47	97,17
1 час на УЗ бане	43,88	3,08	35,43	16,15	98,54
Погружение на 1 ч	45,38	1,65	36,28	13,76	97,06
Погружение на 4 ч	42,15	5,47	26,47	23,89	97,97

Из таблицы видно, что методы и время экстракции незначительно влияют на извлечение флавоноидов, разница между самым высоким и самым низким содержанием составляет не более 7%. Наиболее высоким содержанием отличался экстракт, полученный на ультразвуковой бане в течение 20 мин. Надо отметить, что продолжительность экстракции меняет соотношение отдельных флавоноидов, в зависимости от их химического строения. Так, увеличение времени экстракции увеличивает содержание агликонов байкалеина и вогонина, в то же время снижая содержание их гликозидов байкалина и вогонозид.

Результаты двух экспериментов дали возможность подобрать наиболее оптимальные условия для экстракции растительного материала шлемников, а именно экстракция в 50%-ном водном растворе EtOH на ультразвуковой бане в течение 20 мин с последующим центрифугированием и фильтрацией. Этот метод экстракции применялся для всех последующих анализов.

Следующий этап заключался в скрининге нативных растений Кыргызстана. С этой целью был проведен анализ ВЭЖХ на содержание флавоноидов в экстрактах корней нативных растений 12 видов шлемников Кыргызстана (рис. 1, таблица 3).

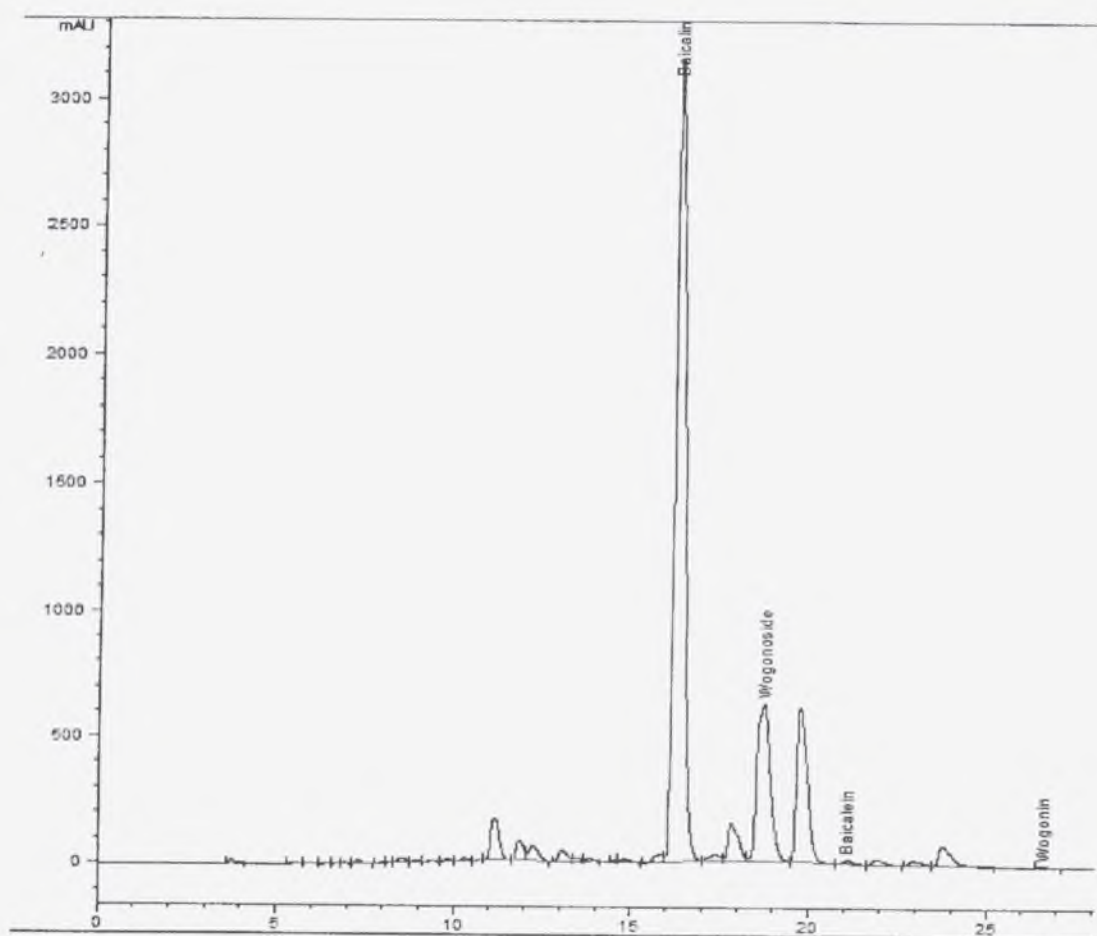


Рис. 1. Хроматограмма экстракта корней нативных растений *S. nepetoides*

Таблица 3

Содержание флавоноидов в корнях нативных растений шлемников Кыргызстана,  
мг/г сухого вещества

Вид	Байкалин	Вогонозид	Байкалеин	Вогонин	Всего
<b>Подрод <i>Apeltanthus</i></b>					
1. <i>S. andrachnoides</i>	0,17	2,90	0,06	7,13	10,26
2. <i>S. immaculata</i>	9,87	36,41	0,35	4,70	51,33
<b>Подрод <i>Euscutellaria</i> Секция <i>Lupulinaria</i></b>					
<b>Подсекция <i>Ramosissimae</i></b>					
3. <i>S. ramosissima</i>	9,98	1,45	0,52	0,21	12,16
<b>Подсекция <i>Orientales</i></b>					
<b>Группа <i>Oxistegiae</i></b>					
<b>Ряд <i>Pulchellae</i></b>					
4. <i>S. nepetoides</i>	70,30	23,45	2,34	3,08	99,17
<b>Ряд <i>Eu-oxystegiae</i></b>					
5. <i>S. comosa</i>	25,22	1,08	0,70	0,00	27,00
<b>Ряд <i>Mesostegiae</i></b>					
6. <i>S. mesostegia</i>	75,34	21,25	1,48	0,77	98,84
<b>Группа <i>Platistegiae</i></b>					
<b>Ряд <i>Eu-platistegiae</i></b>					
7. <i>S. przewalskii</i>	104,15	33,61	2,98	0,86	141,6
8. <i>S. transilensis</i>	96,58	32,53	1,04	0,82	130,97
<b>Ряд <i>Adenostegiae</i></b>					
9. <i>S. adenostegia</i>	17,80	0,0	0,51	0,0	18,37
10. <i>S. pycnoclada</i>	6,40	0,97	0,55	0,25	8,17
<b>Подсекция <i>Alpinae</i></b>					
<b>Ряд <i>Cordifrones</i></b>					
11. <i>S. cordifrons</i>	37,45	0,75	0,97	0,66	39,83
<b>Ряд <i>Subcaespitosae</i></b>					
12. <i>S. lanipes</i>	10,38	16,04	0,0	1,11	27,53

В таблице 3 виды шлемников расположены согласно их месту в систематике (1). Как показывают данные, родственность видов до некоторой степени коррелирует с содержанием в их корнях флавоноидов, как по общему содержанию, так и по содержанию каждого флавоноида. Так, виды Подрода *Apeltanthus* выделялись по содержанию вогонина. Высоким содержанием байкалина и вогонозидов отличались некоторые виды Групп *Oxistegiae* и *Platistegiae* Подрода *Euscutellaria*. По общему содержанию флавоноидов выделялись виды ряда *Eu-*

*platistegiae* Группы *Platistegiae*, а также рядов *Pulchellae* и *Mesostegiae* Группы *Oxistegiae*.

#### Выводы

Данные по содержанию флавоноидов в корнях нативных растений шлемников Кыргызстана выделяют ряд перспективных видов в качестве объектов исследования методами биотехнологии, такие как *S. przewalskii*, *S. transilensis*, *S. nepetoides*, *S. mesostegia*, *S. andrachnoides*.

Полученные данные показывают перспективность использования методов ВЭЖХ совместно с другими молекулярно-генетическими методами для изучения разнообразия и хемосистематики не только шлемников, но и растений других родов Кыргызстана.

#### Литература

1. Флора Киргизской ССР [Текст] / - Фрунзе, 1960, Т.IX. – С. 14-35.
2. Greenfield J., Davis J. M. Skullcap (*Scutellaria laterifolia* L.). Medicinal Herb Production Guide Golden LEAF Foundation, Inc., 2004. – 4 p.
3. Joshee N., Patrick T.S., Mentreddy R.S. et al. Skullcap: Potential medicinal. Trends in new crops and new uses. ASHS Press, Alexandria, VA. 2002. – P. 580–586.
4. Shao Z-H., Li C-Q., Vanden Hoek T.L. et al. Extract from *Scutellaria baicalensis* Georgi attenuates oxidant stress in cardiomyocytes. *J. Mol. Cell Cardiol.* – 1999, – V. 31 – P. 1885–1895.
5. Horvath C.R., Martos P.A., Saxena P.K. Identification and quantification of eight flavones in root and shoot tissues of the medicinal plant Huang-qin (*Scutellaria baicalensis* Georgi.) using high-performance liquid chromatography with diode array and mass spectrometric detection. *J. Chromatogr. A.* – 2005. – V. 1062 – P. 199-207.

## ГЕНЕТИКА И БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ

УДК: 576.89(575.2)(04)

### ПЕРВЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ РЕСПУБЛИКИ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИННОВАЦИЯ

*А.М. Исакунов - младший научный сотрудник лаборатории генетики и биотехнологии животных Института биотехнологии НАН КР*

*Е.М. Луцихина - главный научный сотрудник лаборатории генетики биотехнологии животных Института биотехнологии НАН КР, доктор сельскохозяйственных наук*

*Е.А. Гладырь - кандидат биологических наук, ВИЖ ГНУ РАН*

Проведены первые работы по исследованию генома сельскохозяйственных животных в Кыргызстане. При помощи микросателлитных маркеров установлены различия в сравниваемых популяциях яков и определен уровень плодовитости пород овец по наличию генов BMP-15 и ESR.

*Ключевые слова:* микросателлиты, плодовитость, гены, популяции яков и овец.

### РЕСПУБЛИКАДАГЫ МАЛ ЧАРБАЧЫЛЫГЫНЫН ГЕНЕТИКАЛЫК ИЗИЛДӨӨЛӨРҮНҮН БИРИНЧИ ЖЫЙЫНТЫГЫ ЖАНА ТЕХНОЛОГИЯЛЫК ИННОВАЦИЯЛАР

Кыргызстанда мал чарбасынын геном изилдөө боюнча биринчи жолу илимий иш жүргүзүлдү. Микросателлит маркеринин жардамы менен топоздун түрлөрүн салыштырмалуу айырмачылыгын жана койлордун тукум берүү жөндөмдүүлүгүнүн деңгээлли BMP-15 и ESR гени аркылуу аныкталган.

*Негизги сөздөр:* микросателлиттер, тукумдуулук, ген, топоз жана койдун популяциясы.

### THE FIRST RESULT OF GENETIC INVESTIGATIONS IN KYRGYZ REPUBLIC ANIMAL PRODUCTION AND TECHNOLOGY INNOVATION.

First gene mapping studies have identified different jack population in Kyrgyzstan with microsatellites markers. The opportunity exit to use our knowledge of major fruitfulness sheep genes BMP-15 and ESR in practice.

*Key words:* microsatellites ,fertility, gene, population, jack and sheep.

В Кыргызстане животноводство является традиционной отраслью. Высокие адаптивные качества пород скота требуют изученности генетических и фенотипических свойств, иммуногенетического статуса. В настоящее время современным является анализ структуры генома с использованием ДНК- технологий и создание банка ДНК и компьютерного банка данных.

В то же время экономическая значимость продукции овецводства определяется ее количеством и качеством, соответствием требованиям рынка и себестоимостью. В зависимости от зоны разведения нужно предусматривать в первую очередь использование пород с высоким генетическим потенциалом продуктивности.

Основной целью большинства научных разработок в области молекулярной биологии и генетики является полное генотипирование исследуемых организмов сельскохозяйственных животных и изучение с использованием маркерных систем является одной из важных проблем последнего столетия.

Обнаруженные и в последующем применяемые минисателлитные и микросателлитные последовательности ДНК внесли значительный вклад в молекулярно-генетические исследования последних лет. Полиморфизм связан, прежде всего, с изменениями числа повторов в кластере. Широкая распространённость микросателлитов по всему геному делает их наиболее привлекательными генетическими маркерами для высокоэффективного генетического картирования. Характеристика генофонда с использованием микросателлитных маркеров сельскохозяйственных животных является одним из эффективных подходов для выявления родства между породами, популяциями и линиями и в оценке степени инбридности. Микросателлиты являются нейтральными маркерами, их используют для оценки генетического разнообразия популяций и определения достоверности происхождения потомства.

Нужно отметить, что исследования генома в животноводстве Кыргызской Республики ранее не проводились. Со всех пород животных, имеющих на территории, собраны образцы в виде ушного выщипа кожи, хранящегося в спирте, которые служат материалом для изучения.

В составе творческой группы ученых ВИЖа ГНУ РАСХН и Монгольского института животноводства под руководством академика Л.К.Эрнста и академика Н.А.Зиповьевой

по этим пробам была создана коллекция ДНК и дана характеристика различных популяций яков, был сделан сравнительный анализ пород крупного рогатого скота *Bos Taurus* и домашнего яка *Bos Pseudis grunniens* по микросателлитам.

Исследования проводили по 13-и микросателлитным локусам крупного рогатого скота (TGLA126, TGLA122, INRA023, ILST005, ETH185, ILST006, BM818, BM824, BM2113, ETH10, ETH225, SRS115, TGLA227).

Проведенные исследования показали, что среднее число аллелей на локус, являющееся показателем генетического разнообразия изучаемых популяций яков, варьировало от 4,39 в популяции яков Кыргызстана, до 8,83 у яков Монголии. Анализ уровня гетерозиготности и индекса фиксации  $F_{is}$ , являющегося критерием оценки уровня инбридинга, показал, средний уровень разнообразия внутри популяций яков Монголии, Кыргызстана и Бутана. Наблюдаемый уровень гетерозиготности в этих популяциях находился в диапазоне от 51,71% (Ja-BT) до 64,81% (Ja-KB). Яки Кыргызстана заняли промежуточное положение с уровнем гетерозиготности 60,13%. В популяциях яков Ja-A, Ja-TD, Ja-KB уровень наблюдаемой гетерозиготности был значительно выше, чем в больших ( $\geq 18$  голов) выборках. Данный факт можно объяснить с одной стороны критически малым объемом выборки, а с другой неродственными животными, обитающими на обширной территории в достаточном удалении друг от друга, и имеющими разные аллели по микросателлитным маркерам в генотипе. В вышеназванных популяциях наблюдаемая гетерозиготность диагностировалась на уровне 83,33%; 87,50% и 75,00%, соответственно. В двух из 6 исследуемых популяций наблюдался дефицит гетерозигот, который составил 12%.

Наличие приватных аллелей позволяет рассчитать принадлежность животного к какой-либо популяции и дает тем самым индивидуальную характеристику, основанную на генотипе каждого животного. Максимальное число приватных аллелей выявлено в популяции Монгольских яков – 33 аллеля с частотой 2,8-27,8%. В популяциях яков Кыргызстана и Бутана диагностировано по 10 приватных аллелей в 8 и 7 микросателлитных локусах, соответственно. Приватные аллели встречались с частотой от 1 до 30%. В популяциях яков Ja-A и Ja-TD выявлены 1 и 4 аллеля, соответственно, встречающиеся с частотой 25%.



Рис. Популяционная принадлежность изучаемых животных

Суммарное сравнение микросателлитных профилей всех исследованных яков показало достаточно высокий уровень консолидированности популяций. Все животные при попарном сравнении были отнесены к своим собственным популяциям, за исключением двух яков Бутана, которые незначительно ближе оказались к кыргызской популяции. Исследования показали информативность молекулярной системы анализа, основанной на использовании 13-ти микросателлитных маркеров крупного рогатого скота в характеристике различных популяций яков России, Монголии и Кыргызстана.

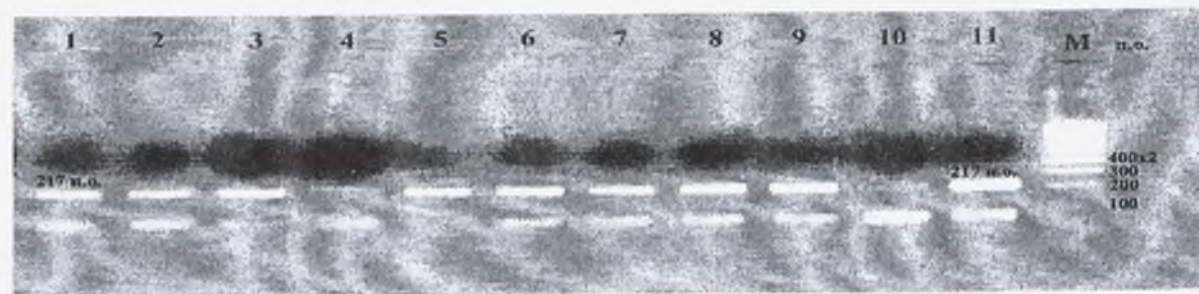
Были проведены работы по банку ДНК пород овец Кыргызстана. Одним из наиболее изученных с генетической точки зрения количественных признаков продуктивности овец является плодовитость.

Анализ материалов свидетельствует о наличии генов BMP-15 и ESR у овец кыргызского горного меринуса, тогда как у алайской и аборигенной курдючной овцы этих генов плодовитости не находится. Гены, влияющие на степень овуляции и плодовитость у овец, та-

кие как костный морфогенетический белок 15 (BMP-15), проявляются у кыргызского меринуса закономерно в связи с генезисом породы, включившей в себя часть генома австралийских меринусов, носящих ген плодовитости.

Известно, что гены, влияющие на степень овуляции и плодовитость у овец, такие как костный морфогенетический белок 15 (BMP-15), регулируют пролиферацию и дифференциацию гранулезных клеток, содействуют их митотическому делению, а также подавляют экспрессию рецепторов фолликулстимулирующего гормона (ФСГ) и стимулируют действие комплекса лигандов, которые играют ключевую роль в плодовитости самок у млекопитающих. Ген костного морфогенетического белка 15 (BMP-15) картирован у овец на X хромосоме, что означает наследование сцепленное с полом.

Результаты проведенных исследований позволили предположить, что локусом гена эстрогенового рецептора является либо главный ген, который влияет на плодовитость у овец, либо тесно сцепленный с ним.



ПЦР анализ гена BMP-15 овец. M = DNA marker (100 bp Ladder); 1–11 – фрагменты гена BMP-15 длиной 217 п.о.

С применением разработанной методики ДНК-диагностики полиморфизма гена ESR были протестированы 112 проб ДНК животных четырех различных популяций.

Результаты исследования полиморфизма гена ESR у овец различных пород подтвердили существование трех генотипов AA, AB и BB. Частота встречаемости аллеля A у романовской породы, гибридов снежного барана с романовской породой овец, ромни-марш и киргизского горного мериноса составила 41,86; 18,00; 47,92 и 50,00 % соответственно, а частота встречаемости аллеля B была 58,14; 82,00; 52,02 и 50,00 % соответственно.

Данные подтверждают гипотезу о влиянии генотипа BB на повышенную плодовитость у овец этих пород. Здесь стоит отметить, что генотип BB был выявлен во всех четырех исследуемых популяциях овец.

Генотип AA был обнаружен в двух исследуемых породах: романовской и у киргизского горного мериноса. У других пород генотип AA выявлен не был. Графические представления результатов анализа частот генотипов и частот аллелей гена ESR у овец различных пород дано в рисунках:



Рис. Частоты встречаемости генотипов гена ESR у овец различных пород



Рис. 2.12 Распределение аллелей гена ESR у овец различных пород

Как следует из данных, прослеживается четкая тенденция связи частот встречаемости аллелей гена ESR и породной принадлежности овец: у животных из популяций романовских овец частота аллеля B выше по сравнению с животными тонкорунных пород. Однако у тонкорунных пород овец частота аллеля B составляет около 50%. Высокую частоту встречаемости желательного аллеля B можно объяснить в популяции киргизского горного мериноса тем, что эта порода была выведена с прилитием крови австралийских мериносов, отличающихся высокими показателями плодовитости и несущих в своем генотипе главный ген плодовитости Борола. Также следует отметить, что частота встречаемости нежелательного аллеля A у киргизских мериносовых овец равна частоте встречаемости аллеля B (50%), а частота генотипа AA у них составила 15%. Это объясняется тем, что исходным материалом при работе с породой служили местные аборигенные породы (грубошерстные и курдючные) Кыргызстана, отличающиеся невысокими показателями плодовитости, но обладающими крепкой конституцией и сильной выносливостью.

Задачей является постепенное тщательное исследование всех пород сельскохозяйственных животных на территории Кыргызской Республики с точки зрения их генного состава и оценки возможностей селекции в формировании тех или иных продуктивных свойств.

Таким образом, геномная оценка открывает новые перспективы, в частности в селекции функциональных признаков. Новые достижения предоставляются в распоряжение животноводов и появляются как плоды труда всех участников национальной системы генетического улучшения в стране сельскохозяйственных животных.

#### Литература

1. «Биологические проблемы животноводства в XXI веке» Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А., М., 2008 г. 508 с.
2. «Характеристика различных популяций яков с использованием микросателлитных маркеров», Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Лущикина Е.М., Даваахуу Л., Багиров В.А., Горелов П.В., Жунушов А.Т., Тезисы конференции ГНУ ВИЖ, 2009 г.
3. «Сравнительный анализ пород крупного рогатого скота *Bos Taurus* и домашнего яка по микросателлитам», Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Аль-Кейси Т.В., Лущикина Е.М., Даваахуу Л., Горелов П.В., Жунушов А.Т., журнал «Зоотехния» №8, август 2009 года, с.5-7.

УДК 619:616.15-071:577

### Действие породного фактора на вариацию гематологических ингредиентов крови у крупного рогатого скота

Институт биотехнологии НАН КР

*Ю.Г. Быковченко – доктор биологических наук, профессор,  
К.У. Уракунова – кандидат биологических наук,  
А. Осоева – мл. сотр. лаборатории биохимии*

Обсуждаются результаты биоаттестации пород крупного рогатого скота на гематологические показатели крови. Показана величина изменчивости ингредиентов крови и доля влияния генетического фактора на нее.

*Ключевые слова:* крупный рогатый скот, гематология, изменчивость, математический анализ.

### Ири мүйүздүү малдын канынын гематологиялык курамынын өзгөрүшүнө тукум факторунун таасири

Кыргызстандагы ири мүйүздүү малдарды биоаттестациялоодо кандын гематологиялык көрсөткүчүнүн жыйынтыгы талкууланды. Кандын курамынын өзгөргүчтүк көлөмү жана ага генетикалык фактордун бөлүгүнүн таасири көрсөтүлдү.

*Негизги сөздөр:* ири мүйүздүү малдар, гематология, өзгөргүчтүк, математикалык талдоо.

### The effect of natural factor on the variation of hematological ingredients of blood for cattle.

Bio certification of cattle in Kyrgyzstan on hematologic blood indexes is discussed. The rate of variability of blood ingredients and the level of effect of genetic factor on it is given.

*Keywords:* cattle, hematology, variability, mathematical analysis

Биоаттестация с - х. животных, как инструмент оценки их функционального состояния, рекомендована в «Глобальном плане действий в области генетических ресурсов животных», принятом 3-7 сентября 2007 года на Международной технической конференции комиссией ФАО в Швейцарии [1]. С этого времени он реализуется во многих странах мира и направлен на сохранение генетических ресурсов животных (ГРЖ) и их разнообразия в связи с угрозой исчезновения.

За последнее четверть века в животноводстве Кыргызстана произошли коренные изменения в организации отрасли. Причем, многие из них носят деструктивный характер, для имеющих в республике генетических ресурсов с - х. животных. Так, по данным нашего биологического мониторинга разных пород и видов с -х. животных, проведенного за последние 5 лет, даже в лучших фермерских и крестьянских хозяйствах имеются от 10 до 30% животных с нарушенным физиологическим гомеостазом, что стало итогом непродуманных методов их разведения, кормления и содержания. При свободной селекции эти нарушения могут закрепляться в потомстве, широко распространяться и приводить к так называемой коррозии пород и их стагнации. С помощью биотестов представляется возможным диагностировать физиологические и биологические нарушения у животных и не допускать их отбора в банки генетических ресурсов для массового воспроизведения. В то же время биоаттестация ГРЖ позволяет уже на ранних стадиях выявлять наиболее ценные генотипы племенных животных и с помощью биотехнологических методов увеличивать их влияние на улучшение фермерских стад.

Объектом исследования служили типичные представители алатауской молочно-мясной породы (22 коровы), черно-пестрой молочной (53 коровы) и абердин-ангусской мясной породы (15 голов), разводимых в различных регионах республики. В исследованиях использовали общепринятые и модифицированные физиологические, гематологические и биохимические методы отечественных и зарубежных авторов. Кровь для исследования отбирали по

правилам асептики и антисептики из яремной вены животных в цельном и консервированном виде. Для анализа применяли стандартные наборы реактивов, рекомендованных для медицинской и ветеринарной практики.

Полученные цифровые показатели обрабатывали математически по специальной программе MO Excell, с вычислением необходимых биометрических констант, а также в дисперсионном анализе, позволяющем рассчитывать долю влияния различных факторов на изменчивость гематологических компонентов крови.

Надо отметить, что каждая их исследованных пород имеет свои генетические корни, но при взаимодействии с экологическими условиями разведения в них формируется определенный физиологический гомеостаз, функциональные процессы и особенности. Поэтому, наряду со сходством в породах, можно найти и различия в уровне развития количественных признаков, к которым следует отнести изучаемые нами гематологические показатели крови.

**Эритроциты крови.** Продуцируются в красном ростке костного мозга из стволовых клеток, затем происходит их пролиферация, дифференциация и поступление с кровотоком в селезенку, где этот процесс продолжается. Виды с-х. животных ненамного различаются по количеству эритроцитов крови. У крупного рогатого скота, по данным различных авторов их среднее содержание составляет 6,5 млн/мкл, с колебаниями от 5,0 до 7,5 млн/мкл. По данным наших исследований эти показатели сведены в таблице 1, из которой следует, что большее количество эритроцитов характерно для алатауской (6,22 млн/мкл) и абердино-ангусской (6,52 млн/мкл) породам. Для этих же пород отмечен и более низкий коэффициент вариации признака – 12,33 и 12,04%, против 16,87% - у черно-пестрой породы, для которой характерен как меньший показатель эритроцитов (5,56 млн.), так и большая разность между максимальным и минимальным значением признака (max – 8,89 млн/мкл, min – 4,24). В среднем для исследованных пород количество эритроцитов составляет 6,108 ± 0,163 млн/мкл, при коэффициенте вариации 13,41%.

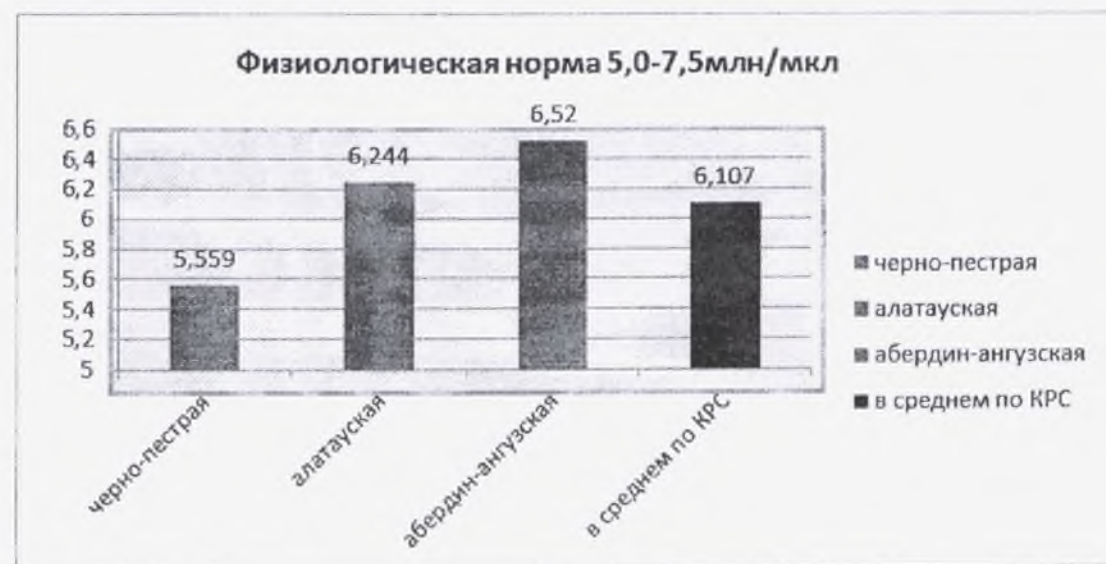
Таблица 1

Показатели математической обработки эритроцитов крови у пород крупного рогатого скота

Показатели	Черно-пестрая	Алатауская	Абердин-ангусская	В среднем по породам
1	2	3	4	5
n	53	22	15	90
Среднее (млн/мкл)	5,559	6,244	6,52	6,108
Стандартная ошибка	0,121	0,164	0,203	0,163
Медиана	5,4	6,41	6,6	6,14
Мода	6	5	7	6
Стандартное отклонение	0,882	0,770	0,785	0,813
Дисперсия выборки	0,779	0,593	0,616	0,662
Коэффициент изменчивости	16,87%	12,33%	12,04%	13,41%
Экссесс	3,387	-1,306	-0,844	1,846
Асимметричность	1,444	-0,206	0,0504	0,429
Интервал	4,65	2,38	2,6	3,21
Минимум	4,24	5,0	5,4	4,88
Максимум	8,89	7,38	8,0	8,09
Уровень надежности (95,0%)	0,243	0,341	0,435	0,340
P - значение				0,00010

Рисунок 1. Диаграмма эритроцитов крови у крупного рогатого скота

Рисунок 1. Диаграмма эритроцитов крови у крупного рогатого скота



Эритроциты – как количественный признак имеет множественную детерминацию, которая является результатом взаимодействия наследственности и среды, своего рода комбинацией этих двух факторов. Причем, это взаимодействие выражается не только их статистической суммой, но и их динамическим проявлением. Между тем доля их относительного вклада в изменчивость конкретного признака может быть оценена с помощью ортогонального дисперсионного комплекса, разработанного

английским математиком и генетиком Рональдом Фишером в 20-х годах прошлого века. Он установил, что меру изменчивости изучаемой величины признака можно разложить на части соответствующие влияющим на эту величину факторам и случайным отклонениям. Именно в этом плане нами впервые произведены исследования по гематологии крови, в связи с породным фактором крупного рогатого скота. В таблице 2 приводятся итоговые расчеты дисперсионного анализа по количеству эритроцитов крови.

Таблица 2

Дисперсионный анализ однофакторного комплекса о связи породного фактора с количеством эритроцитов крови

Источники дисперсии и вариации	Обозначения	Показатели	Ошибка $M_1S$	Число степеней свободы df.	Влияние породы на изменение признака $h_x^2 = C_x/C_y$	F-статистическое	F-критическое	P
Межгрупповые	$C_x$	14.495	7.248	2				
Внутригрупповые	$C_z$	61.565	0.708	87				
Общая	$C_y$	76.061		89	0.1905 = 19,0%	10,24	3.101	0.0001



Установлено, что доля влияния породного фактора на вариацию эритроцитов крови составляет 19,0%, тогда как на все другие факторы приходится 81,0%. Надо отметить, что  $S_x$  (межгрупповая дисперсия) помимо естественной изменчивости эритроцитов, оценивает эффект условий эксперимента или разности между группами, а  $S_z$  (внутригрупповая дисперсия) – оценивает лишь естественную изменчивость эритроцитов. Следовательно, процедура ANOVA представляет собой F- критерий, в котором при заданном уровне значимости нулевая гипотеза о том, что породный фактор не влияет на количество эритроцитов крови отклоняется, поскольку вычисленная F- статистическая (10,24) больше верхнего значения F - критического (3,101) уровня, а, следовательно, влияние фактора достоверно при  $P < 0,001$ . Исходя из этого, при анализе эритроцитов крови необходимо принимать во внимание не усредненные данные по крупному рогатому скоту, а данные по конкретной породе. При этом отклонение от установленных в эксперименте минимальных и максимальных значений по каждой породе следует рассматривать как патологию в эритропоэзе.

Отстаивая тезис о влиянии пород на эритроциты крови следует указать еще на одну специфическую особенность эритроцитов. В их строении находится большое число антигенных детерминант (у крупного рогатого скота выявлено 120), которые распределяются в 12 генетических системах или группах крови, и которые наследуются по типу кодоминирования. Генофонд по группам крови изучен у большинства пород мира, в том числе нами у алатауской и других пород [2]. В многочисленных исследованиях доказана возможность использования аллелей групп крови в изучении генезиса и идентификации пород, в определении их генетического сходства и генетической дивергенции, достоверности происхождения, определения моно - и дизиготности близнецов, фримартинизма телок, родившихся двойней с бычком, в выявлении гемолитической болезни молодняка и других вопросах. Поэтому нет сомнения в том, что в процессе своего филогенеза породы вносили и продолжают вносить

определенное вклад в количество и структуру эритроцитов крови.

**Гемоглобин** Сложный белок, относящийся к группе хромо протеидов и состоящий из 4% красящего вещества - гема и 96% белка - глобина. Его эмпирическая формула –  $C_{636}H_{1025}N_{164}F_3O_{181}$ . Он, в эритроцитах переносит кислород из легких к тканям и транспортирует углекислый газ из тканей в органы дыхания. Такая функция объясняется тем, что гемоглобин при pH-7,35 – слабая многоосновная кислота и поэтому легко связывает щелочи освобождающиеся при выделении углекислоты из организма и, наоборот, легко отдает щелочи связывающие кислоту при ее накоплении в крови.

Учитывая важную роль гемоглобина в жизнедеятельности организма, интерес у исследователей к нему не снижается до настоящего времени. В частности в локусе, детерминирующим полиморфизм гемоглобина, выявлено около 10-13 алломорфных генов, хотя у большинства культурных заводских пород крупного рогатого скота определяют два кодоминантных гена Hb<sup>A</sup> и Hb<sup>B</sup>, обуславливающих три фенотипа Hb- AA, BB и AB. Все три типа были выявлены нами еще в 1969 г у пород крупного рогатого скота, разводимых в Кыргызстане [3], а впоследствии изучена и их связь с различными селекционными и адаптационными признаками [4]. Таким образом, данный гематологический показатель, особенно в горном регионе, представляет значительный научный интерес.

Установлено, что наибольшая концентрация гемоглобина в эритроцитах крови содержится у животных алатауской породы – 106,7 г/л и абердин – ангусской – 105,6 г/л, тогда как у животных черно - пестрой породы этот показатель на 6,7 % меньше и составляет 98,947 г/л. Коэффициент вариации этого показателя у пород примерно одинаковый и равен от 9,35 до 9,75%, хотя размах колебаний между максимальным и минимальным значениям признака выше у алатауского и абердин - ангусского скота.

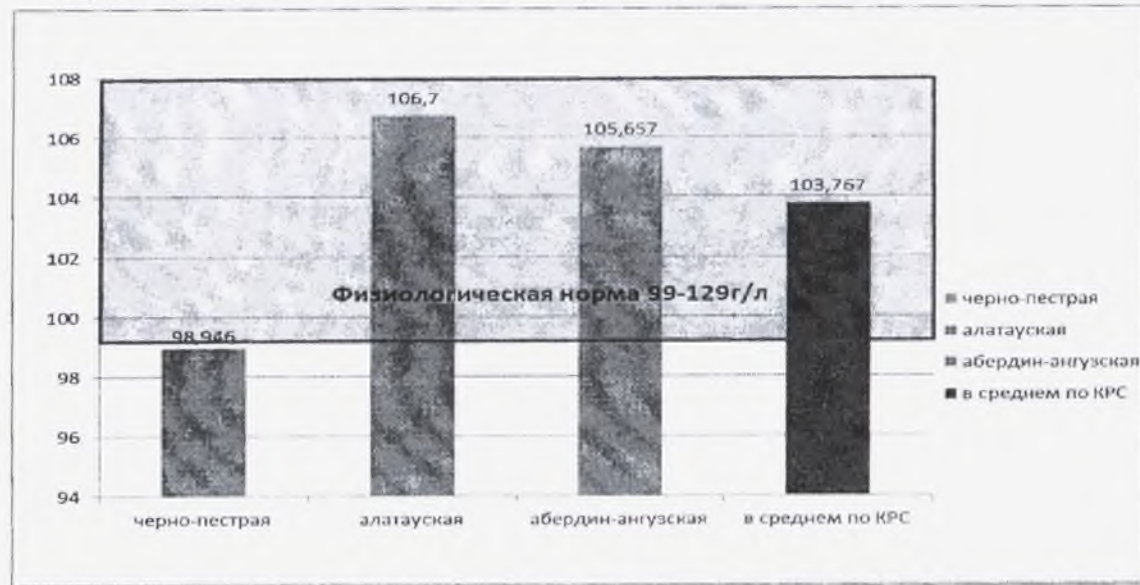
Сводная диаграмма по количеству гемоглобина крови у пород крупного рогатого скота показана на рисунке 2.

Таблица 3

Показатели математической обработки гемоглобинов крови крупного рогатого скота

Показатели	Черно-пестрая	Алатауская	Абердин-ангусская	В среднем по породам
n	45	20	14	79
Среднее (г/л)	98,947	106,7	105,607	103,768
Стандартная ошибка	1,420	2,230	2,752	2,134
Медиана	100,8	105,0	102,05	102,617
Мода	92	104	101,1	99,033
Стандартное отклонение	9,529	9,974	10,298	9,934
Дисперсия выборки	90,793	99,484	106,061	98,779
Коэф. изменчивости	9,63%	9,35%	9,75%	9,58%
Экссесс	-0,613	4,699	-0,085	1,799
Асимметричность	-0,131	1,325	0,703	0,632
Интервал	37,0	50,0	35,0	40,667
Минимум	81	88	89,4	86,133
Максимум	118,0	138,0	124,4	126,8
Уровень надежности (95,0%)	2,863	4,668	5,946	4,492
P значение				2,205

Рисунок 2. Диаграмма гемоглобина крови у крупного рогатого скота



Надо отметить, что сам гемоглобин и детерминирующий его полиморфные типы аутосомный сегригон получили, пожалуй, самое широкое исследование не только у животных, но и у человека. Известно, что с привлечением гемоглобинового локуса формировалась теория балансируемого полиморфизма и так называемая «малярийная гипотеза», постулиро-

валась концепция мутационного иммунитета и «гемоглобиновых» механизмов адаптации, были раскрыты механизмы образования биохимического и серологического наследственного полиморфизма вообще, а также общие механизмы взаимодействия макро-организма и микроба [5].

Таблица 4

Дисперсионный анализ однофакторного комплекса в связи породного фактора с количеством гемоглобинов крови

Источники дисперсии и вариации	Обозначения	Показатели	Ошибка $M_1S$	Число степеней свободы d.f.	Влияние породы на изменение признака $N_x^2 = C_x / C_y$	F-статистическое	F-критическое	P
Межгрупповые	$C_x$	72128,6	36064,3	2				
Внутригрупповые	$C_y$	95437,1	1208,1	79				
Общая	$C_y$	167565,7		81	0,430=43%	29,85	3,11	2,205

Гемоглобин, как и эритроциты крови, имеет количественное измерение. Поэтому для установления его связи с породным признаком использовали дисперсионный анализ, который показал, что доля влияния породы на изменчивость концентрации гемоглобина крови довольно высокая и составляет 43%. При этом, как и в случае с эритроцитами, F – статистическое, оценивающая межгрупповую дисперсию, оказалась выше (29,85) F – критической (3,11), при которой нулевая гипотеза должна быть отклонена. Таким образом, действие породного фактора на изменчивость количества гемоглобина крови признается правомочным и при оценке данного показателя следует принимать во внимание не столько усредненные данные, сколько конкретные показатели каждой породы.

**Цветной показатель (индекс).** В условиях горного региона важным фактором, характеризующим приспособленность организма к гипоксии, является цветной показатель, который тесным образом связан с эритроцитами и гемоглобином крови. Он определяет насыщенность эритроцитов гемоглобином. Причем, сама насыщенность зависит и от гемоглобиновой емкости эритроцитов, чем выше емкость эритроцитов, тем больше в нем помещается гемоглобина крови и наоборот. За счет этого механизма осуществляется адаптация организма животных к гипоксии и другим факторам среды.

В таблице 5 показаны данные математической обработки цветного показателя у пород крупного рогатого скота.

Таблица 5

Показатели математической обработки цветного показателя крови крупного рогатого скота

Показатели	Черно-пестрая	Алатауская	Абердин-ангусская	В среднем по породам
n	45	22	15	82
Среднее	0,91	0,898	0,753	0,854
Стандартная ошибка	0,017	0,035	0,029	0,027
Медиана	0,9	0,86	0,7	0,82
Мода	0,8	0,79	0,7	0,763
Стандартное отклонение	0,120	0,166	0,112	0,133
Дисперсия выборки	0,014	0,027	0,013	0,017
Коеф. изменчивости	13,17%	18,50%	14,94%	15,54%
Экспесс	5,0	0,642	0,206	1,949
Асимметричность	1,686	0,831	0,772	1,096
Интервал	0,66	0,68	0,4	0,58
Минимум	0,74	0,63	0,6	0,657
Максимум	1,4	1,31	1,0	1,237
Уровень надежности (95,0%)	0,036	0,074	0,062	0,057
P. значение				0,000584

Установлено, что по цветному индексу все исследованные породы соответствуют физиологическим нормативам для крупного рогатого скота (0,7 – 1,1). Однако оптимальный индекс (0,91 – 0,898) характерен для черно-пестрого и алатауского скота. Можно предположить, что приспособленность к горной гипоксии абердин-ангусской породы осуществляется за счет большого количества эритроцитов крови, что было показано в таблице 1. Следует указать, что самая высокая изменчивость цветного индекса (18,5%) отмечена у животных алатауской

породы. По данным разных исследователей небольшие отклонения индекса от единицы в ту или другую сторону (не более 15%) не имеют существенного значения. Однако при гемолитических анемиях увеличение цветного индекса происходит главным образом за счет увеличения объема эритроцитов и увеличения числа макроцитов, а снижение индекса – наоборот, за счет уменьшения объема эритроцитов, или пониженного содержания гемоглобина в нормальных по объему эритроцитах и увеличения числа микроцитов. Диаграмма цветного индекса показана в рисунке 5.

Рисунок 5. Диаграмма цветного показателя крови



Таблица 6. Дисперсионный анализ однофакторного комплекса о связи породного фактора с количеством цветного показателя крови

Источники дисперсии и вариации	Обозначения	Показатели	Ошибка $M_1S$	Число степеней свободы d.f.	Влияние породы на изменение признака $N_x^2 = C_x / C_y$	F-статистическое	F-критическое	P
Межгрупповые	$C_x$	0,288	0,144	2				
Внутригрупповые	$C_z$	1,389	0,017	79				
Общая	$C_y$	1,677		81	0,172 = 17,2%	8,193	3,112	0,0005

Установлено, что порода может обуславливать вариацию цветного индекса на 17,2%, при высокой степени достоверности ( $P < 0.001$ ), таблица 6. При этом нулевая гипотеза отклоняется, поскольку F-статистическая (8,193) выше F-критической (3,112) величины.

**Лейкоциты.** Белые кровяные клетки образуются в белом ростке костного мозга в процессе пролиферации и дифференцировки полипотентных стволовых кроветворных клеток. Состоят из ядра и протоплазмы, есть и без ядерные (лимфоциты и моноциты), выполняют

защитную функцию и тесно связаны с процессом иммуногенеза. Большая часть лимфоцитов постоянно циркулирует по костному мозгу, селезенке, лимфатическим узлам и другим очагам лимфоидной ткани посредством крови и лимфатических сосудов. Лейкоциты доставляют антитела к очагам воспаления и обладают антиоксидантной функцией, абсорбируя и инактивируя токсины разнообразного происхождения. В норме у крупного рогатого скота содержится 7 тыс/мкл лейкоцитов, с колебаниями от 4,5 до 12 и 14 тыс/мкл.

Таблица 7

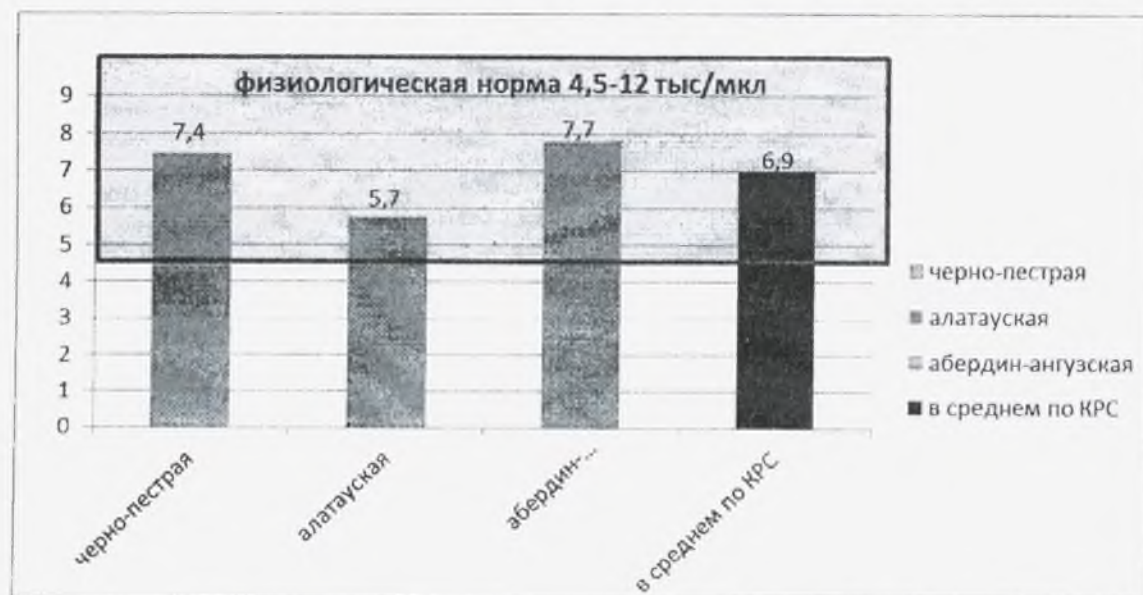
Показатели математической обработки лейкоцитов крови крупного рогатого скота

Показатели	Черно-пестрая	Алатауская	Абердин-ангусская	В среднем по породам
n	42	21	9	72
Среднее, тыс/мкл	7,575	5,744	7,772	7,030
Стандартная ошибка	0,391	0,229	0,837	0,486
Медиана	6,8	5,6	8,85	7,083
Мода	6,5	5,0	4,4	5,3
Стандартное отклонение	2,532	1,051	2,512	2,031
Дисперсия выборки	6,411	1,105	6,308	4,608
Кэф. изменчивости	33,43%	18,30%	32,32%	28,01%
Экссесс	-0,451	0,615	-1,739	0,935
Асимметричность	0,760	0,816	-0,456	0,374
Интервал	8,7	4,3	6,1	6,367
Минимум	4,1	4,05	4,4	4,183
Максимум	12,8	8,35	10,5	10,55
Уровень надежности (95,0%)	0,789	0,478	1,930	1,066
P значение				0,01096

Значительное увеличение (лейкоз), или снижение (лейкопения) количества лейкоцитов в периферической крови, по сравнению с нормой, рассматривается как серьезная патология. Поэтому определение количества лейкоцитов по породам животных следует рассматривать как объективный диагностический тест. У пород скота, разводимых в Кыргызстане, среднее содержание лейкоцитов в крови составляет 7,03 тыс/мкл, с колебаниями от 4,18 до 10,55

тыс/мкл. Наиболее стабильный этот показатель отмечен у животных алатауской породы (5,74, с колебаниями от 4,05 до 8,35 тыс/мкл), тогда как у двух других исследованных пород он был выше – 7,57 и 7,77 тыс/мкл при коэффициенте изменчивости лейкоцитов от 32,32 до 33,43%, или почти в два раза выше, чем у алатауского скота. Для наглядности на рисунке 4 представлена диаграмма лейкоцитов крови у пород.

Рисунок 4. Диаграмма лейкоцитов крови крупного рогатого скота



Надо отметить, что лейкоциты очень чувствительно реагируют на попадание в организм чужеродного антигена (вирусов, бактерий и др.). Поэтому доля влияния породы на изменчивость лейкоцитов крови оказалась сравнительно низкой (12,3%), по сравнению с

другими гематологическими показателями (таблица 8). Однако, нулевая гипотеза здесь также отклоняется, поскольку в дисперсионном анализе F – статистическая оказалась выше (4,82), чем F – критическая (3,13), при  $P < 0,01$ .

Таблица 8

Дисперсионный анализ однофакторного комплекса о связи породного фактора с количеством лейкоцитов крови

Источники дисперсии и вариации	Обозначения	Показатели	Ошибка $M_1S$	Число степеней свободы d.f.	Влияние породы на изменение признака $N_x^2=C_x/C_y$	F-статистическое	F-критическое	P
Межгрупповые	$C_x$	57,31	28,656	2				
Внутригрупповые	$C_y$	410,05	5,94	69				
Общая	$C_y$	467,36		71	0,123= 12,3%	4,822	3,13	0,011

В заключении хотелось бы отметить, что исследованные нами гематологические показатели крови (эритроциты, гемоглобин, цветной индекс, лейкоциты) выполняют в организме очень важные и сложные функции, связанные с оценкой состояния их здоровья и течением различных патологических процессов. С использованием математических методов удалось определить современный уровень и величину изменчивости этих гематологических показателей, а также современные их параметры у разных пород крупного рогатого скота, впервые показать связь и долю влияния генетического фактора (породы) на гематологию крови.

#### Литература

1. Глобальный план действий в области генетических ресурсов животных и Интерлакенская декларация о генетических ресурсах животных. // Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций (ФАО). – Рим, 2008. – 37с.
2. Быковченко Ю.Г. Генетический полиморфизм групп крови у отечественных пород

крупного рогатого скота. // Генетический полиморфизм групп крови и белков у с.-х. животных. [Текст] / П.Ф.Сороковой, В.Г. Воробьев, Л.Д. Майлян, Н.Ф. Анисимов, Ю.Г.Быковченко // Сб. науч. работ ВИЖа. – Дубровицы, 1969.- Вып. 16. – С. 8-14.

3. Быковченко Ю.Г. Изучение белкового полиморфизма у некоторых пород крупного рогатого скота. // Генетический полиморфизм групп крови и белков у с.-х. животных. [Текст] / А.В.Будникова, Ю.Г.Быковченко, А.М.Машуров, Р.Г.Янчева // Сб. науч. работ ВИЖа. – Дубровицы, 1969. – Вып. 16. – С. 56-57.
4. Быковченко Ю.Г. Изучение ассоциаций полиморфных типов гемоглобина с физиолого-биохимическими показателями телок на стойле и в горах. [Текст] / А.Б.Бердыбаева, Ю.Г.Быковченко // Наука и новые технологии.- Бишкек, 1998. – Вып.3.- С. 55-59.
5. Эфроимсон В.П. Введение в медицинскую генетику. [Текст] / В.П.Эфроимсон. – М.: Медицина, 1968. - С.124-152.

УДК: 604.6:636

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ВОСПРОИЗВОДСТВА В СЕЛЕКЦИОННО-ПЛЕМЕННОЙ РАБОТЕ В ЖИВОТНОВОДСТВЕ КЫРГЫЗСТАНА

Институт биотехнологии НАН КР

*К.Т. Жумаканов - кандидат ветеринарных наук*

*М. Чешев - соискатель,*

*Э. Мамбетова - младший научный сотрудник*

*А.Т. Жунушов - член-корреспондент НАН КР, доктор ветеринарных наук, профессор, директор Института биотехнологии НАН КР*

*А.Х. Абдурасулов - доктор сельскохозяйственных наук, профессор*

В статье приводятся материалы о значении биотехнологических методов воспроизводства в селекционно-племенной работе в животноводстве и результаты их внедрения в условиях фермерских хозяйств республики.

*Ключевые слова:* Биотехнология, воспроизводство, искусственное осеменение, трансплантация эмбрионов.

## КЫРГЫЗСТАНДЫН МАЛ ЧАРБАСЫНЫН СЕЛЕКЦИЯЛЫК-АСЫЛ ТУКУМ ИШТЕРИНДЕ ӨЗ ТӨЛҮНҮН ЭСЕБИМЕН КӨБӨЙТҮҮНҮН БИОТЕХНОЛОГИЯЛЫК ЫКМАЛАРЫ

Макалада мал чарбасынын селекциялык асыл тукум иштеринде өз төлүнүн эсебинен көбөйүүдө колдонулуучу биотехнологиялык ыкмалардын мааниси жана аларды республиканын фермердик чарбаларында жүзөгө ашыруунун жыйынтыктары берилген.

*Негизги сөздөр:* Биотехнология, өз төлүнөн көбөйүү, жасалма уруктандыруу, эмбриондорду трансплантациялоо.

## BIOTECHNOLOGICAL METHODS REPRODUCTION IN THE SELECTION-BREEDED WORK OF ANIMALS OF KYRGYZSTAN

The article contains materials on the importance of biotechnological methods of reproduction in breeding and breeding work of animal husbandry and the results of their introduction in the conditions of the farms of the republic.

*Key words:* Biotechnology, reproduction, artificial insemination, embryo transplantation.

Разработка и внедрение биотехнологических методов в животноводстве является одним из ведущих направлений научно-технического прогресса и занимает ключевую позицию в экономике Кыргызстана.

В настоящий момент биотехнология приобретает все более важную роль в повышении доходности животноводства. Руководители животноводческих хозяйств непосредственно заинтересованы в повышении продуктивности сельскохозяйственных животных. Их конечной целью является повышение количества продукции (молока, яиц, мяса, шерсти) без увеличения затрат на содержание поголовья.

Вмешательство человека в процесс размножения животных привело к введению в ветеринарной практике и сельском хозяйстве биотехнологических методов (искусственного осеменения, трансплантации эмбрионов, длительного хранения спермы и эмбрионов, клонирование, оплодотворение яйцеклеток и культивирование *in vitro*, получения трансгенных животных и т.п.). Это позволяет решить ряд проблем, связанных с преодолением бесплодия, профилактикой заболеваний, сохранением видов и пород, селекционным процессом, что имеет целью получение животных с новыми продуктивными свойствами. Наибольшее практическое значение в Кыргызстане в отрасли животноводства получили методы искусственного осеменения и в последние годы трансплантации эмбрионов.

Одним из основных методов совершенствования пород крупного рогатого скота в республике является искусственное осеменение с использованием высококлассных быков-производителей.

Искусственное осеменение животных в настоящее время является основным методом не только в воспроизводстве стада, но и в повышении генетического потенциала и продуктивности животных, благодаря широкому использованию высокоценных племенных производителей, оцененных по качеству потомства.

До 1995 года такой метод широко использовался в хозяйствах республики. Однако, за последние годы метод искусственного осеменения коров и телок резко сократился в связи с ликвидацией сети госплемянций и племенных хозяйств.

В связи с этим в республике ухудшаются породные и продуктивные качества крупного рогатого скота, запущена селекционно – племенная работа в животноводстве.

Поэтому в настоящее время назрела крайняя необходимость восстановления племенно-

го стада высокопродуктивных коров, элевера по выращиванию высокопродуктивных быков при лаборатории Государственной племенной станции «Элита», замораживание и накопление от них спермы и повсеместное внедрение метода искусственного осеменения коров. Возникла также необходимость подготовки кадров техников – осеменаторов при ГПС «Элита», где имеются условия, ученые-специалисты и база для обучения.

Для комплектации собственной племенной базы быками-производителями Государственная племенная станция «Элита» закупила из Америки 6 голов быков разных пород Американской селекции. В данный момент на Элевере имеется 7 быков-производителей швицкой, абердин-ангусской, красной, черной симментальской породы американской селекции и алатауская порода. Быки-производители отбирались по следующим критериям: общее здоровье, здоровые репродуктивные органы, упитанность и племенная ценность.

Одним из объективных показателей воспроизводительной способности быков-производителей является количество и качество спермы. Качество спермы определяли макроскопическим и микроскопическим методами. Макроскопическим методом определяли такие показатели, как объем, цвет, запах и консистенция. Микроскопическим методом определяли густоту, подвижность (активность) спермы концентрацию, а также живучести сперм в лактозо-глицериново-желточном разбавителе.

В настоящее время широкое применение искусственного осеменения сельскохозяйственных животных, стал в нашей стране ведущим селекционным мероприятием, быстро окупаемым, а значит экономически выгодным.

Способ глубокого замораживания спермы животного в жидком азоте в гранулах, соломинках (пайетах), который позволяет максимально использовать выдающихся племенных производителей, накопить запасы семени, хранить ее длительно, транспортировать в любой пункт республики и за ее пределы очень важно для скотоводства.

За 2016 год в Госплемянции заморожено 5104 дозы спермопродукции с активностью оттаянного семени 4-5 баллов.

Из таблицы 1 видно, что наибольший объем эякулята у быка-производителя Фронтьер 148,1 мл, затем в убывающем порядке Роско-136,8 мл, Аталык-131,3 мл, Черный-138,3 мл, Райн-113,7мл, Красный-119,6 мл и Регис-95,1мл. Объем эякулята в среднем составляет 126,1 мл.

Таблица №1

## Показатели спермопродукции у быков производителей различных пород

Породы и клички быков	Общий объём эякулята, мл	Объём эякулята в среднем, М±m	Средний балл свежеполученного семени М±m	Коли-во замороженных спермодоз в год	Средний балл замороженно-оттаянного семени
Швиц/Фронтнер	148,1	5,7±1,54	7,5±0,55	980	5,0±0,41
Швиц/Роско	136,8	5,2±0,58	8,5±1,35	481	4,5±1,02
Алатоо/Аталык	131,3	5,5±1,35	7,8±1,24	940	5,2±0,25
Абердин Ангус/Райн	113,7	4,5±1,47	8,7±1,07	562	5,1±1,23
Абердин Ангус/Регис	95,1	3,2±2,01	8,5±1,42	310	4,5±0,78
Симментал /Красный	119,6	4,9±1,02	7,5±1,30	877	5,2±10,34
Симментал /Черный	138,3	8,5±1,05	7,4±0,58	954	5,3±1,11
<b>В среднем</b>	<b>126,1</b>	<b>5,36±1,42</b>	<b>7,98</b>	-	<b>4,97±1,23</b>
<b>Всего</b>	<b>882,9</b>		-	<b>5104</b>	-

В неделю согласно графика два раза проводится сбор семени. Для криоконсервации семени применяется синтетические питательные среды Triladyl или AndroMed, произведенные в Германии с добавлением желтка куриного яйца. В среднем за один раз получают 430-580 спермодоз. Ежемесячно в среднем сдается на хранение 1600-1800 спермодоз. Из них реализуется 30-40% по всей республике. Остальные дозы хранятся в качестве банка генетической информации.

В области селекции крупного рогатого скота трансплантация эмбрионов обеспечивает более интенсивное размножение животных высокой генетической ценности и животных малочисленных пород, сокращает генерационный интервал, предоставляет возможность проводить более строгую селекцию матерей быков, улучшает контроль за наследственностью матерей племенных быков. Этот метод предоставляет большие возможности для использования мировых генетических ресурсов: транспортировка глубоохлажденных эмбрионов вместо животных, устранение ветеринарных препятствий в международной торговле, исключение необходимости адаптации импор-

тированного генетического материала к новым условиям среды.

Внедрение трансплантации эмбрионов в Кыргызстане проводятся под руководством доктора Жо Райта из Хьюстонского университета США. Все необходимые инструменты, препараты, реактивы и электронный микроскоп с монитором безвозмездно передан доктором Жо Райт в лабораторию Биотехнологического центра Кыргызского научно-исследовательского института животноводства и пастбищ. Проведены серии опытов на базе Сокулукского опытного хозяйства и других племенных фермерских хозяйств. От двух коров-доноров вымыто 34 эмбриона.

Реципиентами были телки в возрасте 18 месяцев, с хорошо развитыми органами воспроизводства, с живой массой 380 кг. Цикличность половых спонтанных охот составляла 18 дней, животные находились под наблюдением в течении трех месяцев. Работу начали после 4-й спонтанной охоты. Кормление и содержание телок-реципиентов совершалось по всем правилам зоотехнии. День охоты при отечете полового цикла принимается за нулевой. Пересадку проводили ровно на 7-й день после

охоты, утром в 10 часов, потому что эмбрионы были получены тоже в утреннее время.

Было подготовлено 10 телок-реципиентов: 5 голов для нехирургической пересадки и 5 телок для хирургической. В день проводили по одной пересадке к моменту 7-го дня. Пересадку эмбрионов производили двумя методами: нехирургическим (5 телок) и хирургическим (5 телок).

По окончании пересадки вели контроль за возможным проявлением повторной охоты у телок-реципиентов. Из 5 пересаженных эмбрионов прижилось 2 эмбриона, что составило 40% приживляемости.

Хирургическим методом мы провели пересадку эмбрионов на 5 телках, предварительно осуществив линейную анестезию 2%-ным новокаином на свежесбрившем участке на правой стороне голодной ямки. В нашем случае из 5 телок стельными оказалось 3 головы. Это составило 60 % приживляемости.

В настоящее время развитие агропромышленного комплекса страны сдерживается не столько из-за отсутствия или недостатка научных разработок, рекомендаций, пород, типов и линий животных, сколько из-за недостаточности их внедрения в производство.

Один из основных факторов сдерживающих внедрение метода искусственного осеменения коров и телок в хозяйствах республики является отсутствие кадров. Старое поколение, имеющие опыт работы по искусственному осеменению животных ушли из жизни, а новые кадры еще не подготовлены. Крайне назрело решение этого вопроса путем организации постоянно действующего курса подготовки техников – осеменаторов.

Осуществление этого мероприятия сопряжено с трудностями связанными с отсутствием криогенного оборудования - сосудов Дьюара и приборов по замораживанию семени быков, а также транспортных средств для развоза спермы и жидкого азота по хозяйствам.

Для внедрения метода искусственного осеменения необходимо выделить средства для

покупки автотранспорта, сосудов Дьюара и жидкого азота. Эти вопросы необходимо решить в МСВХиПП Кыргызской Республики.

На современном этапе имеющееся поголовье высокопродуктивных коров не обеспечивает полную потребность племпредприятий в быках-производителях. Использование метода трансплантации эмбрионов в селекционно-племенной работе открывает возможности ускоренного размножения генетически ценных животных по материнской линии.

В настоящее время технология трансплантации эмбрионов включена в долгосрочные племенные программы многих развитых стран мира по разведению, улучшению и сохранению существующих пород скота.

Таким образом, трансплантация эмбрионов играет важную роль в молочном и мясном скотоводстве страны, и ее значение будет постоянно возрастать, т.к. она позволяет лучше использовать биологические резервы самок для повышения производства продуктов животноводства.

## Литература

1. Жумаканов К.Т., Керималиев Ж.К., Абдурасулов А.Х., Жуношов А.Т. Сохранение генофонда сельскохозяйственных животных - проблема государственного значения, Известия ВУЗов Кыргызстана. 2017. № 1. – С. 74-76.
2. Кыдырмаев А.К., Абдурасулов А.Х., Чешев М.Ч., Романов Ч.Р. Биотехнологические приемы улучшения породного состава крупного рогатого скота, Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина. 2016. № 3 (39). – С. 14-19.
3. Иманбаев У.С., Абдурасулов А.Х. Особенности воспроизводства стада мясного скота, Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина. 2014. № 1 (30). – С. 227-230.

УДК 636.1.082.453.5.

## ЭКСТЕРЬЕРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ И МОЛОЧНАЯ ПРОДУКТИВНОСТЬ КЫРГЫЗСКОЙ (АБОРИГЕННОЙ) ЛОШАДИ

*Б.И. Токтосунов - кандидат сельскохозяйственных наук*

*А.Х. Абдурасулов - доктор сельскохозяйственных наук, профессор,*

*А.Т. Жунушов - член-корреспондент НАН КР, доктор ветеринарных наук, профессор, директор Института биотехнологии НАН КР*

В статье приводятся экстерьерные особенности и молочная продуктивность и биохимический состав кобыльего молока кыргызской лошади в разных регионах Кыргызской Республики.

Изучены экстерьерные показатели и определены основные промеры в среднем по популяции. Путем контрольных удоев установлена молочная продуктивность кобыл этой популяции. Определен биохимический состав молока по шести показателям.

*Ключевые слова:* Кыргызская лошадь, региональные популяции, экстерьер, молочная продуктивность, биохимия молока.

## КЫРГЫЗ (АБОРИГЕН) ЖЫЛКЫЛАРЫНЫН ЭКСТЕРЬЕРДИК-ӨЗГӨЧӨЛҮКТӨРҮ ЖАНА СҮТ АЗЫКТУУЛУГУ

Макалада Республиканын ар кайсы региондорунда өстүрүлгөн кыргыз жылкыларынын экстерьердик өзгөчөлүгү, сүт кунардуулугу жана бээнин сүтүнүн биохимиялык курамы берилген.

Популяциялар боюнча экстерьердик көрсөткүчтөр изилденип, негизги промерлери аныкталган. Текшерүү саанын уюштуруу жолу менен сүт кунардуулугу такталган, алты көрсөткүч боюнча сүтүнүн биохимиялык составы аныкталган.

*Негизги сөздөр:* Кыргыз жылкысы, регионалдык популяциялар, экстерьер, сүт кунардуулугу, сүтүнүн биохимиясы.

## EXTERIOR FEATURES AND MILK PRODUCTIVITY OF THE KYRGYZ (ABORIGENE) HORSES

The article describes the exteriors and milk production and the biochemical composition of the mare's milk of a Kyrgyz horse in different regions of the Republic.

Exterior indicators were studied and the main measurements on the average for the population were determined. The milk yield of mares of this population is established by controlling milk yields. The biochemical composition of milk is determined by six indicators.

*Key words:* Kyrgyz horse, regional populations, exterior, milk productivity, milk biochemistry

Животноводство Кыргызстана является одной из важнейших составляющих отраслей сельского хозяйства, по именно в этой отрасли агропромышленного комплекса скопилось наибольшее количество нерешенных проблем.

Важнейшей проблемой современности является сохранение биоразнообразия, в том числе и сельскохозяйственных животных. Первоначальным и основным материалом при создании культурных пород являлись аборигенные породы. Местные породы формировались в экстремальных условиях и идеально приспособлены к местным природным условиям.

Одной из них является кыргызская лошадь. Кыргызская лошадь играла важную роль в укладе жизни кыргызов, служила транспортом, военным орудием и пищей. Кочевой образ жизни народов был немислим без использования лошади. По хозяйственному назначению кыргызские лошади – верхово - вьючные, по признакам климатических поясов и зон - горные, по происхождению - аборигенные (местные) и по отличиям в способах и методах разведения - табунные лошади. Кыргызская лошадь выведена вековой народной селекцией, адаптирована к жестким условиям высокогорного пастбищного содержания (круглогодичное пастбищное кормление) и является уникальной лошадей горного типа. Однако, в целях получения выгоды идет бессистемное скрещивание с другими породами и теряется уникальность и чистота популяции кыргызской лошади. Судя по имеющейся численности поголовья, данная лошадь стоит на критической точке исчезновения. Кыргызская лошадь является перспективной и конкурентоспособной. А кроме того является нематериальной ценностью кыргызского народа. Необходимо ввести её в фонд защиты генотипов аборигенных и примитивных пород животных FAO.

### Материалы и методика исследований

Для исследования кыргызской аборигенной лошади были отобраны высокогорные районы республики, где наиболее часто встречаются типичные особи данной популяции.

Наибольшее количество лошадей обследовалось в Ошской области (Жара-Кулжинском районе в Алайкуу), Иссык-Кульской области Тонском районе (Жок-Сай, сыртовые зоны Арчалы), Нарынской области, Атбашинском и Акталиинском районах (Арпа), Нарынском районе (Жер Кочку). Отбор типичных особей проводился по фенотипу: сухая голова, широкая развитая грудь, крепость копытного рога, сухожилий, конечностей, широкая и средней длины шея с густой гривой и хвостом, низко-

рослость, хорошо развитый и широкий, часто спущенный короткий круп и крепкая поясница, крепкая конституция, выносливость и нетребовательность к условиям содержания (на круглогодичном пастбищном корме). При сомнительности происхождения проводился опрос владельца с тщательным осмотром и сопоставлением по критериям отбора.

При взятии проб крови и волосных луковиц руководствовались рекомендацией по взятию и транспортировке проб для генетического анализа Всероссийского научно-исследовательского института коневодства.

Применялся метод оценки экстерьера лошади при помощи измерений и описательным методом. Использовались общепринятые методы измерения промеров измерительной палкой, циркулем Вилькенса, измерительной лентой. Для характеристики экстерьера кыргызской лошади было взято 19 промеров с точностью 0,5 см. Во всех районах брались промеры только с жеребцов и конематок, не моложе четырех лет.

Для определения живой массы лошадей применялся математический метод по данным взятых промеров, по формуле А.Л.Моторина для всех типов лошадей ( $Y = 6 \times K - 620$ , где K – обхват груди в сантиметрах).

Для сравнения данных по регионам, исследуемое поголовье было разделено на два региональных типа: южная и северная региональная популяция кыргызской лошади.

Применялся метод экстерьерного фотографирования лошадей на естественном фоне с использованием порядковых номеров. Дополнительно индивидуально заполнялась карточка лошади с подробным описанием экстерьера, отметины и приметы, ФИО и адрес владельца.

Молочную продуктивность определяли по формуле А.И.Сайгина (Красников, 1995, с. 92) методом контрольных доек – одну треть суток, фиксировали время отделения жеребенка и выдаивали молоко без учета, потом доили через каждые 2 часа вручную, 4 раза, чтобы получить удой за 8 часов. Одновременно с определением количественных показателей был отбор проб молока на исследования биохимического состава. Отбор проб проводился согласно инструкции. Было отобрано от каждого типа кыргызской лошади по 10 проб, всего 20 проб. Исследовался биохимический состав молока. Исследования велись на базе лаборатории химического анализа животноводческой продукции и кормов Кыргызского научно-исследовательского института животноводства и пастбищ.

**Результаты исследований**

Исследование данного поголовья имеет свои сложности, так как лошади кыргызской местной породы разводятся при полудиком табунном содержании. В основном исследовались дойные кобылы и прирученные жеребцы-производители, количество взрослого поголовья на 2016 год составило всего 78 голов, в т.ч. кобыл – 38 голов, жеребцов – 40 голов.

Всего за период с 2015 по 2016 годы было

исследовано взрослого поголовья 198 голов, в том числе кобыл 120 голов и жеребцов 78 голов, то есть 7-7,7% от общей численности поголовья исследуемой популяции.

Исследовано в полевых условиях экстерьер 78 голов, в том числе кобыл 38 и жеребцов 40 голов. Всего за период с 2015 по 2016 годы было исследовано экстерьерные показатели взрослого поголовья 198 голов, в том числе кобыл 120 голов и жеребцов 78 голов.

Таблица 1

**Показатели основных промеров экстерьера аборигенной кыргызской лошади**

Региональные популяции	пол	Основные промеры			
		высота в холке	косая длина туловища	обхват груди	обхват пясти
Южная	жеребцы	137,83±0,59	142,14±0,64	160,0±0,83	18,82±0,09
	кобылы	134,3±0,52	140,12±0,41	159,92±0,56	18,63±0,09
Северная	жеребцы	137,2±0,41	141,81±0,53	160,45±0,79	19,29±0,10
	кобылы	134,1±0,47	141,09±0,73	160,36±0,61	18,71±0,07
Средние показатели	жеребцы	137,52±0,5	141,98±0,59	160,23±0,81	19,06±0,1
	кобылы	134,2±0,5	140,61±0,57	160,14±0,59	18,67±0,08

По таблице 1 показателей основных промеров видно, что по всем 4 промерам при сопоставлении между региональными типами нет большой разницы, пределы колебаний составляют  $\lim$  0,08-0,97см. Можно утверждать, что средние показатели по четырем основным промерам являются стандартами данной популяции. Эти данные возможно будут незначительно изменяться при

дальнейших исследованиях в последующие годы.

Для исследования молочной продуктивности с каждого региона было отобрано типичных по фенотипу популяции кыргызских лошадей всего 50 голов конематок по 25 голов в каждом регионе, из них по возрасту: 10 голов до 5 лет, 10 голов от 5 до 10 лет, 5 голов от 10 до 15 лет.

Таблица 2

**Среднемесячная молочная продуктивность региональных типов популяции аборигенной кыргызской лошади**

Регионы	M±m, л	$\delta$ , л	Cv, %	Lim, л
Северный	365,98±27,52	67,43	18,42	260-440
Южный	379,87±24,22	59,33	15,62	291- 429,3
В среднем	372,93 ±25,87	63,38	17,02	260-440

Из таблицы 2 видно, что по среднемесячной молочной продуктивности одной конематки имеется незначительная разница на 13,89 литров в пользу южного регионального типа, что можно объяснить более мягкими климатическими условиями. В целом среднемесячный удой по популяции кыргызских лошадей составляет 372,93 литров, а за 6 месяцев лактации 2238 литров с среднесуточным удоём 12,2 литра и с колебанием суточной молочности 3,8-23,4 литров.

Одновременно с определением количественных показателей был отбор проб молока на исследования биохимического состава. Отбор проб проводился согласно инструкции отбора проб, было отобрано от каждого 2-х региональных типов кыргызской лошади по 10 проб, всего 20 проб. Исследования велись на базе лаборатории химического анализа животноводческой продукции и кормов Кыргызского научно-исследовательского института животноводства и пастбищ.

Таблица 3

**Биохимический состав молока конематок региональных типов популяции аборигенной кыргызской лошади**

Показатель	Плотность <sup>°А</sup>	Жир, %	Белок, %	Лактоза %	Зола %	Сухое вещество, %
Северный региональный тип кыргызской лошади						
M±m	33,9±0,43	1,8±0,1	2,0±0,1	7,0±0,24	0,4±0,02	11,4±0,29
$\delta$	1,36	0,30	0,32	0,77	0,07	0,92
Cv	4,0	16,8	16	11	17,8	8,1
Lim	32,4-36,9	2,4-1,4	2,6-1,7	6,41-8,9	0,33-0,54	10,1-12,7
Южный региональный тип кыргызской лошади						
M±m	33,8±0,49	1,76±0,06	2,1±0,1	6,98±0,11	0,39±0,02	11,04±0,25
$\delta$	1,55	0,20	0,31	0,36	0,07	0,78
Cv	4,69	11,36	14,76	5,16	17,95	7,07
Lim	30,8-35,9	1,5-2,1	1,8-2,7	6,53-7,66	0,31-0,52	10,1-12,4
Среднее по популяции	33,85±0,46	1,78±0,08	2,05±0,1	6,99±0,17	0,395±0,02	11,22±0,27

Анализируя таблицу 3, можно отметить, что существенных отличий в составе молока конематок разных региональных типов не наблюдается. Однако, почти по всем показателям, кроме белка молока на 0,1%, южный региональный тип незначительно уступает северному, но по среднемесячному удою одной конематки он немного выше (на 13,9 литров).

На основании вышеизложенных материалов экспедиционного исследования, были получены определенные результаты экстерьеров и продуктивности кыргызской лошади.

**Заключение**

Для сохранения популяции кыргызской ло-

шади первостепенной задачей является изучение продуктивно-биологических показателей, установление определенных экстерьерных параметров и утверждение как отдельной породы лошадей.

Членами экспедиции проведен мониторинг поголовья кыргызских лошадей в экспериментальных высокогорных зонах республики и установлена численность данной популяции. Она составляет 2563-2824 голов или 49-54% от общего конепоголовья.

Изучены экстерьерные показатели по 19 промерам и определены основные промеры в среднем по популяции. У жеребцов высота в



холке 137,52 см, косая длина туловища 141,98 см, обхват груди 160,23 см и обхват пясти 19,06 см. У кобыл высота в холке 134,2 см, косая длина туловища 140,61 см, обхват груди 160,14 см и обхват пясти 18,67 см. Таким образом, определены параметры экстерьера кыргызской лошади.

Путем контрольных удоев установлена молочная продуктивность кобыл этой популяции и составляет 2238 литров за 6 месяцев лактации со среднесуточным удоем 12,2 литра. По шести показателям определен биохимический состав молока.

Дальнейшая задача по данной теме – это определение генотипа популяции кыргызских лошадей, воспроизводительная способность жеребцов и кобыл, рост и развитие молодняка, мясная продуктивность и ряд других продуктивно-биологических показателей.

#### Литература

1. Красников, А.С. Коневодство: учебное пособие / А.С.Красников, В.Х.Хотов. – М.: МСХА. 1995. - 90 с.
2. Жаклин Рипар. Кыргызская лошадь, сохранение и использование скачки на выносливость и экотуризм. Практическое указание. - Бишкек. Учреждение Кыргызаты. 2007.
3. Абдурасулов Ы. Сохранение и рациональное использование генетических ресурсов культурных и аборигенных пород Кыргызстана. В сб. науч. тр. КАНУ. – Бишкек. 2003.
4. Жумаканов К.Т., Керималиев Ж.К., Абдурасулов А.Х., Жунушов А.Т., Сохранение генофонда сельскохозяйственных животных - проблема государственного значения // Известия ВУЗов Кыргызстана. - 2017. № 1. - С. 74-76.

УДК: 636.32/38:611/612

### ПОЛИМОРФИЗМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ ДНК ОВЕЦ РАЗНЫХ ПОРОД, РАЗВОДИМЫХ В КЫРГЫЗСТАНЕ

Всероссийский научно-исследовательский институт овцеводства и козоводства,  
Институт биотехнологии НАН КР  
Биолого-почвенный институт НАН КР.

Т.Е. Денискова - старший научный сотрудник ФГБНУ Всероссийский НИИ животноводства им. академика Л.К. Эриста, кандидат биологических наук  
М.И. Селионова - директор ФГБНУ ВНИИОК, профессор  
Е.М. Луцихина - доктор сельскохозяйственных наук  
А.М. Исакунов - младший научный сотрудник  
А.Д. Давлетбаков - заведующий лабораторией зоологии позвоночных животных ВПИ НАН КР, кандидат биологических наук

Проведено первое ДНК исследование овец различных пород и архаров в Кыргызстане. Выявлены особенности генетической структуры, уровни полиморфизма 12-микросателлитных локусов для каждой популяции.

**Ключевые слова:** породы овец, генотипирование, полиморфизм, микросателлиты.

### КЫРГЫЗСТАНДАГЫ ӨСТҮРҮЛГӨН КОЙЛОРДУН АР ТҮРДҮҮ ТУКУМУНУН ДНК МИКРОСАТЕЛЛИТТИК ЛОКУСУНУН ПОЛИМОРФИЗМИ

Кыргызстанда биринчи жолу койлордун ар түрдүү тукумунун жана аркарлардын ДНКсын изилдөө жүргүзүлдү. Генетикалык түзүлүшү, ар бир популяциядагы 12-микросателлиттик локустун полиморфизм өзгөчөлүгү аныкталды.

**Негизги сөздөр:** койдун тукуму, генотипирлөө, полиморфизм, микросателлиттер.

### POLYMORPHISM OF MICROSATELLITE DNA LOCUSES OF KYRGYZSTAN SHEEP BREEDS .

First DNA investigation was done to different sheep's breed and arggars in Kyrgyzstan . 12 locus's multiforms was described about population.

**Key words:** sheep's breed, genotypics, multiforms, microsatellyti.

Проблема сокращения генетических ресурсов пород сельскохозяйственных животных, снижение их генетического разнообразия в популяциях, потеря породного разнообразия создает условия не только уменьшения, но и опасность утраты уникальных, особо ценных генофондов.

Основным аспектом сохранения биоразнообразия является генетический потенциал существующих местных пород, так как их внутривидовая изменчивость и адаптивные возможности обеспечивают устойчивое развитие животноводства в разнообразных экосистемах.

Важность минимизации потерь генетических вариантов, сохранения многообразия существующих локальных, региональных групп, пород, типов животных, в том числе и овец, способных выживать в любых условиях, давать продукцию, подтверждена международной конвенцией о биологическом разнообразии [1].

Основным направлением в разработке программ по сохранению пород является выявление их генетического своеобразия. В настоящее время особо актуальными являются исследования генетической структуры локальных пород на основе маркерных технологий – Marker assisted selection, позволяющих более полно, объективно оценить индивидуальные генотипы животных, состояние генетических ресурсов, а также степень дифференциации пород, эволюционно-генетических связей между ними.

Основным требованием, предъявляемым к генетическим маркерам, при оценке их ассоциации с хозяйственно-полезными признаками, является высокий уровень полиморфности. Таким требованиям в полной мере отвечают диспергированные tandemно-повторяющиеся короткие последовательности (Short Tandem Repeats, STR), располагающиеся по всему эукариотическому геному, так называемые микросателлиты [2].

Полиморфизм STR определяется разной копийностью мономерных единиц в кластере, что приводит к существованию множественных аллельных вариантов, возникших в результате рекомбинаций и ошибок в процессе репликации и репарации ДНК [3].

Из-за гипервариабельности (десятки аллелей по одному локусу, отличающихся по числу повторов), микросателлиты широко используются и для изучения разнообразия, картирования локусов количественных признаков (CRTL). Они эффективны для

анализа эволюционных связей между различными породами сельскохозяйственных животных и определения времени появления пород, их паспортизации [4]. Высокая скорость их мутирования и кодомбинантный характер наследования позволяют оценивать внутри и межпородное генетическое разнообразие, генетические взаимоотношения между популяциями путем оценки генетических расстояний [5].

Поскольку, использование для генотипирования разных микросателлитных систем, приводит к различиям в оценках числа аллелей одного и того же локуса, то ФАО для максимизации количества маркеров, совместно используемых в независимых исследованиях, предложило обновленный, ранжированный список микросателлитных локусов для главных видов сельскохозяйственных животных. Так, например, аликвотная стандартная ДНК овец и коз, использованная в эконогенпроекте Европейского Союза (ЕС), распространилась и в других масштабных проектах Азии и Африки. Эти образцы могут быть затребованы через Интернет – сайт проекта (Econogene Website – <http://www.econogene.ru>). Такой подход очень важен для воссоздания картины происхождения и истории той или иной популяции, породы, для выявления региональных селекционно-значимых генетических особенностей, а также для сохранения уникальных животных и широкого включения их в селекционный процесс [6, 7, 8, 9].

Территория Кыргызской Республики на географической карте почти вся коричневого цвета, то есть практически вся покрыта горами. Но на ней присутствует немало других ландшафтов: от высокогорий с ледниками до прекрасных низкотравных и высокотравных лугов, хвойных и лиственных лесов и степей до каменистых пустынь. Такая мозаичность условий определяет адаптивность к условиям внешней среды и разнообразие пород овец в Кыргызстане. Однако до настоящего времени их генетические особенности не исследовались. В этой связи изучение пород и популяций овец, а также архара, как с точки зрения генетической локализации в мировом генофонде пород, так и в практическом аспекте изменения их генетической структуры под влиянием селекционных процессов определило цель и актуальность настоящего исследования.

Методика. Биоматериалом служила ДНК, выделенная из материала ушных выщипов овец

(n 93) гиссарской, грубошерстной породы, нескольких популяций овец, разводимых в чистоте: привезенных из Таджикистана (n 14); гиссарская 1 (n 21с.Фрунзе, близости от Бишкека, Сокулукского р-на, Чуйской долины); гиссарская 2 (n 10, Чуйской обл. с. Ленинское, Аламудунского р-на) и помесей I поколения, полученных от скрещивания с породой авасси (n 10, там же). Предметом изучения служила также ДНК местных кыргызских грубошерстных курдючных овец (n 5, с. Алайку, Баткенской обл.); кыргызского горного меринуса (n 7, с. Жоон – Тобе, Кара - Бууринского р-на, Талаской обл.) и архаров из хребтов Нарынской обл., (n 6). Генотипирование проводилось по 12 микросателлитным локусам (BLT001B, CSRD247, FCB20, CSAP36, MAF65, McM147, OarCP49, D5S2, HSC, BMS2213, INRA23, BL1001) на генетическом анализаторе

ABI3130xl (Applied Biosystems, США) с использованием программного обеспечения GeneMapper v.4 (Applied Biosystems, США). Для расчета среднего числа аллелей на локус (Na), эффективного (Ne) и числа информативных аллелей, т.е. с частотой встречаемости более 5% ( $Na \geq 5\%$ ), ожидаемой (He) и наблюдаемой (Ho) гетерозиготности, коэффициента инбридинга (Fis) использовалась программа GenAIEХ 6.5 [10]. Степень генетической дифференциации пород оценивали по показателю Fst [11] и генетическим дистанциям Нея (DN) [12] при попарной кластеризации.

Результаты. Анализ полученных результатов свидетельствует о генетическом своеобразии пород овец, разводимых в условиях Кыргызстана выразившимся в значительной вариабельности среднего числа аллелей на локус (табл. 1).

Таблица 1.

Характеристика аллелофонда и параметры генетического разнообразия изучаемых пород овец

Порода, популяции	Na	Ne	Na>5 %	Ho	He	Fis
Гиссарская таджикская	8,083± 0,874	5,843± 0,603	5,833± 0,548	0,775± 0,041	0,793 ± 0,036	0,017 ± 0,033
Гиссарская 1	9,667± 0,890	6,114± 0,618	6,000± 0,522	0,732± 0,039	0,808± 0,028	0,095 ± 0,036
Гиссарская 2	6,583± 0,733	4,439± 0,438	6,583± 0,733	0,714± 0,063	0,741 ± 0,035	0,050 ± 0,074
Гиссарская x авасси	7,000± 0,640	4,796± 0,425	7,000± 0,640	0,765± 0,057	0,767 ± 0,028	0,009 ± 0,058
Алайская	9,333± 0,820	5,866± 0,617	6,583± 0,701	0,680± 0,250	0,796 ± 0,033	0,149 ± 0,050
Кыргызская	5,083± 0,468	4,354± 0,402	5,083± 0,468	0,692± 0,078	0,710 ± 0,067	0,020 ± 0,069
Кыргызский горный меринос	5,667± 0,595	4,197± 0,356	5,667± 0,595	0,587± 0,070	0,707 ± 0,065	0,174 ± 0,057
Архар	2,750± 0,592	2,209± 0,452	2,750± 0,592	0,444± 0,115	0,456 ± 0,077	0,059 ± 0,157
В среднем	6,771± 0,48	4,727± 0,47	5,687± 0,43	0,688± 0,064	0,722± 0,046	0,072± 0,066

Примечание:  $N_a$  – среднее число аллелей на локус;  
 $N_e$  – число эффективных аллелей на локус  
 $N_a > 5\%$  – аллелей на локус с частотой встречаемости от 5%;  
 $H_o$  – наблюдаемая гетерозиготность;  
 $H_e$  – ожидаемая гетерозиготность;  
 $F_{is}$  – коэффициент инбридинга

Максимальная величина изучаемого показателя была характерна для популяции гиссарская 1 ( $9,667 \pm 0,890$ ), для полугрубошерстной алайской породы ( $9,333 \pm 0,820$ ), несколько меньшая ( $8,083 \pm 0,874$ ;  $7,000 \pm 0,640$ ) – для гиссарской породы и помесей гиссарская х авасси, сравнительно одинаковым ( $5,667 \pm 0,595$ ;  $5,083 \pm 0,468$ ) среднее число аллелей было у горного меринуса и овец кыргызской грубошерстной породы, минимальное ( $2,75 \pm 0,66$ ) – у архаров.

Наибольшее число эффективных аллелей на локус установлено в популяциях гиссарской породы (таджикской и 1, соответственно  $6,114 \pm 0,618$  и  $5,843 \pm 0,603$ ) и алайской ( $5,866 \pm 0,617$ ); сравнительно равномерное распределение эффективных аллелей на локус оказалось у помесей гиссарская х авасси ( $4,796 \pm 0,425$ ), в популяции гиссарская 2 ( $4,439 \pm 0,438$ ), у местных кыргызских грубошерстных курдючных овец ( $4,356 \pm 0,402$ ) и у горного меринуса ( $4,197 \pm 0,356$ ); минимальное ( $2,209 \pm 0,452$ ) – у архаров.

Неоднозначным оказалось и число информативных аллелей, встречающихся с частотой 5% и более. Наибольшая величина этого показателя была характерна для помесных овец гиссарская х авасси ( $7,000 \pm 0,640$ ). У овец алайской полугрубошерстной породы и популяции гиссарская 2 число информативных аллелей на локус было одинаковым ( $6,583 \pm 0,717$ ). Схожесть количества информативных аллелей выявлена в популяциях таджикских и гиссарская 1, в Кыргызстане горного меринуса и у местных кыргызских курдючных овец ( $6,000 \pm 0,522$ ;  $5,833 \pm 0,548$ ;  $5,667 \pm 0,595$ ;  $5,083 \pm 0,468$  соответственно) и очень низкая ( $2,750 \pm 0,592$ ) – у архаров.

Сравнительный анализ уровня наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности свидетельствует о неоднозначности характера его распределения в исследуемых породах и популяциях овец и архара. Вариабельность наблюдаемой гетерозиготности варьировала от  $0,775 \pm 0,041$  до  $0,444 \pm 0,115$ ; ожидаемой – от  $0,808 \pm 0,028$  до  $0,456 \pm 0,077$ . При этом наиболее высокие показатели наблюдаемой

гетерозиготности были характерны для гиссарской породы и ее помесей с авасси, ожидаемой – также для популяций гиссарской породы и алайской. Минимальные значения изучаемых показателей выявлены у архаров и горного меринуса.

Вариабельность индекса фиксации  $F_{is}$ , отражающего отклонение частот встречаемости гетерозиготных генотипов от теоретически ожидаемой доли гетерозигот (по Харди-Вайнбергу), то есть являющегося мерой уменьшения гетерозиготности, оказалась достаточно изменчивой и варьировала от максимальных значений ( $0,174 \pm 0,057$ ) – у горного меринуса и алайской породы ( $0,149 \pm 0,050$ ), до минимальных ( $0,009 \pm 0,058$ ;  $0,017 \pm 0,033$ ;  $0,020 \pm 0,069$ ) – соответственно у помесей гиссарская х авасси, в таджикской популяции гиссарской породы и у кыргызских грубошерстных курдючных овец.

Анализ результатов индекса фиксации  $F_{is}$  позволяет сделать заключение о том, что положительные его значения свидетельствуют о дефиците гетерозигот в исследуемом массиве животных.

Анализом индекса  $F_{st}$ , являющегося критерием генетических различий и имеющего всегда положительное значение, выявлены минимальные его значения ( $F_{st}=0,019$ ) у таджикской популяции гиссарской породы и гиссарской 1, максимальные – кыргызская грубошерстная – горный меринос ( $F_{st}=0,0141$ ), горный меринос – архары ( $F_{st}=0,273$ ). Если брать за основу заключение Hartl и Clark [13] о том, что значения  $F_{st}$  меньше 0,05 свидетельствуют о незначительной генетической дифференциации, от 0,05 до 0,15 – об умеренной, от 0,15 до 0,25 – о значительной, для большей части исследуемого массива овец характерна незначительная или умеренная генетическая дифференциация, кроме кыргызского горного меринуса и архаров.

Анализ генетических дистанций (Nei, 1972) выявил неоднозначность межпородной удаленности (табл. 2).

Анализ филогенетического дерева, построенного на основании генетических дистанций, показывает, что исследованные

Таблица 2.

Значение генетических дистанций между изучаемыми породами и популяциями овец

Порода, популяция	Гиссарская таджикская	Гиссарская 1	Гиссарская 2	Гиссарская х авасси	Алайская	Кыргызская	Кыргызский меринос	Архар
Гиссарская таджикская	*	0,019	0,052	0,036	0,034	0,096	0,084	0,221
Гиссарская 1	0,172	*	0,045	0,027	0,031	0,089	0,081	0,222
Гиссарская 2	0,406	0,367	*	0,051	0,054	0,115	0,074	0,250
Гиссарская х авасси	0,315	0,234	0,395	*	0,041	0,090	0,115	0,237
Алайская	0,293	0,287	0,495	0,365	*	0,060	0,089	0,224
Кыргызская	0,554	0,605	0,491	0,626	0,392	*	0,143	0,264
Кыргызский меринос	0,781	0,761	0,937	1,067	0,709	0,994	*	0,273
Архар	1,180	1,277	1,496	1,356	1,238	1,640	1,410	*

**Примечание:** под диагональю указаны несмещенные генетические дистанции по Нею, над диагональю – значение индекса  $F_{st}$  при парном сравнении

породы и популяции овец образовали два неравнозначных кластера и отдельную ветвь (рис. 1).

Первый, самый крупный кластер, представлен двумя подкластерами. Подкластер I-I сформировали породы кыргызская грубошерстная курдючная и алайская, что представляется вполне логичным, поскольку при создании алайской породы материнской

основой явились местные кыргызские грубошерстные овцы, которых улучшали породами прекос и сараджинской. Объединение чистопородных популяций гиссарской породы и помесей, полученных при скрещивании пород авасси и гиссарской в единый подкластер, обусловлено принадлежностью к одной породе и соответственно генетической близостью исследованных животных.

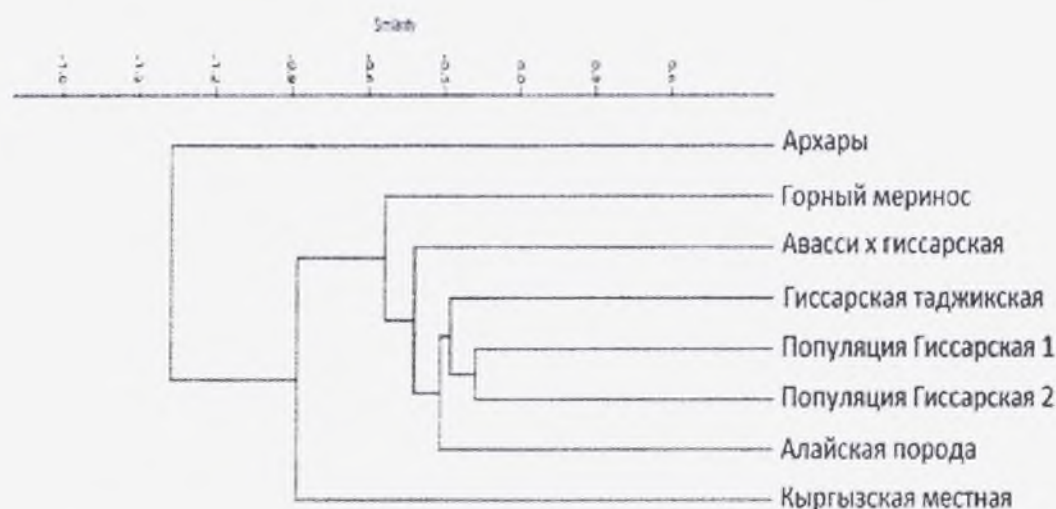


Рис.1. Филогенетическое дерево на основе матрицы попарных генетических дистанций между исследуемыми породами, популяциями овец и архара

При этом наибольшее генетическое сходство в данном подкластере проявили овцы чистопородной «таджикской» популяции и популяции из гиссарской 1. По-видимому, некоторая удаленность популяции овец гиссарской породы из гиссарской 2, обусловлена более значительным периодом ее разведения в условиях Кыргызстана. Возможно, большой промежуток времени адаптации к новым природно-климатическим условиям, обусловил начало изменений в генетической структуре этой популяции.

Выделение во второй кластер горного мериноса и пород алайская, кыргызская грубошерстная, популяций гиссарской породы в чистоте, а также помесей с породой авасси по всей видимости продиктовано разным направлением продуктивности этих пород и соответственно разным генетическим укладом, формирующим различные признаки продуктивности.

Как отмечалось выше, филогенетический анализ генетических дистанций определил два уже описанных кластера и отдельную ветвь, которую образовали генотипы популяции архара. Ранее считалось, что одним из древних предков современных домашних овец являются архары, от которых произошли жирнохвостые и длиннохвостые породы, в том числе тонкорунные, а прародителями курдючных пород были аргали. Однако позднее в результате цитологических исследований было установлено, что дикие бараны имеют три кариотипа. У аргали или

архара имеется 56 пар хромосом, у архара – 58, а у муфлона – 54 хромосомы, столько же, сколько у домашних овец всех частей мира. Поэтому в настоящее время единственным предком современных овец считается муфлон, а центром распространения – Средняя и Центральная Азия и Средиземноморье.

Полученные в настоящем исследовании данные косвенно указывают на справедливость данного утверждения, поскольку архары сформировали отдельную ветвь с кластером, в который вошла и мериносовая порода овец, а не наоборот, с кластером, в который сформировали исключительно курдючные породы. То есть архары в выполненном анализе показывают генетическую равно удаленность, как от исследованных грубошерстных курдючных пород, так и от мериносовой породы.

Таким образом, проведенные исследования, их анализ позволяют сделать заключение о том, что полилокусное генотипирование (по 12 локусам микросателлитов ДНК) позволяет получать надежные математические критерии для оценки генофондной специфичности пород, их изменчивости, генеалогических связей между породами, их внутри- и межпородных взаимоотношений. Кроме того, поскольку распределение частот аллельных вариантов структурных генов позволяют выявлять специфические межлокусные ассоциации, имеющие повышенную селективную ценность, то они могут быть использованы, как в практической селекции, так и при разработке селекционных программ по сохранению и

устойчивому развитию уровня генетической изменчивости в популяциях и породах.

#### Литература

1. Амерханов Х.А. Овцеводство и козоводство Российской Федерации в цифрах. – Ставрополь. – 2015.
2. Глазко В.И., Столповский Ю.А., Глазко Т.Т., Феофилов А.В. Структурно-функциональные особенности микросателлитов в геномах КРС и овец// Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук, 2011, №1 - с.41-45.
3. Clarke S.M., Henry H.M., Dodds K.G., Jowett T.W.D., Manley T.R., Anderson R.M., Mc Ewan J.C. A high throughput single nucleotide polymorphism multiplex assay for parentage assignment in New Zealand sheep. PLoS ONE, 2014, 9(4): e93392 (doi: 10.1371/journal.pone.0093392).
4. Baumung R., Cubric-Curik V., Schwend K., Achmann R., Sölkner J. Genetic characterization and breed assignment in Austrian sheep breeds using microsatellite marker information. J. Anim. Breed. Genet., 2006, 123: 265-271 (doi: 10.1111/j.1439-0388.2006.00583.x).
5. Tapio I., Tapio M., Grislis Z., Holm L-E., Jeppsson S., Kantanen J., Miceikiene I., Olsaker I., Viinalass H., Eythorsdottir E. Unfolding of population structure in Baltic sheep breeds using microsatellite analysis. Heredity, 2005, 94: 448- 456 (doi: 10.1038/sj.hdy.6800640).
6. Денискова Т.Е., Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А. Характеристика некоторых российских пород овец по микросателлитам

маркерам. Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук, 2016, 9(1):24-29.

7. Peakall R., Smouse P.E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics, 2012, 28(19): 2537-2539 (doi: 10.1093/bioinformatics/bts460).
8. Heaton M.P., Leymaster K.A., Kalbfleisch T.S., Kijas J.W., Clarke S.M., Mc Ewan J., Maddox J.F., Basnayake V., Petrik D.T., Simpsn B., Smith T.P.L., Chitko-Mc Kown C.G., the International Sheep Genomics Consortium. SNPs for parentage testing and traceability in globally diverse breeds of sheep. PLoS ONE, 2014, 9(4): e94851 (doi: 10.1371/journal.pone.0094851).
9. Yilmaz O. Power of different microsatellite panels for paternity analysis in sheep. Animal Science Papers and Reports, 2016, 34(2): 155-164.
10. Peakall R., Smouse P.E. GenAIEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. Bioinformatics, 2012, 28: 2537 – 2539 (doi: 10.1111/j.1471-8286.2005.01155.x).
11. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. Evolution, 1984, 38 (6): 1358-1370.
12. Nei M. Genetic distance between populations. American Naturalist, 1972, 106: 283-392.
13. Hartl D.L., Clark A.G. Principles of population genetics, 3rd edition. Sunderland, MA: Sinaur, 1997.

## ИННОВАЦИОННАЯ БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК: 636.293.3(575.2)(04)

### YAK BREEDING PROGRESS IN KYRGYZSTAN

*A.T. Zhunushov Director, Biotechnology Institute, The National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic*

The given article describes yak breeding progress in distant mountain provinces in Kyrgyzstan. The article also focuses on the problems of improvement of living standards of the population in the areas with severe climatic conditions.

*Key words:* yak breeding, yak, meat, milk, dairy products, processing, progress, wasteless

### РАЗВИТИЕ ЯКОВОДСТВА В КЫРГЫЗСТАНЕ

В данной научной работе рассматривается развитие яководства в отдаленных горных районах и улучшение жизненного уровня жителей, а так же поднятие социально-экономического положения людей в суровых условиях проживания.

*Ключевые слова:* яководство, як, мясо, молоко, молочные продукты, обработка, прогресс, безотходное производство.

### КЫРГЫЗСТАНДА ТОПОЗ ӨСТҮРҮҮНҮН МАСЕЛЕЛЕРИ

Бул илимий иште Кыргызстандын алыскы бийик тоолуу аймактарында топоз өстүрүүнү өнүктүрүүнүн негизинде ошол аймакта жашаган элдин социалдык-экономикалык абалын жакшыртуу маселеси каралган.

*Негизги сөздөр:* топоз өстүрүү, топоз, эт, сүт, сүт азыктары, кайра иштетүү, алга жылуу, калдыксыз өндүрүш



In Kyrgyzstan "Integrated Basis for the Development of the Kyrgyz Republic up to 2010" Program was adopted at the National Meeting. That Program includes a long-term strategy, implementation of which will allow to ensure systemic overcoming the problems, dynamic progress of the country and the society in political, social and economic areas. Such approach is based on the efficient utilization of human, economic and natural potential for national progress.

The given Program facilitates the strengthening of active partnership and the involvement of government, private sector and civil society and also cooperation with the international society.

Achievement of **social wellbeing, economic welfare** of the people of Kyrgyzstan in the conditions of domina-

tion of the principles of freedom, human dignity and equal opportunities of each citizen is a common goal.

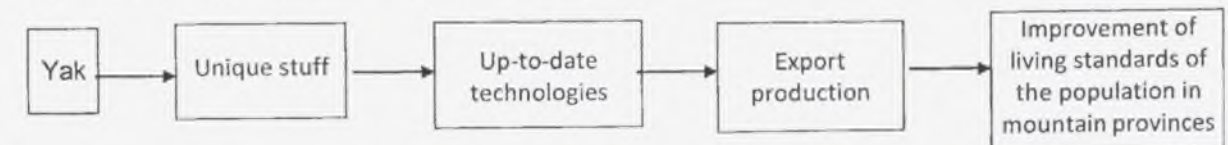
**One of the tasks is social and economic development of depressive remote and mountain areas with severe climatic conditions** where creation of conditions for development of the specific forms of management connected with mountain conditions (yak breeding, ecological tourism, national crafts, etc.) is provided.

**The fundamental idea is the use of unique raw materials, development of modern processing technology of produce and raw materials**, manufacture of food and inedible goods conforming to the international standards, creation of new workplaces in the remote and mountain regions of the country and eventually ensure a substantial increase of living standards of the population in remote and mountain areas.

Yak breeding is a wasteless branch of livestock sector. Meat, milk and dairy products are valuable foodstuff. Fat is invaluable raw material for the cosmetic industry. Skin is used in leather haberdashery and shoe industry, it possesses exclusive durability and at the same time good elasticity. Wool and down are used for production of clothes, plaids, wigs, etc. Bones are used for making saddles, souvenirs, and from sinews they prepare unique glue. Blood, organs of internal secretion, horns, hooves of yak are the most valuable raw materials for pharmaceutical industry when preparing highly effective medicines for treatment of severe human diseases.

The maximum number of yak in Kyrgyzstan reached 79,2 thousand heads in 1978. However due to rash privatization in the nineties their number reduced by more than three times.

In this regard the problem of increase of total number of yak in the country is particularly acute. Considering the areas of mountain pastures, in the next decade it will be possible to keep 100-120 thousand heads of yak at the adequate financial support of yak breeding farms in the country.



The objective of yak breeding development in Kyrgyzstan for 2012-2020 is increase of living standards in the remote and mountain provinces of the country at the availability of the following conditions:

Creation and development of yak breeding farms;  
Increase of total number of livestock, increase of productivity of animals and expansion of zones of yak breeding;

Creation of small and medium-sized processing enterprises of yak produce and raw materials and their location in the maximum proximity from raw materials' sources, and also development of marketing system of finished goods with an exit to export.

#### Mechanism of yak breeding implementation

- Scientific and innovative ensuring yak breeding progress;
- Creation of advanced technologies for processing of food and inedible produce of yak breeding using national traditional technique possessed by yak breeders and the members of their families.
- Utilization and improvement of natural grazing lands suitable for yak breeding.
- Arrangement of systematic training workshops with yak breeders and the members of their families on the following problems: techniques for yak keeping, reproduction of a herd, veterinary and sanitary

service, processing yak food and not food stuff.

- Work out and creation of marketing system taking into consideration the needs of internal and foreign markets in yak breeding produce.
- Creation of tourism infrastructure in highlands and development of ecological and adventure touristic routes using yak and involving the members of their families.

#### Scientific and innovative ensuring yak breeding progress

This area is one of the key components of yak breeding progress which suggests:

Scientific and searching and research work on the study of immunobiological status of yak organisms, biochemical structure of yak breeding produce and stuff.

#### The first stage:

a) Monitoring the distribution of especially dangerous diseases common for humans and animals among yak population in various yak breeding zones.

Performance time: 2017-2018

b) Studying biochemical structure of yak meat and milk in various mountain provinces in the country.

Performance time: 2017-2018

c) Biochemical analysis of produce and stuff applied for cosmetic and pharmaceutical industries.

Performance time: 2018-2019

#### The second stage:

a) Studying immune status of yak organism and physiological features of respiratory, cardio-vascular, digestive systems and metabolism.

Performance time: 2017-2020

b) Studying the physiology of yak behavior in highland extreme conditions.

Performance time: 2018-2025

c) Development of scientifically justified processing technology for yak meat, milk, blood, internal secretion glands and other stuff on the basis of the obtained research data on immunobiological monitoring of yak organism.

Performance time: 2017-2020

#### Development and creation of multi-purpose model computer program of yak herd reproduction and its adaptation to the subjects involved in yak breeding.

Performers: "Topozchu" Foundation of Mountain Yak Breeding, Biotechnology Institute NAS KR.

#### The first stage:

- Development of computer program model. Time for execution: 2017-2018

#### The second stage:

- Training workshops on applying computer program on yak herd reproduction and creation of central data bank on the increase of the total number of yaks and manufacture of yak produce and stuff.

Performance time: 2017-2020

#### Development of the technology for yak breeding with selection and pedigree elements.

##### The first stage:

- Inspection of yak breeding status at basic farms for selection work;
- Planning selection and purchase of yak bulls from other yak breeding entities;
- Improvement of primary zootechnical registration, creation of herd according to sex-age groups taking into consideration the reasonable structure;
- Workshop with yak breeders on the improvement and correct arrangement of selection work on sites.

##### The second stage:

- Selection of the best animals for pedigree centre, fix the optimal structure of pedigree herd and the load per yak bull;
- Reveal the most efficient versions of crossing and define the reproductive abilities of yaks;
- Investigation of meat, milk and wool productivity and on its basis development of pedigree work methods with yaks in their natural habitat;
- Utilization of hybridization with meat species (goloveiskaya) for the improvement of yak meat efficiency;
- Development of technologies for manufacture of food and industrial produce and the standards for them.

#### Development of technologies for manufacture of food and industrial produce and the standards for them

##### The first stage:

- Development of the Kyrgyz yak standard and its approval at Gosstandard establishment. Development of meat and dairy standards. Development of yak meat and milk processing technologies.

Performance time: 2017-2018

##### The second stage:

- Development of processing technology of not eatable yak stuff (skin, wool, down, bones, horns, hooves etc.). Development of processing technologies of blood, milk serum and internal secretion glands and the standards for them. Arrangement of manufacture of yak food and not food production at processing entities. Performance time: 2017-2020

#### Creation of advanced processing technologies of yak food and not food produce using national traditional techniques possessed by yak breeders and the members of their families. This area is the key component in the mechanism of implementation which suggests:

##### The first stage:

- Transfer of ready technologies for yak meat processing to processing entities;
- A network of small and medium processing enterprises in remote and mountain provinces;
- Training workshops for the workers of processing enterprises on the technologies of industrial processing of food and not food yak produce. Performance time: 2017-2019.

##### The second stage:

- Creation of model yak centers in former cultural centres in distant pastures: in "Altyn-Beshik" village – "Orto-Boz", in mountain holes "Ak-Sai" and "Kara-Kudzhur", "Dzher-Kochku" village – "Lahol" Naryn province; "Ak-Talaa" and "Sopu-Korgon" villages in Osh province; in mountain hole "Kok-Oirok" in Chui province.

Performance time: 2020-2025.

- Deep processing of blood serum, internal secretion glands and milk serum of yak at the facilities of BI NAS KR. Performance time: 2018-2021.

#### Utilization and improvement of Alpine and Subalpine pastures.

This component is a basis for yak breeding progress. Kyrgyzstan is in the fourth place in the world by pasture areas following Kazakhstan, Australia and the Great Britain. Grazing lands occupy 44% of the territory of Kyrgyzstan.

Within the structure of agricultural lands the pastures meet the forage needs of livestock sector from 60% to 89% and at present this index makes up only 15%.

For the forage provision of yak which are kept in distant highland pastures first of all the grazing lands should be improved and the problem of their integrated utilization needs to be solved. For this purpose the following is suggested:

##### The first stage:

- Detailed inspection of the pastures if they are degraded and covered with toxic plants and weeds.
- Preparation of specified maps of their status.
- Resumption of the implementation of the systems of pasture circulations being developed earlier.
- Activities on the revival of irrigation works in remote highland pastures (there are up to 1,5 thousand).
- Performance time: 2017-2020

##### The second stage:

- Inspection and implementation of repair work of the roads and bridges to remote highland pastures.
- Rehabilitation of cultural centers in remote mountain villages for the livestock breeders. Performance time: 2020-2025.

#### Marketing and sale of yak breeding produce.

This component is basic in yak breeding progress and it suggests:

##### The first stage:

- Creation of marketing network and regional structures in mountain and certain provinces involved in selling yak breeding produce;
- Exploration of foreign market on the need in yak breeding produce;
- Advertisement of yak breeding produce.

Performance time: 2018-2019

**The second stage:**

Creation of the channels for selling yak breeding produce in foreign market;

Contracts on the delivery of yak breeding produce to foreign partners.

Performance time: 2017-2020

**Calculations of the required funds for investments**

- Yak breeders crediting for the increase of the total number of animals.
- Development of processing technologies of yak breeding produce and stuff.
- Purchase of devices for yak slaughter and yak milk processing.
- Repair of bridges and roads in mountain pastures.
- Acquisition of vehicles for transportation of yaks and their produce, and also the stuff for deep processing.
- Acquisition of apparatus and equipment for laboratory to determine quality and standardize yak breeding produce and stuff.
- Training the yak breeders and the population in mountain province in breeding and processing.
- The approximate cost makes up US\$7 million.

**Economic and social benefits of yak breeding**

- Yak breeding implementation will facilitate the solving of the following problems:
- Progress of yak breeding in remote and mountain provinces in the country;
- Creation of wide network of small and medium sized processing enterprises involving the members of yak breeders' families and local population in mountain provinces;
- Creation of new working places in mountain provinces and reduction of unemployment rate;
- Improvement of the mountain area infrastructures (communication, roads, energy supply etc);
- Improvement of living standards of the population and overcoming poverty in mountain and remote regions.

**Important points:**

- Availability of vast areas of natural grazing lands suitable for the expansion of yak breeding zones;
- Abundance of human resources in mountain and remote provinces, that can be useful for yak breeding and processing;
- Availability of sufficient total number of yaks for expanded reproduction;
- Availability of specialists and scientists possessing the technologies of yak breeding, processing, marketing and selling yak breeding produce and stuff and arranging mountain adventure tourism.

**Expected results on the payback of investments:**

The estimated structure of yak herds at yak breeding farms by 2025:

Yak bulls	3,0 thousand heads
Yak bulls for replacement	2,0 thousand heads
Female yak	36,0 thousand heads
Castrated bull-calves under 2 years of age	10,0 thousand heads
Bull-calves elder than 1 year of age	13,0 thousand heads
Female child of yak elder than 1 year of age	13,1 thousand heads
Young growth of the current year	27,0 thousand heads

Total :	104,1 thousand heads
Yak meat processing	16,0 thousand heads
Meat production	4,2 thousand heads
Milk production	185x3 600=670 tons

By 2025 yak produce and stuff processing will facilitate the increasing of the cost of one head. After processing it can reach 50 thousand soms. If we take 16,0 thousand heads for 20,0 thousand soms then it will make up 320,0 million soms.

At the cost-effectiveness equal to 30-40%, a pure profit will be 280,0 million soms.

A complete implementation of yak breeding i.e. obtaining 100-120 thousand heads of yaks will facilitate the increasing of annual production of yak breeding produce by 800,0 million soms or US\$17,7 million (according to current rate).

УДК: 636.2

**ИННОВАЦИОННЫЕ РАЗРАБОТКИ ПО РАЗВИТИЮ И ПЕРЕРАБОТКЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТОЙ ПРОДУКЦИИ ЯКОВОДСТВА В ГОРНЫХ РЕГИОНАХ**

*А.Б. Бердибаева - кандидат сельскохозяйственных наук*

*А.Т. Жунушов - член-корреспондент НАН КР, доктор ветеринарных наук, профессор, директор Института биотехнологии НАН КР*

В статье обсуждаются вопросы разведения яков в условиях высокогорья, их высокорентабельность и большое практическое значение для подъема благосостояния народа и экономики Кыргызской Республики. Об уникальности яка и приспособленности физиологическим механизмам к жизни в высокогорье, приобретенными в результате многовековой эволюции.

*Ключевые слова:* як, гипоксия, иммунология, гематология, биохимия, кровь, биоконпозиты, эритроцитарная масса, железодефицит.

**ТООЛУУ ЖЕРЛЕРДЕ ТОПОЗ ЧАРБАСЫНАН АЛЫНУУЧУ ЭКОЛОГИЯЛЫК ТАЗА АЗЫКТАРДЫ КАЙРА ИШТЕТҮҮ ЖАНА ИННОВАЦИЯЛЫК ӨНҮГҮҮСҮН ИШТЕП ЧЫГУУ**

Илимий макалада тоолуу жерлерде топоз өстүрүүнү, анын жогорку кирешелүү тармагы талкууланган, ошондой эле Республиканын экономикасын жана элдин материалдык абалын көтөрүү чоң практикалык мааниге ээ болушу көрсөтүлгөн. Топоздун өзгөчөлүгү, көп кылымдык эволюциянын жыйынтыгынын натыйжасында, тоолуу жерлерде жашоонун физиологиялык механизминде ээ болушу айтылган.

*Негизги сөздөр:* топоз, гипоксия, иммунология, гематология, биохимия, кан, биоконпозиттер, эритроциттик масса, аз кандуулук.

**INNOVATIVE DEVELOPMENTS ON THE PROGRESS AND PROCESSING OF ECOLOGICALLY PURE YAK BREEDING PRODUCTION IN MOUNTAIN AREAS**

Yak breeding in mountain conditions, their high-profitability and great significance for growing of the people well-being and of the Republic economy are discussed. Data on yak specialness and adaptiveness of physiological mechanisms to high-mountain, acquired as a result of the centuries-old evolution, are given.

*Keywords:* yak, hypoxia, immunology, hematology, biochemistry, blood, biocomposites, packed red cells, iron deficit.

Яководство является сотни лет традиционным видом животноводства в Кыргызстане. Наиболее благоприятные условия для разведения яков в республике имеются на пастбищах, расположенных на высоте свыше 3000 м. над уровнем моря.

Яки - единственные из сельскохозяйственных животных, которые могут существовать в экстремальных условиях высокогорья и давать при этом продукцию, которая в сравнительном отношении более дешевая. В странах Центральной и Юго-Восточной Азии, в частности в Монголии, Тибете и в других странах, яководство считается так же традиционным видом животноводства и является наиболее экономичным. Кроме того, продукция и сырье, получаемые от этой отрасли, являются ценными и экологически «чистым», а их производство не наносит вреда окружающей среде. Так, молоко яков содержит до 8% жира и богато белками и минеральными веществами, мясо - по вкусовым и целебным качествам превосходит говядину. Влажность мяса яка на 3-4 % ниже, чем у говядины и отличается легкой усвояемостью организмом человека. Шерсть используется для изготовления шырдаков (ковров) и кошмы, волосы - для париков, рога и копыта являются сырьем для производства кормовых добавок в частности «Авитина» и противоопухолевых препаратов «Цинир». Органы внутренней секреции (головной и костный мозг, семенники, почки, печень, поджелудочная железа, надпочечники) могут быть использованы, как для фармацевтической, так и парфюмерной промышленности, как и средств нетрадиционной медицины, распространенной в странах Азии. Таким образом, вся получаемая продукция от яководства является полезной, экологически чистой и полностью используется без отходов.

Исходя из этого, разведение яков в условиях высокогорья будет высокорентабельным, будет иметь большое практическое значение для подъема благосостояния народа и экономики страны. Если ранее рост производства дешевого мяса яков предусматривался главным образом за счет увеличения их поголовья, то в настоящее время решение этого вопроса невозможно без интенсификации яководства и резкого повышения его качественных показателей. Это можно достичь за счет проведения целенаправленной селекционно-племенной работы, когда будут выведены высокопродуктивные линии и производственные типы яков, адаптированные к условиям высокогорья Кыргызстана, а так же за счет улучшения их интерьерных особенностей. Важно подчеркнуть, что для развития этой отрасли требуется так же углубленное изучение гомеостаза этих животных. В частности, в условиях высокогорной гипоксии необходимо иметь четкое представление об иммунологических, гематологических и биохимических особенностях животных.

Як уникален тем, что обладает наиболее приспособленными физиологическими механизмами к жизни в высокогорье, приобретенными в результате многовековой эволюции. Из всех продуктивных животных, як занимает самый верхний ярус горных пастбищ, где более суровые экстремальные условия. Поэтому факторы, воздействующие на организм, оказывают более жесткое влияние. Надо отметить, что як обладает более совершенными механизмами преодоления негативного влияния понижения барометрического давления, резких суточных и сезонных температурных перепадов воздуха и других факторов. Поэтому, як прекрасно приспособлен к жизни в условиях гипоксии. Кровь яка имеет уникальный состав и особый механизм снабжения организма кислородом по сравнению с крупным рогатым скотом (таблица 1)

Таблица 1

Гематологические показатели крови яков

№ животных	Количество			СОЭ за 24 часа
	Эритроцитов в 1 мм <sup>3</sup> крови, млн.	Гемоглобина, гр. %	Лейкоцитов в мм <sup>3</sup> крови, тыс.	
1	9,03	12,6	5,6	1,2
2	9,40	14,2	5,4	1,0
3	9,70	12,2	5,9	1,0
4	6,84	11,6	6,3	0,9
5	8,32	13,2	6,3	0,9
M±	8,66±	12,88±	5,9±	1,00±
s	1,13	1,14	0,41	0,12
Средний показатель у КРС	6,50	10,0	7,0	0,70
Разница с КРС %	+33,2	+28,9	-15,3	+42,8

Таким образом, адаптационная способность яков к условиям гипоксии, со стороны крови, детерминирована наследственностью и обеспечивается за счет большого количества эритроцитов и гемоглобина крови.

Примечательно то, что в системе дыхания яка не наблюдается отека легких, гипертрофии сердца, свидетельствующие, как правило, о напряжении функции дыхания.

Несмотря на обитание на больших высотах, як не испытывает нарушений ни теплового, ни газового обмена, как предположим другие животные в условиях высокогорья. Это свидетельствует о высокой степени эффективности функциональных систем организма яка, что обусловлено рядом морфологических, физиологических и поведенческих особенностей этого вида животных.

В экстремальных условиях гор механизмы генерации и сохранения тепла должны иметь строгое соответствие с механизмами теплоотдачи. Относительное постоянство внутренней температуры яков, при их значительных перепадах в среде обитания, свидетельствует о значимости теплового гомеостаза и высокой степени совершенства механизма терморегуляции.

В ходе наших исследований получены данные:

- внутренняя температура организма равна - средняя (n-8) 38,2°C;
- колебания у разных животных 37,9-38,5 °C;
- температурный оптимизм составляет +4-6 °C;
- температура среды, при которой выявляются признаки перегревания +18 °C.

Проведенные полевые исследования по изучению особенностей механизмов терморегуляции у яков в летний пастбищный период свидетельствуют, что механизмы сохранения тепла у них хорошо развиты, а механизмы отдачи тепла - малоэффективны.

Ценным сырьем для фармакологии является кровь яка. Нами исследована кровь яка для изготовления биокомпозитов, с целью профилактики дефицита у людей железа и йода.

Эритроцитарную массу крови яков высушивали методом лиофильной сушки. Анализ лиофилизированной, эритроцитарной массы крови проводился на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно связанной плазмой ICP - AE после минерализации пробы.

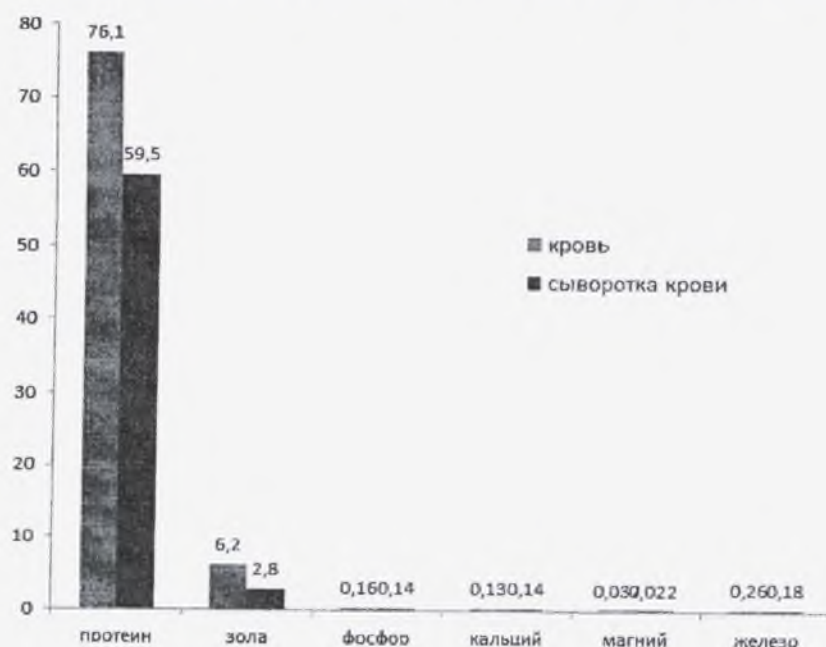


Надо сказать, что развернутых данных по химическому составу цельной крови и сыворотки яка в Кыргызстане до настоящего времени не было. Установлено, что кровь яка содержит от 90 до 93% воды и 7-10% сухого вещества. Содержание протеина в крови со-

ставляет 76,1%, в сыворотке - 59,5%, что объясняется отсутствием в ней белков плазмы: фибриногена, сывороточного глобулина и сывороточного альбумина.

Представлены данные о химическом составе цельной крови и сыворотки крови яка на рисунке 1.

Рис. 1 Химический состав крови и сыворотки крови яка, на сухое вещество в %



Содержание в крови минеральных веществ яков отличается в нормальных условиях постоянством; от их присутствия зависит определенное осмотическое давление крови. По количеству фосфора, магния и железа цельная кровь превосходит сыворотку. Железо содержится в каждой клетке животного организма, но в очень незначительных количествах. Главным образом, железо содержится в составе гемоглобина.

Железо играет очень важную роль в жизненных процессах, во-первых, потому что перенос молекулярного кислорода из легких в ткани яв-

ляется специальной функцией железа, содержащегося в гемоглобине, а во-вторых, потому что оно играет важную роль в окислительных процессах, входя в состав железосодержащих окислительных ферментов. Содержание железа в крови яка по нашим данным в пересчете на сырую кровь составляет 52 мг/%, а в сыворотке крови ниже и составляет 18 мг/%.

Анализ лиофилизированной, эритроцитарной массы проводился на атомно-эмиссионном спектрометре с индуктивно связанной плазмой 1 СР – АЕ после минерализации пробы (табл. 2)

Таблица 2

Минеральный состав лиофилизированной, эритроцитарной массы крови яков

Наименование элементов	Содержание микроэлементов (мг/кг)
Ag	< 0,03
Al	9,04
As	< 0,4
Ba	0,377
Be	< 0,002
Cd	< 0,05
Co	< 0,04
Cr	3,19
Cu	2,11
Fe	1313
Hg	< 0,1
Mn	0,069
Mo	< 0,04
Ni	< 0,05
Pb	0,305
Sb	< 0,2
Se	< 0,2
V	< 0,06
Zn	10,5

В исследованной эритроцитарной массе крови яка обнаружено 19 микроэлементов: серебро, алюминий, мышьяк, барий, бериллий, кадмий, кобальт, хром, медь, железо, ртуть, марганец, молибден, никель, свинец, сурьма, селен, ванадий, цинк. Содержание микроэлементов колеблется в очень значительных пределах: от 0,002 до 1313 мг/кг сухой крови. Количество серебра, кобальта, кадмия, никеля, ванадия, марганца составляет 0,03 – 0,069 мг/кг.

Содержание свинца в ЛЭМ крови составляет – 0,305 мг/кг, бария – 0,377 мг/кг, мышьяка – 0,4 мг/кг, а сурьмы и селена – 0,2 мг/кг. Медь и хром относятся к элементам со средним содержанием их в крови – 2,11 – 3,19 мг/кг соответственно. Достаточно много в ЛЭМ крови

яка алюминия – 9,04 мг/кг и цинка – 10,5 мг/кг.

Богаче всего ЛЭМ крови яка железом – 1313 мг/кг, где оно входит в состав гемоглобина. Организм взрослого человека содержит в среднем 4,5 г железа, из которых 70 % находится в составе гемоглобина, 5-10% - в составе миоглобина (мышечного гемоглобина), 20-25% - в виде резервного железа и не более 0,1% - в плазме крови.

Суточная потребность человека в железе колеблется от 10 до 30 мг, что связано как с возрастом человека, так и с индивидуальными особенностями его обмена веществ.

Высокое содержание железа в крови яка делает её бесценным источником для создания биоконструктов по профилактике железодефицита. Таким образом, кроме основных продук-

тов - мяса, молока и шерсти, кровь яка обладает значительной геронтологической ценностью. Корма, которыми питаются яки, в большинстве своем лечебные травы, произрастающие на больших высотах, имеющие огромную энергетическую и лечебную ценность. Поэтому, в целях обеспечения устойчивого развития горных регионов, рационального использования труднодоступных пастбищных угодий в альпийских и субальпийских зонах необходимо шире развивать яководство. Можно сказать, что – это безотходная отрасль животноводства. Мясо, молоко и молочные продукты являются ценными пищевыми продуктами. Жир - бесценное сырье для косметической промышленности. Кожа используется в кожгалантерейной, обувной промышленности, она обладает исключительной прочностью и большой эластичностью. Шерсть и пух используются для изготовления одежды, пледов, париков и т.п. Из костей изготавливают седла, сувениры, а из сухожилий приготавливают уникальный клей. Кровь, органы внутренней секреции, рога, копыта яков являются ценнейшим сырьем для фармакологической промышленности при приготовлении высокоэффективных лекарственных препаратов для лечения тяжелых болезней человека. Словом, все продукты и сырье, получаемые от яков идут на полную переработку для нужд человека. В этой связи в горных регионах по разведению яков необходимо создавать сеть перерабатывающих предприятий.

### Литература

Гусев Б.Н., Жунушов А.Т., Алеева А.Ж. Результаты исследования сыворотки крови яка для биотехнологии//Наука и новые технологии. – 2003. - № 3. – С. 53-55.

Худояров Э.С., Абдыкеримов А. Показатели продуктивности молодняка яков/Сб. науч. трудов «Кормопроизводство, животноводство и ветеринария»/ Труды КАН. – вып. 3, КыргызНИИЖВиП. – Вып. 50. - Бишкек, 2003.

Looker AC, Dallman PR, Carroll MD, Gunter EW, Johnson CL. Prevalence of iron deficiency in the United States. *Journal of the American Medical Association* 1997 277: 10.

Walter T, Dallman PR, Pizarro F, et al: Effectiveness of iron-fortified infant cereal in prevention of iron deficiency anemia. *Pediatrics* 1993; 91: 976-982

Pizarro F, Yip R, Dallman PR, et al: Iron status with different infant feeding regimens: relevance to screening and prevention of iron deficiency// *J Pediatrics* –1991. 118: 687-692

УДК:636.32:677.31(575.2)(04)

### ОПЫТ ИННОВАЦИОННОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ В ПРОИЗВОДСТВЕ, ПЕРЕРАБОТКЕ И СБЫТЕ ШЕРСТИ

Е.М. Луцихина - доктор сельскохозяйственных наук  
М.Т. Суюнтбеков - директор ГПЗ имени "М. И. Луцихина"  
Б. Раимжанов - заведующий отделом ЦСУ КР  
Ж. Акжолтоев - младший научный сотрудник

Овцеводство является традиционной отраслью хозяйства кыргызского народа. На основе кыргызской тонкорунной и австралийского мериноса создана новая порода - кыргызский горный меринос, пользующийся большим спросом. В условиях рыночной экономики и нового уровня хозяйствования требуется помощь в распространении новой породы и в организации маркетинга продукции - мериносовой шерсти.

*Ключевые слова:* все виды шерсти, новая порода - Кыргызский горный меринос, маркетинговые исследования.

### ЖҮНДҮ ӨНДҮРҮҮ, КАЙРА ИШТЕТҮҮ ЖАНА САТУУДАГЫ ИННОВАЦИЯЛЫК ИШ ЖҮРГҮЗҮҮНҮН ТАЖРЫЙБАСЫ

Кыргыз элинин чарбасында кой чарбачылыгы негизги традициялык тармак болуп эсептелет. Сууроо-галап менен колдонулуп жаткан кыргыз тоо меринос кой тукуму кыргыз уян жүндүү жана австралия меринос койлорунун тукумунун негизинде чыгарылган. Базар экономикасынын шартында жана жаңы деңгээлдеги чарбачылыкта жаңы тукумду жайылтууда, меринос жүнүнүн маркетингин уюштурууда жардам керектелет.

*Негизги сөздөр:* жүндүн баардык түрлөрү, жаңы тукум – кыргыз тоо меринос кою, маркетингдик изилдөө.

### FIRST GENE MAPPING STUDIES AND INNOVATION IN PRODUCTION , PROCESSING AND MARKET OF WOOL.

Sheep production is traditional branch of Kirgiz's people. The mounting merino sheep is new breed, which based on crossing Kirgiz fine wool mells and Australian rams. Its needs in helping to organization new market of fine wool.

*Key words:* all kind of wool, new breed-Kyrgyz mounting merino, marketing investigation.

По данным Нацстаткома КР на конец 2015 года поголовье мелкого рогатого скота, без разделения на овец и коз, составлял 5 929,5 тысяч голов. Расчет по имеющимся данным показывает, что общее количество голов овец на конец 2013 года составлял 4,680,823 головы в 40 районах, в том числе в 9 поселках городского типа, 456 айильных аймаков, в 1884 айылов в них. В каждом дворе, за редким исключением имеются сельскохозяйственные животные, в частности овцы. Общее количество хозяйств различных уровней – 1,367,466, включая хозяйства индивидуальных предпринимателей – крестьянские хозяйства – 665,009, личные подсобные – 686,585, коллективные хозяйства – 13,390 и хозяйства государственной собственности – 2,482.

Такой объем хозяйств разных уровней сопровождается в настоящее время недостаточной отчетностью по наличию скота, в частности овец, тем более количеством произведенной шерсти. Отсутствуют данные по общей заготовке шерсти с разделением по её видам. Количество овец на 1 хозяйство чаще колеблется от 1 до 227 голов. Самые большие стада имеются у племенных заводов (до 7 тысяч голов) и у некоторых индивидуальных владельцев (до 3,0 тысяч голов).

Тем не менее, в последние годы в республике идет интенсивное увеличение поголовья скота, в частности овец. Естественно, увеличивается и производство шерсти всех видов. Например, как сообщает Нацстатком КР в 2013 году по сравнению с уровнем 2012 года овец стало больше на 4%.

В настоящее время количество хозяйств по разведению мериносов резко увеличивается из-за выгоды при получении двойной продуктивности при повышении цен на мериносовую шерсть. Наличие хозяйств, содержащих тонкорунных, мериносовых овец по опросу через специалистов Управлений во всех районах к 2016 году достигло 334. Шерсть кыргызской тонкорунной и особенно кыргызского горного мериноса наиболее требуется для производства всех типов изделий, пользующихся спросом на рынках.

Племенная база тонкорунных овец состоит из 3-х государственных племенных заводов по разведению кыргызского горного мериноса и нескольких хозяйств частной собственности, апробированных как племенные.

Практически племенные заводы не имеют возможности выполнять свою функцию - продавать племенных животных из-за низкой рыночной цены и себестоимости выращенных на

племя овец в заводе. Тяжелые условия производства – нехватка территорий для племенного скота, как следствие этого недостаточная кормовая база, нехватка помещений для овец и сельхозтехники, отсутствие помощи государства и большие долги перед государством еще с советского времени, отсутствие настоящего уровня ведения селекционных мероприятий – ведут к регрессу. Исчерпала себя и арендная форма труда при содержании овец. Требуется особое внимание к этим важным, стратегическим единицам – племенным заводам.

Учитывая требования для создания настоящей «ремонтной» базы пород, определив в условиях государственной собственности необходимые средства для восстановления племенного поголовья, можно было бы рассчитывать на успех. Иной путь может быть при смене формы собственности. По опыту многих стран мира всегда в государстве имеются стратегические пункты – племенные заводы – для возможности сохранения и умножения имеющихся ресурсов пород. Введение денежной формы расчетов с фермерами, входящими в настоящее время в племенные заводы – лучший путь установления стабильных и крепких взаимоотношений, выполнения всех требований племенного дела, укрепления племенной базы.

Многие фермерские хозяйства, даже не племенные, сами продают непроверенных баранчиков неизвестного происхождения для воспроизводства. В товарных хозяйствах редко используется искусственное осеменение, что влечет за собой распространение и так достаточно часто возникающих болезней.

МСХиМ пока еще не занимается вплотную овцеводством, хотя есть центральная племенная станция. У него нет достаточной базы – самих баранов-производителей, маточного поголовья и запаса семени, несмотря на то, что именно им должно принадлежать управление практической частью племенной работы. Основная функция такого селекционно-племенного центра должна состоять из вопросов крупномасштабной селекции, распространению качественного генетического материала – производителей, семени и т.д. Правильней этот материал концентрировать в одном центре, получая его из племенных заводов, организовывать племенную продажу через аукционы, заниматься организацией пунктов искусственного осеменения и т.д.

В 2014 году по предварительным данным из проверенных источников общее производство тонкой шерсти достигло 1650 тонн в грязном виде. Невозможно учесть всех перекупщиков

и мелких переработчиков, которые покупают шерсть и на местах её перерабатывают. Так же невозможно учесть весь объем экспортируемого шерстного сырья.

По данным Министерства сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности приблизительная величина производства шерсти в республике около 12 тысяч тонн без разделения на различные типы. В данных Нацстаткома КР до 2013 года указывается средняя величина настрига грязной шерсти в 2,6 кг. Средний настриг величина весьма неопределенная, так как разные породы и помесные овцы производят шерсть различных категорий и в различном объеме.

Существующая в республике шерсть цветная полугрубая, кроссбредная и кроссбредного типа, полутонкая и тонкая. Тонкая шерсть, в основном мериносовая, по длине 1, 2 и 3 категории, по тонине 70-го, 64-го, 60 – го качества. Мериносовая шерсть в Кыргызстане отличается большим выходом мытого волокна (до 60%). По состоянию оценивается как «норма» – чистая, «сорная» и «сорно-репейная».

Все сортименты шерсти предварительно должны оцениваться. Самые высокие цены принадлежат мериносовой шерсти, нормальной по состоянию 70-го качества 1-ой длины.

В настоящее время цена высшей качественной категории шерсти 70-го качества, соответствующей австралийским аналогам, при покупке шерсти у производителей поднялась до 200-175 сомов, или примерно \$3,65 за 1 кг немытого волокна (при меняющихся курсах доллара). (Средняя мировая цена аналога мериносовой шерсти в это время \$10,0 -11,0).

В 2010 году в Кыргызстане заготавливалось 10 428 тонн шерсти. По категориям: тонкой шерсти – 2386 тонн, полутонкой – 1221 тонна, полугрубой 1742 тонны, грубой – 5090 тонн. Эти цифры больше не повторяются в отчетах, их можно считать примерными (по отчету фабрики ПОШ). В основном, идет закупка и переработка тонкой шерсти.

При наличии достаточных количеств пастбищ и желаний разводить овец, перед руководителями этих хозяйств стоит проблема: сбыт, маркетинг продукции. Нет точно установленных связей, гарантирующих вовремя и по ориентировочным ценам забрать сырье. Покупателями шерсти в основном являются многочисленные перекупщики, часто не оформляющие свою деятельность, но затем сбывающие купленное сырье более крупным, представляющим или наших переработчиков, или китайских, иногда турецких заготовителей.

До сих пор сохранилось одно предприятие по переработке шерсти (из двух, остановленных владельцами или не работающих на полную мощность) и две шерстомоечные фабрики. С помощью этих предприятий удавалось до последнего времени производить качественные партии мытой шерсти и топса.

ОФРМ – Общественный Фонд по разведению мериносов, организованный при лаборатории генетики как внедренческое предприятие, не коммерческая организация – в течение 15 лет помогает своим фермерам в сбыте продукции, являясь промежуточным звеном между ними и покупателями-переработчиками. При этом формируются партии шерсти из различных регионов с целью мониторинга породы и качества её шерстной продукции.

Точно установить количество всей произведенной шерсти в полном объеме в республике, тем более её качество в настоящее время невозможно. Скрытость процессов покупки и продажи шерсти, неконтролируемый рынок и ценовой беспредел – характеристика нынешнего дня. Судить можно только по информации со стороны фабрик первичной обработки шерсти, включая данные по партиям промытой и переработанной шерсти, контролируемые сотрудниками лаборатории.

Цены на рынках на шерсть колеблются в больших пределах: грубая, полугрубая от 5 до 50 сомов, полутонкая – 40-80 сомов, тонкая помесная 80-120 сомов, смесь тонкой помесной + меринос 80-130 сомов, меринос, как уже упоминалось, от 130 до 200 сомов.

Самые низкие цены при продаже перекупщикам. Самые высокие при продаже собранной у фермеров и племзаводов шерсти по системе ОФРМ, где после сбора шерсти проходит её классировка по типам и классам, затем мойка, частично изготовление топса для войлочников.

Мытая шерсть, являясь первым продуктом переработки, может быть серьезной категорией на международном рынке. Но остаточная за жирность шерсти (до 1,5%) не устраивает покупателей из-за рубежа. Нужны поправки в соответствующие технологии мойки.

Топс – расчесанная шерсть, по потребности окрашенная, может быть следующим продуктом для продажи. Особенно пользуется спросом топс у местных рукодельниц – войлочниц. Может быть организована продажа топса войлочникам, число которых также установлено для Кыргызской Республики – 242 малых или единоличных предприятий. Топс, получаемый в наших экспериментальных разработках, пользуется большим спросом.

При появлении оптовых покупателей с крупных фабрик производится продажа и выдача денег фермерам. Цены - по себестоимости товара, так как работы носят экспериментальный характер. По мере обработки шерсти определяется цепочка добавленной стоимости, являющейся целью изучения.

Установлено, что при продаже шерсти фермерами и заводами, расчет стоимости 250 тонн мытой тонкорунной шерсти при выходе 50% составит более миллиарда сомов.

#### Ситуация при моделировании рынка тонкой шерсти

Сорт шерсти	цена при продаже, \$ US за 1 кг	Количество грязной шерсти, тонн	Количество мытой шерсти, тонн	Цена при продаже мытой шерсти, \$ US за 1 кг	Стоимость мытой шерсти, \$ US
Мериносовая шерсть 64-70-1 (племенные заводы)	\$3,0	200,0	100,0	\$6,0	\$ 600 000
Мериносовая шерсть 64-1 (фермерские хозяйства)	\$2,5	200,0	100,0	\$5,0	\$500,000
Тонкая помесная шерсть	\$1,5	100,0	50,0	\$ 3,0	\$150,000
Итого		500,0	250,0		\$1.250.000

Предполагается выход чистого волокна при мойке не ниже 50%

Самые крупные покупатели, работающие внутри страны по изготовлению различных изделий, которые сами покупают шерсть через своих перекупщиков, являются на рынке монополистами, диктуют цену с их стороны в сторону понижения цены очень сильный, что снижает получение дополнительной прибыли с овцы, кроме стоимости мяса, для продавцов - фермеров.

Самыми крупными покупателями сырья из зарубежных стран являются китайцы. Сформирована достаточно большая армия никем не контролируемых перекупщиков, которые работают на китайских покупателях. Основная масса сырья перерабатывается до мытой шерсти на фабрике ОсОО «Имран», совместном предприятии с китайцами, и на фабрике ПОШ в г. Токмок.

Был опыт проведения аукциона на состриженную шерсть на территории племенного за-

Кроме сумм, изложенных в таблице, необходимо учитывать стоимость обработки на фабрике ПОШ и в дальнейшем на следующей обработке при получении топса. Современное положение и ветеринарная обстановка не позволяют вывозить невытую шерсть за пределы республики. Поэтому предприятия ПОШ (первичной обработки шерсти) перерабатывают основные объемы сырья, не считая количества шерсти, к сожалению, которое невозможно контролировать из-за принадлежности мелким производителям и перекупщикам.

вода им. М.Н.Луцихина в Таласской долине, где собралось 8 претендентов на шерсть со стороны Китая. Вся партия шерсти была куплена по цене 175 сомов (3,68 \$) без всякого дифференцирования по сортам.

Часто встречаются покупатели из числа перекупщиков из Турции. По непроверенной информации, со слов этих перекупщиков, они увозят шерсть в невытом виде, так как их не устраивает качество мойки. К сожалению, объемы их закупок не известны.

Установление прямых связей между производителями и переработчиками шерсти на внутригосударственном и межгосударственном уровне, устранение ряда перекупщиков, снижающих до 50% цены, решило бы многие задачи. Во многих государствах производство необходимого шерстного сырья датируется, что имеет свои примеры и в дальнем, и в ближнем зарубежье.

В принципе, само производство и продажа не должны иметь господдержки в денежных средствах. Но переработка сырья, если государство всерьез озабочено занятостью населения и бесперебойной работе легкой промышленности, обеспечением своего населения экопродукцией для одежды, в конце-концов здоровьем населения, требует особого внимания. Чаще всего в практике других государств датируется покупка шерстного сырья для местных производств, чтобы не было повышения цен на продукцию этих предприятий.

Было бы правильной иметь централизованную систему по сбору, переработке и сбыту шерсти, как во многих странах мира, в частности в лучшем центре по шерсти - в Великобритании (British Wool), контролируемое государством, но представленную рядом частных предприятий, взаимосвязанных между собой.

По размеру пастбищной территории Кыргызстана по принятой Концепции в 2000 году можно содержать 7 млн мелкого рогатого скота. Предполагалось, что 3,5 млн из этого количества должны быть мериносовые овцы. При хорошем уровне шерстной продуктивности тонкорунных овец в 3 кг мытой мериносовой шерсти с одной головы общий объем может достигать 10 500 тонн в мытом виде. Даже при уровне предыдущих лет при цене 160 сомов за 1 кг невыттого волокна общая стоимость при продаже шерсти может достигать *более чем миллиардного уровня*. Причем, шерсть в Кыргызстане отличалась всегда достаточно высоким выходом чистого волокна при мойке, имеется тенденция к его повышению (до 60%). Она экологически чистая из-за производства на горных пастбищах.

Определение самой себестоимости из-за производства от овцы шерсти и мяса весьма проблематично. Какую цену предпочесть на рынке для того, чтобы не только покрыть все расходы по содержанию овцы, но и иметь доход в результате? Этот вопрос требует исследования.

В настоящее время цена, которую предлагают покупатели, практически не дифференцирована по классам и сортам шерсти. Ориентироваться по ценам мирового рынка, не имея настоящего определения качества шерсти, дело неблагоприятное. **Лаборатории тестирования шерсти в государстве нет**, хотя шерсть племенных овец кыргызского горного мериноса очень похожа по своим качествам - тонине, длине, извитости и цвету жиропота на шерсть австралийских мериносов, лучшей мериносовой породы в мире.

Цены на рынках Австралии, по сообщениям Российского Союза овцеводов и данным Австралийской компании Landmark в апреле 2015 года достигали от 607,42 до 612,23 рублей за 1 кг мытой шерсти. Легко сравнить уровень цен в сомах при курсе рубля на кыргызском рынке. В 2017 году наблюдается дальнейший рост

цен и потребности шерсти в различных странах.

Сколько затрат приходится делать фермеру для содержания овцематок? Эта категория овец наиболее часто составляет стадо в крестьянском и фермерском хозяйстве, хотя при правильной расстановке сил в стаде могут (и должны) присутствовать бараны-производители, бараны - пробники и ежегодный приплод. Выращивается новое поколение, в частности ярки, для ремонта собственной отары. Расчет, тем не менее, делается на условную голову овцы.

Затраты при учете в условиях Таласской долины (ГПЗ им.М.Н.Луцихина) состоят из денег, потраченных на корма, электроэнергию, оплату рабочей силы и налога на использование пахотной земли и пастбищ. По уровню ведения дел на заводе затраты на содержание овцематок на ферме складываются из нескольких переменных. При условиях кормления в течение 1,5 месяцев до ягнения и 1,5 месяцев после ягнения в 1 день на 1 матку тратится 2 кг сена и 0,3кг концентрированного корма, в основном ячменной дерти.

В зимовку 2014-15гг при средней стоимости сена 6 сомов в сутки и 4,5 сома за концентрат, соответственно, стоимость корма составляет (1080с+675с) 1755 сомов. Соль, необходимая в рационе по 15 г в течение всего года добавляет в расходы еще 38,5 сомов на 1 голову. Затраты на электроэнергию в течение года составляют 56,75 сомов на 1 овцу. Оплата за искусственное осеменение в среднем равна 25 сомам на одну овцематку. При использовании барана-производителя со стороны владельца барана оплачивается 60 сомов за каждую осемененную матку. Необходимые прививки и оплата ветеринарных услуг проводятся за 40 сомов. Одна купка животного - 10 сомов. Налог по сезонам за использование поливной земли и за пастбище в условиях Кара-Бууринского района - 16 и 13 сомов. Транспорт в условиях откочевки обходится в 120 сомов на голову. Стрижка - 40 сомов, классирование и прессование шерсти весной - 8 сомов. При формировке сакманов в ягнение на 1 месяц стоимость работы на 1 голову поднимается до 140 сомов.

Итак, все затраты на содержание одной головы овцы, без учета заработной платы самому чабану или фермеру составляют 2 322,25 сомов. Если учесть, что в среднем за работу на отаре наемным чабанам или помощникам платят заработную плату до 10 тысяч сомов, то есть за 1 овцу около 20 сомов в месяц при отаре в 500 голов, то затратная стоимость одной овцы поднимается до 3 тысяч сомов в зависимости от величины отары.

В то же время шерсть, состриженная с одной овцы за 40, а иногда за 50 сомов, массой 3,5 кг (тонкорунная) или даже 4,5 кг (мериносовая), не говоря уже о помесных животных и помесной шерсти ( 2 - 2,6 кг с одной овцы),

или грубошерстной (1- 1,5 кг), не покрывает расходы.

Цена на мировом рынке шерсти все время варьирует. Но в настоящее время самые не лучшие сорта шерсти-меринос из Австралии стоят примерно 10-12 долларов. В Кыргызстане за все годы самая высокая цена в течение последних 3-х лет была около 150 – 200 сомов, то есть по разным курсам от 3,68 до 2,58 доллара за 1 кг немытой меринской шерсти. В то же время шерсть от наших меринских овец оценена Бадфордской лабораторией тестирования еще в 2009 году. Приезжали к нам и специалисты из Англии, Германии, Австралии и Новой Зеландии. Все они считали, что у Кыргызстана есть стадо меринских овец и будущее в смысле содержания и выращивания меринских овец и производства меринской шерсти.

Заготовка и переработка меринской шерсти не лимитируется, так как имеется большой спрос на её покупку (особенно мытой шерсти) из-за рубежа, но приготовление партий обеспечивается финансами по имеющимся средствам покупателя.

Все производители шерсти, вне зависимости от сорта шерсти, сталкиваются со следующими проблемами:

- Выбор и нахождение покупателя шерсти. В настоящее время производители шерсти не имеют возможности реализовывать свою шерсть по ценам рынка. Реализация происходит хаотично;
- Нет гарантированного места сдачи шерсти и достаточных цен на шерсть;
- Отсутствует информационный центр для производителей шерсти, где они могли бы получать информацию о шерсти;
- Фермер не имеет возможности оценить качество производимой шерсти и соответственно получить справедливую цену на свою продукцию;
- Отсутствие возможности формирования крупных партий для реализации. Хаотичная реализация шерсти самими фермерами в малых партиях делает непривлекательным данный рынок поставок шерсти для глобальных игроков, которые закупают шерсть большими партиями.

Создание Единой сети логистических центров «Кыргыз жун» могло бы решить эту важную для фермеров задачу. Для начала можно иметь 4 пункта сбора, переработки и реализации шерсти:

I. Нарынская область. Производственная база Тяньшаньского племенного завода, или на базе крупного фермерского хозяйства в с.Кочкор;

II. Ошская область. Должны быть охвачены Баткенская, Жалал-Абадская и Ошская области. Производственная база племенного завода «Катта Талдык»;

III. Иссык-Кульская область. Производственная база племенного завода «Оргочор»;

IV. Таласская область. Производственная база племенного завода «им.М.Н.Лушыхина».

На данных логистических центрах должна собираться шерсть, сортироваться, упаковываться и вноситься в единую базу реализации шерсти. Данный метод позволит формировать крупные партии шерсти одного качества для реализации оптовым покупателям.

Для налаживания процесса реализации шерсти должен быть создан Единый центр реализации шерсти, куда будет вноситься информация о наличии шерсти, об ее качестве, месте поставки. Потенциальный покупатель будет иметь доступ к информации о наличии и качестве шерсти. Данный метод также позволит открыть доступ для большого количества покупателей, что будет увеличивать цену и стоимость реализации шерсти, позволит заполнить этот вакуум.

Отсутствие сертификатов качества шерсти является одним из основных препятствий при ее реализации. Приобретение лабораторного оборудования позволит получать фермерам и покупателям достоверную объективную информацию о качестве производимой шерсти и в конечном итоге повысит рентабельность меринской отрасли в овцеводстве.

Тестирование шерсти в специальной лаборатории, аккредитация такой лаборатории позволит Кыргызстану войти во всемирную организацию по шерсти и использовать объективные цены при продаже за рубеж, а также повысит качество сырья, требуемого нашими перерабатывающими предприятиями. В конечном итоге, позволит контролировать рынок шерсти и даст отчисления правильного количества налоговых средств.

В настоящее время все звенья этой цепи уже имеются и функционируют в государстве. Требуется внимание и организующая роль государства в определении политики в важном секторе получения дополнительной прибыли от овец, которые всегда были, есть и будут разводиться на территории Кыргызской республики.

УДК: 619:614.2

## ВЕТЕРИНАРНЫЙ СТАТУАРНЫЙ ОРГАН – АВТОНОМНЫЙ ИНСТИТУТ ПО РЕГУЛЯЦИИ ВЕТЕРИНАРНОЙ ПРАКТИКИ

*К. А. Маматкулов – соискатель института Биотехнологии НАН КР*

*А.Т. Жунушов - член-корреспондент НАН КР, доктор ветеринарных наук, профессор, директор Института биотехнологии НАН КР*

В цепочке производства продукции животноводства, ветеринарная система является основным компонентом. Поэтому, приведение национальной ветеринарной системы в соответствие с международными нормами, является одним из основных факторов повышения экспортного потенциала страны. Ну, а в международных нормах предусмотрено наличие в стране автономного органа по регулированию частной ветеринарной практики. Поэтому, приведение национального законодательства в соответствие с международными стандартами, позволит обеспечить эпизоотическую и пищевую безопасность и откроет дорогу к созданию международных торговых отношений.

*Ключевые слова:* Ветеринарный статутарный орган, Ветеринарная палата, частная ветеринарная практика, государственное регулирование, саморегулирование, Кодекс профессиональной этики, Реестр частных ветеринаров, минимальные квалификационные требования, конкуренция в области частной ветеринарной практики.

## ВЕТЕРИНАРДЫК СТАТУАРДЫК ОРГАН – ВЕТЕРИНАРДЫК ПРАКТИКАНЫ ЖӨНГӨ САЛУУЧУ АВТОНОМДУК ИНСТИТУТ

Мал чарба продукциясын өндүрүүдө ветеринария системасы негизги компонент болуп саналат. Ошондуктан, улуттук ветеринария системасын эл аралык нормаларга төп келиштирүү, өлкөнүн экспорттук потенциалын жогорулатуучу негизги факторлордун бири болуп эсептелет. Эл аралык тажрыйбада өлкөдө жеке ветеринардык практиканы жөнгө салуучу автономдук уюмдун болушу каралган. Ошондуктан, улуттук мыйзамдарды эл аралык стандартка шайкеш келиштирүү, эпизоотиялык жана тамак-аш коопсуздугун камсыз кылат жана эл аралык соода-сатык мамилени түзүүгө жол ачат.

*Негизги сөздөр:* Ветеринардык статутардык орган, Ветеринардык палата, ветеринардык практика, мамлекеттик жөнгө салуу, кесиптик этикалык Кодекс, жеке ветеринарлардын реестри, минималдык квалификациялык талап, жеке ветеринардык практикадагы конкуренция.

## VETERINARY STATUTE AUTHORITY - AUTONOMOUS INSTITUTE FOR REGULATION OF VETERINARY PRACTICE

In the chain of livestock production the veterinary system is a major component. Therefore, bringing the National Veterinary System in line with an International standards is a major factor in increasing the country's export potential.

International standards set that the country has to have an Autonomous Body to regulate the private veterinary practice. Therefore bringing the National Legislation into the line with International standards will provide the epizootic and food security and open the way to the creation of international trade relations.

*Key words:* Veterinary Statutory Body, The Veterinary Chamber, private veterinary practice, Government regulation, self-regulation, Code of Ethics, the Register of private veterinarians, the minimum qualification requirements, competition in private veterinary practice.

Правительство Кыргызской Республики, в 2008 году утвердило "Стратегический план развития ветеринарной системы Кыргызстана на 2008 – 2012 годы", которым принято политическое решение по созданию Ветеринарной палаты Кыргызстана.

Если остановиться на основных причинах необходимости создания Ветеринарной палаты, то следует отметить, что такой шаг позволит не только вывести национальную систему ветеринарии из системного кризиса, но и позволит обеспечить эпизоотическую и пищевую безопасность, наладить международные торговые отношения и повысить экспортный потенциал страны.

Откровенно говоря, в условиях рыночных отношений, какое бы государство не было, без налаживания международных торговых отношений, сама по себе страна развиваться не может, это очевидно. Поэтому Кыргызстан, как член Всемирной торговой организации, заинтересован в создании международных торговых отношений. Для выхода на международную торговую арену есть только один путь – привести национальную законодательную базу в соответствие с международными стандартами и нормами.

В цепочке производства продукции животноводства, ветеринарная система является основным компонентом. Поэтому, приведение национальной ветеринарной системы в соответствие с международными нормами, является одним из основных факторов повышения экспортного потенциала страны. Ну, а в международных нормах предусмотрено наличие в стране автономного органа по регулированию частной ветеринарной практики. Поэтому, приведение национального законодательства в соответствие с международными стандартами, позволит обеспечить эпизоотическую и пищевую безопасность и откроет дорогу к созданию международных торговых отношений.

Да, правильно, по отношению к этому органу могут быть различные мнения. Это обычная картина. Так, как Ветеринарная палата, как новый институт впервые вводится не только в систему ветеринарии Кыргызстана, но и в целом в общественную жизнь страны.

Хотелось бы отметить, что в жизни общества, регулирование осуществляется двумя путями. Первый это государственное регулирование, а второй – саморегулирование.

*Государственное регулирование* – осуществляется путем принятия нормативных правовых актов и контроля их исполнения. Это функция Правительства.

*Саморегулирование* – реализуется на основании Устава органа или Кодекса профессиональной этики, а также других документов.

Ветеринарной палате не передавалась функция государственного регулирования. Если рассмотрим задачи определенные этому органу: это оценка профессиональных знаний частных ветеринаров, ведение Реестра специалистов отвечающих минимальным профессиональным квалификационным требованиям, а также осуществление контроля за соблюдением норм Кодекса профессиональной этики специалистами, состоящими в Реестре.

Хотелось бы отметить то, что Ветеринарная палата не утверждает Положения об оценке профессионального уровня ветеринарных специалистов или о порядке ведения Единого реестра специалистов, это прерогатива Правительства.

Ветеринарной палате передаются полномочия по исполнению этих положений и правил. Эти взаимоотношения можно воспринимать как государственно-частное партнерство.

Когда возникают коррупционные риски тогда, когда принятие правил, их исполнение и контроль находятся в одном органе. Наоборот, с введением данного института открывается возможность избавления от коррупционных элементов.

Еще одним орудием регулирования ветеринарной практики является Кодекс профессиональной этики. Кодекс принимается на общем собрании ветеринаров страны. В общественных отношениях есть проблемы, которые не регулируются законами или другими нормативными правовыми актами.

Например, законом, постановлением или распоряжением мы не можем обязать ветеринарного врача быть наставником молодого специалиста. Это противоречит принципам рыночной экономики, так как в будущем молодой специалист возможно станет конкурентом. Этот вопрос может быть решен принятием Кодекса профессиональной этики, наставничество мы должны рассматривать как один из путей профессионального развития. Мы воспринимаем это как положительный пример саморегулирования.

Создав указанный институт и обеспечив условия для его полноценного функционирования мы добьемся решения ряда задач:

*Во-первых*, будет создана система эффективного регулирования частной

ветеринарной практики, соответствующей международным нормам,

*во-вторых*, с передачей управления частной ветеринарной практикой профессиональному, автономному органу произойдет экономия бюджетных средств, так как Правительство, оставляя за собой функцию по регулированию, должно отойти от исполнительской деятельности. Это тоже веление времени,

*в-третьих*, будет обеспечена эквивалентность национальной системы ветеринарии международным требованиям,

*в-четвертых*, создание конкуренции на рынке ветеринарных услуг, повлечет за собой улучшение качества предоставления ветеринарных услуг,

*в-пятых*, повысится экспортный потенциал сектора животноводства страны.

Введение в стране той или иной системы управления требует принятия политического решения, которое напрямую зависит от политико-экономического положения страны. А в международных торговых отношениях главную роль играет возможность доказательства того, что производимая в стране продукция животноводства производится в соответствии с требованиями безопасности.

Например: В России, Казахстане, Белорусии ветеринарные услуги оказываются за счет государства. Каждое село обеспечено государственным ветеринарным специалистом. Поэтому указанные страны доказывают, что производимая продукция животноводства находится под контролем государства.

Несмотря на это в 2014 году Российская Федерация заключила договор с Международным эпизоотическим бюро по созданию в стране Ветеринарной палаты. На сегодняшний день они проводят работу с Ветеринарной палатой Франции.

Казахстан тоже подписал договор по реформированию системы ветеринарии в соответствии с международными нормами, в Прибалтийских республиках же уже давно созданы Ветеринарные палаты отвечающие требованиям МЭБ.

Эти действия государств мы воспринимаем, как активное стремление к выходу на международные рынки.

*Какова ситуация у нас в Кыргызстане?*

Государственная ветеринарная служба есть только до районного уровня. Для содержания ветеринарных врачей на уровне села за счет государственного или местных бюджетов нет возможностей, да и в рыночных условиях это не целесообразно. Ветеринарные услуги оказываются частными ветеринарными специа-

листами. В стране нет системы их профессионального регулирования. Точнее сказать, нет устойчивой системы количественного и качественного учета ветеринарных специалистов, их непрерывного профессионального развития. В таких условиях ограничиваются возможности экспорта продукции животноводства на внешние рынки.

Поэтому, Правительство Кыргызской Республики, для эффективного управления частной ветеринарной практикой в стране, взяло направление на создание новой системы управления, основанных на рыночных отношениях.

*Институт Ветеринарной палаты* – в условиях рыночных отношений один из эффективных видов обеспечения регулирования частной ветеринарной практики в стране.

*Основная задача этого органа* – посредством допуска к ветеринарной практике специалистов соответствующих минимальным квалификационным требованиям, а также контроля над ними по соблюдению норм Кодекса профессиональной этики, обеспечить потребителям ( населению) получение качественных ветеринарных услуг.

#### Литература

1. Национальная Стратегия устойчивого развития Кыргызской Республики на период 2013-2017 гг (пункт10.1)
2. Стратегический план развития ветеринарной службы Кыргызской Республики на 2008-2012 гг (25.02.2008, №62)
3. Закон Кыргызской Республики «О ветеринарии» (30.12.2014, № 175)
4. Пути становления Ветеринарного статутарного органа Кыргызстана, как модель регулирования частной ветеринарной практикой (Фундаментальные и прикладные проблемы науки, Т. 2, стр. 73)
5. Совершенствование качества ветеринарных услуг (Обращение Генерального директора МЭБ Бернарда Валлат, 25 - июня, 2014)
6. «The experience of establishing the Veterinary Statutory Body in Kyrgyzstan» 4-6 – декабря, 2013г (Бразилия, Фосду Игуасу).

## Сведения об авторах:

- Акжолтоев Ж.**, младший научный сотрудник лаборатории генетики тел.: 0771328829
- Асанакунув Б. А.**, кандидат биологических наук, Лаборатория биотехнологии растений, Институт биотехнологии НАН КР, e-mail: b.asanakunov@gmail.com,
- Бердибаева А.Б.**, ученый секретарь Института биотехнологии НАН КР, канд.сельскохозяйств. наук, старший научный сотрудник. Тел.: 0312391843; моб. тел.: 0772863726; e-mail: aidaber dibaeva@rambler.ru
- Быковченко Ю.Г.**, зав. лаборатории биохимии Института биотехнологии НАН КР, докт. биол. наук, проф., заслуженный деятель науки КР, лауреат Государственной премии КР в области науки и техники тел.: 0312646329; моб. тел.: 0772336385
- Галиев Р. С.**, докт.ветер. наук., проф., главный научный сотрудник лаборатории микробиологии ИБ НАН КР, тел.: сл. (996) 312 39 20 18, (996) 312 57 25 30 дом., 0772 500377 моб.
- Гладырь Е.А.**, канд. биол. наук, старший научный сотрудник ВИЖ ГНУ РАСХН
- Денискова Т.Е.**, канд. биол. наук, старший научный сотрудник ФГБНУ Всероссийский НИИ животноводства им. академика Л.К. Эрнста, 142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60, e-mail: tandeniss@rambler.ru;
- Жугунисов К. Д.**, магистр ветеринарных наук, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности (НИИПББ), Казахстан, 080409, пгт. Гвардейский, Кордайский район, Жамбылская область, моб.:+77021864273, e-mail: kuandyk\_83@mail.ru
- Жунушов А.Т.**, директор Института биотехнологии НАН КР, докт. ветер. наук, проф., член корр. НАН КР, заслуженный деятель науки КР, лауреат Государственной премии КР в области науки и техники. сл. Т0312ел.: 392014; моб. тел.: 0772325721
- Исакунов А.**, младший научный сотрудник лаборатории генетики и биотехнологии животных, доктор сельскохозяйственных наук моб. тел.: 0707865035
- Кожокеева С.А.**, аспирант Института биотехнологии НАН КР, зав. лабораторией Ветеринарно-санитарной экспертизы Госинспекции ВФСБ моб. тел.: 0554 455435
- Лушихина Е. М.**, гл. науч. сотр. лаборатории генетики животных Института биотехнологии, докт. сельскохозяйств. наук, сл. тел.: 0312) 92028, моб. тел.: 0550101570; email:Lushihina.E@mail.ru
- Маматкулов К. А.**, соискатель института биотехнологии НАН КР, mamatkulov@mail.ru +996(779) 10 20 04
- Осоева А.О.**, младший научный сотрудник лаборатории биохимии, моб.: 0776930017
- Раимжанов Б.**, зав. отд. ЦСЦ КР, тел.: 0772-05-00-23
- Рыжова А.А.**, Институт биотехнологии НАН КР. тел. +996 312646331 e-mail: ryzhova\_antonina@mail.ru
- Селионова М.И.**, директор ФГБНУ ВНИИОК, докт. сельскохозяйств. наук, проф., моб. +79187862829 тел/факс: +7 (8652) 71-70-33 email: m\_selin@mail.ru сайт: http://www.vniok.ru/
- Суюнтбеков М. Т.**, директор ГПЗ им. М.Н. Лушихина тел.: 0556-55-62-62
- Тагаева Дж. С.**, науч. сотрудник лаборатории биотехнологии и питания ИБ НАН КР, моб. тел.: 0555 751027
- Темирова Дж. Н.**, зав.лаб. микробиол., канд. ветер. наук тел.: (996) 312 39 20 18; сл.: (996) 312 60 94 06 дом, 0551 66 09 07 моб.
- Умралина А. Р.**, докт. биол. наук, 64-63-31 (лаб.), моб. тел.: 0550-83-24-22, e-mail: umralina@mail.ru
- Уракунова К.**, ст. научный сотрудник лаборатории биохимии Института биотехнологии НАН КР, канд. биол. наук тел.: 03126642617, моб. тел.: 0778556240
- Чернышева Т.П.**, кандидат биологических наук, сл. тел.: 0312 646331
- Asankadyr Zhunushov**, Kyrgyz Institute of Biotechnology, Natinal Academy of Scienses, Bishkek, Kyrgyzstan
- Jason K. Blackburn**, Spatial epidemiology Ecology Research Laboratory, Department of Geography, University of Florida, Gainesville, FL USA, Emerging Pathogens, Gainesville, Institute, University of Florida, FL USA
- Ian T. Kracalik**, Spatial epidemiology Ecology Research Laboratory, Department of Geography, University of Florida, Gainesville, FL USA, Emerging Pathogens, Gainesville, Institute, University of Florida, FL USA
- Sabira Kozhokeeva**, Kyrgyz Institute of Biotechnology, Natinal Academy of Scienses, Bishkek, Kyrgyzstan
- Saitbek Matakharimov**, Kyrgyz Institute of Biotechnology, Natinal Academy of Scienses, Bishkek, Kyrgyzstan
- Zhyldyz Tagaeva**, Kyrgyz Institute of Biotechnology, Natinal Academy of Scienses, Bishkek, Kyrgyzstan
- Lindsay K. Bell**, Spatial epidemiology Ecology Research Laboratory, Department of Geography, University of Florida, Gainesville, FL USA

## Информационно-издательская деятельность

В рамках реализации Концепции по реформированию системы организации науки в Кыргызской Республике для своевременного сбора и оперативного распространения информации о работе президиума и инновационных достижений научно-исследовательских учреждений образован информационно-издательский центр «Илим» НАН КР путем слияния издательства «Илим» и отдела информационного обеспечения президиума НАН КР (далее -ИИЦ «Илим», который состоит из следующих трех отделов: информационный, редакционный и производственный. (Утверждено постановлением президиума НАН КР от 24 февраля 2016 года № 7).

ИИЦ «Илим» зарегистрирован Министерством юстиции Кыргызской Республики, имеет статус самостоятельного юридического лица.

Разработаны Концепция развития и Устав ИИЦ «Илим», в соответствии с которыми издается журнал «Известия Национальной академии наук Кыргызской Республики» (далее «журнал Известия НАН КР») являющийся издательским органом президиума НАН КР и обладает статусом республиканского академического издания.

1. Журнал «Известия НАН КР» является рецензируемым изданием и входит в список Высшей аттестационной комиссии Кыргызской Республики для публикаций материалов диссертаций. (Утверждено постановлением президиума НАН КР от 22 мая 2008 года №24).
2. Журнал «Известия НАН КР» предназначен научным работникам, ученым специалистам, работающим в научно-исследовательских институтах и центрах, в научных подразделениях высших учебных заведений, в научно-учебных и научно-производственных объединениях.
3. Журнал «Известия НАН КР» зарегистрирован Министерством юстиции Кыргызской Республики.

Цели и задачи журнала «Известия НАН КР»

1. Целями журнала «Известия НАН КР» является публикация результатов научных исследований и ознакомление общественности страны с достижениями науки, техники и культуры Кыргызстана.
2. Журнал «Известия НАН КР» публикует материалы по актуальным проблемам науки и техники, разрабатываемым в институтах НАН КР, отраслевых НИИ и научных подразделениях высших учебных заведений республики.
3. Журнал «Известия НАН КР» публикует обзорные и методологические статьи, рецензии на научные статьи, монографии и сборники, а также краткие сообщения и отчеты о научных сессиях, конференциях и других событиях научной жизни страны.

Приложение к журналу «Известия НАН КР»

1. В целях повышения оперативности и информативности в популяризации науки, а также в целях ознакомления с программными документами, разработанными в президиуме, в бюро Отделений и НИУ НАН КР, издается приложение к журналу «Известия НАН КР» - «Жизнь науки», периодичность. 2-4 номера в год.
2. «Жизнь науки», публикует доклады и отчеты по результатам фундаментальных и прикладных исследований, проводимых в НАН КР.
3. «Жизнь науки» регулярно публикует аналитические записки ведущих ученых и специалистов по приоритетным научным направлениям.
4. «Жизнь науки» публикует краткие сообщения и отчеты о научных сессиях, конференциях и других событиях научной жизни страны.
5. «Жизнь науки» публикует материалы мемориальных конференций, а также научно-практических конференций и симпозиумов, посвященных юбилейным датам ведущих ученых.
6. «Жизнь науки» публикует материалы дискуссий по актуальным вопросам развития науки и инновационной деятельности, диалоги ученых, тексты обращений и сообщения рекламного характера.
7. «Жизнь науки» публикует результаты творчества ученых ненаучного характера (стихи, эссе, краткие рассказы и т.д.).

## УТВЕРЖДЕНО

Постановлением президиума  
НАН КР от 25 мая 2016 года

**ПАМЯТКА ДЛЯ АВТОРОВ И ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ  
МАТЕРИАЛОВ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ**

Редакция журнала «Известия НАН КР» убедительно просит авторов руководствоваться приводимыми ниже правилами и надеется, что авторы ознакомятся с ними, прежде чем предоставят статьи в редакцию. Работы, оформленные без соблюдения этих правил, возвращаются без рассмотрения.

1. Журнал публикует сообщения об исследованиях в области математики, естественных, технических, медицинских, биологических, сельскохозяйственных, общественных и гуманитарных наук, авторами которых являются академики, члены-корреспонденты, научные сотрудники и иностранные члены НАН КР.

2. Для опубликования статей в журнале необходима рецензия, представленная доктором наук по соответствующей специальности.

3. Письмо в произвольной форме на имя главного редактора журнала «Известия НАН КР» академика Эркебаева Абдыганы Эркебаевича, на гербовом бланке, подписанное руководителем.

4. Авторы должны предоставить индекс по Универсальной десятичной классификации (УДК). К статье прилагаются фамилии авторов на трех языках (русском, кыргызском, английском), а также электронные версии текста статей и рисунков.

5. В начале статьи нужно указать полное название учреждения, в котором выполнено исследование, фамилии, имена, отчества, научные звания и регалии всех авторов, в конце статьи продублировать указанные данные, добавив почтовый индекс, адрес, номера телефонов (служебный, домашний, мобильный), факса и электронную почту каждого соавтора. Необходимо также указать лицо, с которым редакция будет вести переговоры и переписку.

6. Авторы в обязательном порядке прописывают названия темы статей, аннотации и ключевые слова на русском, кыргызском и английском языках. Носитель – флеш-карта.

7. Возвращение рукописи автору на доработку не означает, что она принята к печати. После получения доработанного текста рукопись вновь рассматривается редколлегией. Доработанный текст автор должен вернуть вместе с исходным экземпляром, а также с ответом на все замечания. Датой поступления считается день получения редакцией окончательного варианта.

8. Редакция журнала «Известия НАН КР» принимает сообщения объемом до 15 печатных листов, размер шрифта – 14-й через 2 интервала. Рисунки должны быть выполнены четко, в формате, обеспечивающем ясность передачи всех деталей. Каждый рисунок должен сопровождаться подписью независимо от того, имеется ли в тексте его описание. Страницы должны быть пронумерованы. В тексте нельзя делать рукописные вставки и вклейки. Математические и химические формулы и символы в тексте должны быть набраны и вписаны крупно и четко. Следует избегать громоздких обозначений. Запунктированные формулы обязательно включаются в красную строку, номер формулы ставится у правого края. Желательно нумеровать лишь те формулы, на которые имеются ссылки.

9. Ссылки в тексте на цитированную литературу даются в квадратных скобках, например [1]. Список литературы приводится в конце статьи. Для книг: фамилия и инициалы автора, полное название книги, место издания, издательство, год издания, том или выпуск и общее количество страниц. Для периодических изданий: фамилия и инициалы автора, название журнала, год издания, том, номер, первая и последняя страницы статьи. Ссылки на книги, переведенные на русский язык, должны сопровождаться ссылками на оригинальные издания с указанием выходных данных.

10. Не принятые к публикации работы авторам не высылаются.

11. Статьи и материалы, отклоненные редколлегией, повторно не рассматриваются.

12. Для покрытия расходов на публикацию материалов сумма оплаты за публикацию статьи составляет для авторов, не являющихся членами НАН КР – 600 сомов; для авторов из стран СНГ – 50 долларов США; для авторов из стран дальнего зарубежья – 60 долларов США. На основании Решения Президиума НАН КР от 25 мая 2016 года каждый автор обязан дополнительно выкупить журнал по цене 750 сом.

Издательская группа:  
Н. Мазекова (руководитель),  
С. Кырчообаева, С. Сулайманов,  
М. Качкымбаев, Н. Сыдыков, А. Курбанова

Подписано в печать 09.09.17. Формат 60×84 1/8.  
Печать офсетная.  
Тираж 200 экз.



Информационно-издательский центр «Илим» НАН КР,  
720071, г. Бишкек, проспект Чуй, 265а



