

## ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ НАЦИОНАЛЬНОГО СТАНДАРТА ГОСТ Р 57171-2016 «ШКУРКИ ПЕСЦА ГОЛУБОГО НЕВЫДЕЛАННЫЕ. ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ»

*Обзор ГОСТ Р 57171-2016 «Шкурки песца голубого невыделанные. Технические условия»*

**Н.И. Тинаев, А.Р. Шумилина\***

*Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт пушиного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»*

*140143, Россия, Московская обл., Раменский р-он, пос. Родники, ул. Трудовая, 6*

*\*e-mail: arshumilina@mail.ru*

Увеличение количества и улучшение качества шкурковой продукции является актуальным направлением для повышения эффективности звероводства. Одним из надежных и высокоэффективных механизмов наращивания в России объемов производства шкурок, способствующих повышению уровня рентабельности отечественного клеточного песцеводства, является национальная система стандартизации (технического регулирования) отрасли. В ранее принятом ГОСТ 7907 – 78 «Шкурки песца голубого невыделанные. Технические условия» предусмотрена устаревшая для настоящего времени технология правки и сушки шкурок мездрой наружу, в то время как наиболее эффективна правка и сушка шкурок волосом наружу. В результате отечественные производители теряли в площади шкурок и затрачивали время и средства на дополнительные операции при первичной обработке пушнины. Прежний ГОСТ по многим параметрам не соответствует современным требованиям и является своего рода тормозом в увеличении количества и повышении качества шкурковой продукции. По заданию Росстандарта РФ Техническим комитетом «Пушное звероводство и кролиководство» НИИПЗК в 2016 г. был разработан национальный стандарт ГОСТ Р 57171 – 2016 «Шкурки песца голубого невыделанные. Технические условия» (далее – стандарт) взамен прежнего. Данный стандарт распространяется на шкурки песца клеточного разведения невыделанные, выращенные в зверохозяйствах и предназначенные для производства выделанных шкурок и изделий из них. В стандарте установлены требования к сырью, первичной обработке шкурок, регламентированы допуски по цветовым характеристикам волосяного покрова шкурок песца различных расцветок, к дефектам волосяного покрова и кожной ткани для различных групп качества, допускается правка и сушка шкурок волосом наружу с использованием правилки новой конструкции, введена новая шкала размера для таких шкурок с большим диапазоном размерных категорий при измерении их длины от кончика носа до основания хвоста.

**Ключевые слова:** песец, шкурка, окраска волосяного покрова, сорт, размер, дефекты, правилки, зачет по качеству шкурки, нормативные ссылки.

За прошедшие десятилетия изменился размер песца клеточного разведения, качество его волосяного покрова и технология первичной обработки шкурок. Размер правилки, рекомендуемый звероведам внутренним стандартом, стал недостаточен для правки и сушки особо крупных шкурок: размерные категории (первая и вторая) не позволяют оценить площадь особо крупных шкурок. Кроме того, по нашим нормативным документам длину шкурок измеряют от середины междуглазья до корня хвоста, а при сушке волосом наружу (зарубежная технология) – от кончика носа до корня хвоста. К тому же допуски, особенно в интервалах по длине между размерными

категориями шкурок и в измерении их длины, существенно разнятся между ними.

Стоимость шкурки зависит не только от ее размера, но и от сорта, цвета, густоты волосяного покрова и наличия дефектов, поэтому унификация отечественного стандарта на шкурки клеточного песца с международным стандартом только по оценке размера будет явно недостаточна. Скидки и допуски в значительной мере не соответствуют друг другу. Все это послужило серьезным основанием для пересмотра систем скидок и допусков. Корректировка обеспечила соответствие величины скидок за дефекты на шкурках с величиной этих дефектов, что повысило научную

обоснованность требований стандарта и тем самым объективность при оценке качества шкурок пушных зверей.

Из выше сказанного ясно, что в отрасли назрела необходимость решения данной проблемы, так как применение на практике различных стандартов при оценке качества шкурок песца вносит неразбериху и не позволяет объективно проводить сравнительную оценку качества пушнины, дезориентирует специалистов отрасли.

Срок действия ГОСТ 7907 – 78 «Шкурки песца голубого невыделанные. Технические условия» [1], разработанного еще в советские годы, закончился в 1995 г., и до настоящего времени сортировку шкурок песца в зверохозяйствах осуществляли в соответствии с ним (устаревшим) или по инструкции ООО «АК «Союзпушнина». Такая ситуация не позволяла объективно проводить сравнительную оценку качества пушнины, дезориентировала специалистов отрасли.

В стандарте 1978 г. налицо не соответствие между допусками по порокам (так называли дефекты) и скидками от стоимости шкурки по этим группам пороков. Например, стандартом предусмотрены следующие допуски на такие пороки как дыры, сваянность, сеченность волосяного покрова, вытертые места: для 2 группы пороков – до 20,0 см<sup>2</sup> включительно, для 3 группы – 20,1 – 40,0 см<sup>2</sup>, для 4 группы – 40,1 – 80,0 см<sup>2</sup>, что соответствует по группам 1,2; 2,4; 4,8% от площади шкурки. В то же время, скидки по этим группам составляют 10; 25; 50% от стоимости и соответствуют площади в 165 см<sup>2</sup>, 491 см<sup>2</sup> и 625 см<sup>2</sup>.

Однако стоимость шкурки зависит не только от ее размера, но и от сортности, цвета, густоты волосяного покрова и наличия тех или иных дефектов. Величина скидок с зачетной стоимости шкурки связана и с отсутствием не существенных частей шкурки и в ГОСТе 7907 – 78 явно завышена. Все это служило серьезным основанием для пересмотра систем скидок при пересмотре устаревшего стандарта. Корректировка скидок за дефекты обеспечила соответствие их величины на несущественных частях шкурки или на отсутствие частей шкурки. Это повысило обоснованность требований стандарта, и тем самым, его объективность при оценке качества шкурок песца клеточного разведения.

За последние тридцать лет в первичной обработке шкурок пушных зверей произошли разительные перемены: созданы автоматизированные (с программным обеспечением) линии по убою и

первичной обработке шкурок, за рубежом широко используется сушка шкурок волосом наружу.

Технология первичной обработки шкурок стала более совершенной. Размер правилки стал недостаточен для правки и сушки особо крупных шкурок. Кроме того, в соответствии с ГОСТ 7907 – 78 длину шкурок измеряли от междуглазья до корня хвоста, в то время как на зарубежных пушных аукционах пресно-сухие шкурки измеряют от кончика носа до корня хвоста. К тому же допуски, особенно в интервалах по длине между размерными категориями шкурок и в измерении их длины, существенно разнятся. В ГОСТ 7907-78 предусмотрена устаревшая в настоящее время технология правки и сушки шкурок мездрой наружу. В результате отечественные производители теряли в площади шкурок и затрачивали время и средства на дополнительные операции при первичной обработке пушнины.

Исследования по сравнительной оценке способов сушки шкурок, проведенные в НИИПЗК, показали, что сушка шкурок волосом наружу в сравнении со способом сушки мездрой наружу не только сокращает количество операций по первичной обработке шкурок, но и позволяет получить дополнительную площадь на 1 шкурку в размере 0,8- 1,4 дм<sup>2</sup>. Внедрение в практику нормативов стандарта позволит не только значительно увеличить производительность труда, снизить затраты материалов, электроэнергии, но и повысить рентабельность.

Задачами при разработке стандарта являлись:

- установление единых требований к оценке качества шкурок песца клеточного разведения, в том числе по сортам, размерам, дефектам и цветам;
- изменение требований к первичной обработке, в частности, введение в стандарт «сушки шкурок волосом наружу»;
- установление требований к методам контроля и маркировки;
- переход на международный стандарт оценки длины и размера шкурок песца, консервированных волосом наружу;
- уточнение требований к дефектам;
- соблюдение требований по безопасности шкурок песца для жизни, здоровья и охраны окружающей среды.

В процессе работы над проектом стандарта было проведено расширенное совещание Технического комитета «Пушное звероводство и кро-

лиководство» ФГБНУ НИИПЗК с участием представителей всех заинтересованных сторон, на котором были рассмотрены и приняты решения по поступившим замечаниям и предложениям, а именно следующее:

- предусмотреть в стандарте сушку шкурок песка, как мездрой, так и волосом наружу;
- оставить в стандарте при правке шкурок мездрой наружу параметры правилок в редакции ГОСТ 7907 –78;
- использовать при сушке шкурок волосом наружу правилки скандинавской конструкции;
- ввести в стандарт параметры международной размерной градации для оценки размера шкурок;
- при правке шкурок мездрой наружу длину шкурок измерять от середины междуглазья до корня хвоста;
- при правке и сушке шкурок волосом наружу их длину измерять от кончика носа до основания хвоста;
- скидку с зачетной стоимости шкурки по дефектам установить для 1 группы дефектов – 0%, для 2 – 10%, для 3 – 25%, для 4 – 50%;
- установить скидку с зачетной стоимости шкурки: за отсутствие двух и более лап в размере – 1%, за неправильный разрез по огузку, желтизну на огузке, плохо обезжиренные, загрязненные – 2%.

**Основные положения ГОСТ Р 57171-2016 «ШКУРКИ ПЕСЦА ГОЛУБОГО НЕВЫДЕЛАННЫЕ. ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ»**

Шкурки оправляют на правилках А мездрой наружу, на правилке Би – волосом наружу (рисунок).

Редакция стандарта на шкурки песка клеточного разведения 2016 года [2] по построению, изложению, оформлению, обозначению и содержанию соответствует требованиям:

– ГОСТ 1.5-2001 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Общие требования к построению, изложению, оформлению, содержанию и обозначению» [3];

– ГОСТ 1.0-2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» [4];

– ГОСТ 1.2-2015 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены» [5];

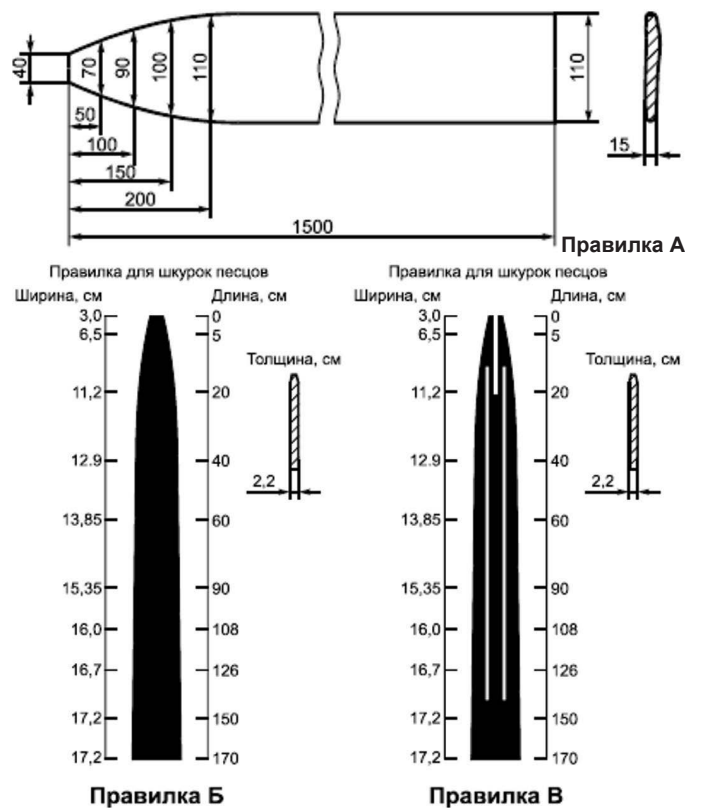
– ГОСТ 7907 – 78 «Шкурки песка клеточного разведения невыделанные. Технические условия» [1];

– Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки» [6];

– Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 017/2011 «О безопасности продукции легкой промышленности» [7].

Стандарт содержит следующие разделы: область применения; нормативные ссылки; термины и определения; технические требования; правила приемки; методы контроля; обработка результатов; транспортирование и хранение; приложения А, Б и В.

В стандарте установлены требования к сырью, первичной обработке шкурок, регламентированы допуски по цветовым характеристикам волосяного покрова шкурок песцов, требования к дефектам волосяного покрова и кожевой ткани



**Рисунок.** Правилки для правки шкурок песка мездрой (А) и волосом (Б, В) наружу  
**Figure.** Frames for straightening arctic fox skins with a mezdra (A) and a hair (Б, В) out

для различных групп качества, а также градации по размерным категориям.

Раздел «Технические требования» устанавливает требования к качеству волосяного покрова, к съёмке, правке и сушке шкур как мездрой, так и волосом наружу, к размеру шкур, регламентирует допуски к цветам шкур, к чистоте окраски волосяного покрова, к сортам шкур, к группам дефектов, описывает требования к маркировке и упаковке шкур.

В зависимости от длины и ширины, шкуру, оправленную на правилке А, относят к размеру в соответствии с требованиями, указанными в таблице 1, а оправленную на правилке Б или В – с требованиями, указанными в таблице 2.

При оценке по аналогии с европейской системой сортировки (табл. 2) введены категории размеров от 40 до 60. Интервал длины между размерами равен 9 см, интервал внутри размера составляет 8,9 см.

Для шкур, высушенных волосом наружу, впервые введено определение длины от кончика носа до основания хвоста.

В зависимости от состояния волосяного по-

крова и кожной ткани шкурки песца подразделяют на два сорта: 1-й и 2-й.

В стандарте перечислены дефекты шкур, единицы их измерения, размеры дефектов по группам, а также указаны допустимые их размеры.

Допуски по дефектам в группах взяты в основном из ГОСТа 1978 г. Смягчены скидки с зачетной стоимости шкурки: за отсутствие двух и более лап – 1%, за неправильный разрез по огузку, желтизну на огузке, плохо обезжиренные, загрязненные – 2%.

В разделе «Методы контроля» введена оценка длины шкур, законсервированных волосом наружу, от кончика носа до основания хвоста. Остальные параметры взяты из стандарта 1978 г.

Зачетную стоимость шкурки вычисляют в процентах методом последовательных скидок или добавок к зачетной стоимости шкурки (головки), оправленной на правилке А, размера 2, цвета 2, сорта 1, первой группы дефектов в соответствии с таблицей Б.1 (приложение Б) стандарта, и оправленной на правилке Б или В, размера 3, цвета 2, сорта 1, первой группы дефектов

**Таблица 1. Размеры шкур песца при сушке мездрой наружу**  
**Table 1. The size of the skins when drying with a mezdra outside**

Размер/ Size	Длина шкурки, см/ Skin length, cm	Ширина шкурки, см/ Skin width, cm
1	От 80 и более	Не менее 12,5
2	От 50 до 79,9	Не менее 12,5

**Таблица 2. Размеры шкур песца при сушке волосом наружу**  
**Table 2. The size of the skins with the hair out**

Размер/ Size	Длина шкурки, см/ Skin length, cm	Ширина шкурки, см/ Skin width, cm
60	Более 142	Не менее 17,0
50	133-142	
40	124-133	
30	115-124	
20	106-115	
0	97-106	
1	88-97	
2	79-88	
3	Менее 79	

в соответствии с таблицей В.1 (приложение В) стандарта.

Зачетную стоимость партии шкурок, состоящей из шкурок разных размеров, сортов, цветов, групп дефектов, определяют количеством головок, соответствующих каждой качественной группе шкурок, а затем суммируют количество головок по всем качественным группам шкурок данной партии.

Определение зачетной стоимости шкурки, оправленной на правилке А, приведено в стандарте в таблице Б.1 (приложение Б), на правилке Б или В – в таблице В.1 (приложение В).

Шкурки упаковывают в соответствии с требованиями ГОСТ 12266-89. В бунты подбирают шкурки одного размера, сорта, цвета, группы дефектов и располагают их черевами в одну сторону. Шкурки упаковывают связанными в бунты, на каждый из которых прикрепляют этикетку. Бунты укладывают ровными рядами. Каждый очередной ряд выкладывают головами в противоположную сторону. Запрещается упаковывать вместе обезжиренные шкурки и шкурки с зажиренным волосным покровом. Шкурки принимают партиями. Партией считается любое количество шкурок, указанные в сопроводительном документе (упаковочном листе, оформленном по ГОСТ 12266-89).

При этом выполняют операции в следующей последовательности: цветовой тип; размер; группа цвета; сорт с учетом развития волосного покрова и кожной ткани; группа дефектов по состоянию волосного и кожного покрова. Если шкурка (шкурки) по качеству не соответствует описанию в заявленном сортировочном листе, то ее (их) переоценивают.

Стандарт взаимосвязан со следующими документами: ГОСТ Р 51474 – 2009 «Упаковка. Маркировка, указывающая на способ обращения с грузами»; ГОСТ Р 14192 – 1996 «Маркировка грузов»; ГОСТ 12268 – 89 «Сырье пушно-меховое. Упаковка, маркировка, транспортирование и хранение»; ГОСТ 18567– 73 «Сельское хозяйство. Термины и определения».

Внедрение нового стандарта на шкурки песца способствует повышению качества производимой продукции на основе полной и точной оценки ее товарных свойств и делает его идентичным международным требованиям по основным категориям оценки шкурок.

## Список литературы

1. ГОСТ 7907 – 1978. Шкурки песца голубого невыделанные. Технические условия [Текст]. – Взамен ГОСТ 7907 – 69; введ. 1979-07-01. – Москва: Государственный комитет СССР по стандартам; Москва: Изд-во стандартов, 1979. – 6 с.
2. ГОСТ Р 57171 – 2016. Шкурки песца голубого невыделанные. Технические условия [Текст]. – Введен впервые; введ. 2016-19-10. – Москва: Федеральное агентство по техническому регулированию и метрологии; Москва: Изд-во ФГУП «Стандартинформ», 2016. – 11 с.
3. ГОСТ 1.5 – 2001 Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Общие требования к построению, изложению, оформлению, содержанию и обозначению [Текст]. – Взамен ГОСТ 1.5-93; введ. 2002-09-01. – Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации (МГС); Москва: Изд-во ИПК Издательство стандартов; Стандартинформ, 2002. – 13 с.
4. ГОСТ 1.0 – ГОСТ 1.2-2015 Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены [Текст]. – Взамен ГОСТ 1.2-2009; введ. 2016-07-01. – Москва: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации (МГС); Москва: Изд-во ФГУП «Стандартинформ», 2016. – 15 с.
5. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки». – Изд. официальное. – 2011. – 35 с.
6. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 017/2011 «О безопасности продукции легкой промышленности» – Изд. официальное. – 2011. – 44 с.

## Информация об авторах:

**Тинаев Николай Иосифович** – доктор биологических наук, научный консультант ФГБНУ НИИПЗК, SPIN-код: 5762-0894; AuthorID: 626636, e-mail: tinaevn@mail.ru

**Шумилина Анна Рудольфовна** – кандидат биологических наук, заместитель директора по научной работе ФГБНУ НИИПЗК, SPIN-код: 3588-4841; AuthorID: 621252; ORCID: 0000-0003-1961-8428, e-mail: arshumilina@mail.ru

## THE HIGHLIGHTS OF THE NATIONAL STANDARD GOST R 57171 – 2016 «UNDRESSED BLUE FOX SKINS. SPECIFICATIONS»

*Review of GOST R 57171 – 2016 «Undressed blue fox skins. Specifications»*

**N.I. Tinaev, A.R. Shumilina\***

*Federal State Budget Scientific Institute «Scientific Research Institute of Fur – Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V.A. Afanas`ev»*

*140143, Russia, pos. Rodniki, Ramenskii r-n, Moskovskaya oblast 6, ul. Trudovaya*

*\*e-mail: arshumilina@mail.ru*

Increasing the quantity and improving the quality of pelt production is an urgent direction to improve the efficiency of fur farming. The national system of standardization (technical regulation) of the industry is one of the reliable and highly effective mechanisms for increasing the volume of pelts production in Russia, contributing to the profitability of domestic caged fox breeding. The previously approved national standard GOST R 7907 – 78 «Undressed skins of blue fox. Specifications» provides an outdated technology of dressing and drying pelts fur outward, while the most effective dressing and drying pelts should be hair outward. As a result, domestic producers lost in the area of pelts and spent time and money on additional operations in the primary processing of furs. The previous National Standard does not meet modern requirements in many aspects and is some kind of a brake in increasing the quantity and improving the quality of fur products. At the request of the Federal Agency on Technical Regulating and Metrology of the Russian Federation, the Technical Committee «Fur farming and rabbit breeding» based at Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V. A. Afanas`ev in 2016 developed the national standard GOST R 57171 – 2016 «Undressed blue fox skins. Specifications» (hereinafter the standard) to replace the previous one. This standard applies to undressed caged fox pelts bred in fur farms and intended for the production of dressed pelts and products from them. The standard establishes requirements for raw materials, primary processing of pelts, regulates tolerances for color characteristics of the hair of fox pelts, defects in the hair and skin tissue for various quality groups, allows dressing and drying pelts with hair outward using rules of new design, introduces a new size scale for such pelts with a large range of size categories when measuring their length from the tip of the nose to the tail base area.

**Key words:** arctic fox, pelt, hair color, grade, size, defects, rules, skin quality credit, regulatory references.

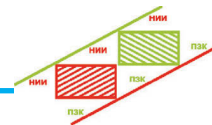
### References

1. GOST 7907 – 1978. Undressed skins of blue fox. Specifications [Text]. – Instead of GOST 7907 – 69; introduction. 1979-07-01. – Moscow: USSR State Committee on Standards; Moscow: Publishing House of Standards, 1979. – 6 p.
2. GOST R 57171 – 2016. Undressed blue fox skins. Specifications [Text]. – Introduced for the first time; introduced. 2016-19-10. – Moscow: Federal Agency for Technical Regulation and Metrology; Moscow: Publishing House of FSUE «Standartinform», 2016. – 11 p.
3. GOST 1.5 – 2001. Interstate System for Standardization. Interstate standards, rules and recommendations on interstate standardization. General requirements for structure, drafting, presentation, content and indication [Text]. – Instead of GOST 1.5-93; introduction. 2002-09-01. – Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification (MGS); Moscow: Publishing House of IPK Publishing House of Standards; Standartinform, 2002. – 13 p.
4. GOST 1.0 – 2015. Interstate system for standardization. Basic principles [Text]. – Instead of GOST 0.1-92; introduced. 2016-07-01. – Moscow: Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification (MGS); Moscow: Publishing House of FSUE «Standartinform», 2016. – 8 p.
5. GOST 1.2-2015. Interstate system for standardization. Interstate standards, rules and recommendations on interstate standardization. Rules for development, taking over, renovation and cancellation [Text]. – Instead of GOST 1.2-2009; introduction. 2016-07-01. – Moscow: Interstate Council for Standardization, Metrology and Certification (MGS); Moscow: Publishing House of FSUE «Standartinform», 2016. – 15 p.
6. Technical Regulations of the Customs Union TR CU 005/2011 «On packaging safety». – Official edition. – 2011. – 35 p.
7. Technical Regulations of the Customs Union TR CU 017/2011 «On the safety of light industry products» – Official edition. – 2011. – 44 p.

### Information about the authors:

**Tinaev Nikolay Iosifovich** – doctor of biological sciences, scientific consultant of the Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V. A. Afanas`ev, SPIN-код: 5762-0894; AuthorID: 626636, e-mail: tinaevn@mail.ru

**Shumilina Anna Rudolfovna** – candidate of biological sciences, Deputy Director for Science of the Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V. A. Afanas`ev, SPIN-cod: 3588-4841; AuthorID: 621252; ORCID: 0000-0003-1961-8428, e-mail: arshumilina@mail.ru



## ВНУТРИВИДОВАЯ ДИФФЕРЕНЦИАЦИЯ ДОМАШНЕГО КРОЛИКА (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ IRAP-PCR

*Полилокусное генотипирование пород кроликов методом IRAP-PCR*

**Е.С. Колесник\*, В.И. Глазко, Т.Т. Глазко, Г.Ю. Косовский**

*ФГБНУ «Научно – исследовательский институт пушиного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»*

*Россия, 140143, Московская обл., Раменский район, пос. Родники, ул. Трудовая, д. 6.*

*\*e-mail: niipzk@mail.ru*

Современная селекционная работа с животными сельскохозяйственных видов идет по направлению интенсификации получения новых форм, в частности создания новых пород и синтетических кроссов, что требует разработки методов выявления «генофондного стандарта» породы на основе наиболее полиморфных геномных участков. Целью исследования было произвести анализ геномов отечественных пород кроликов и кросса Родник с использованием праймеров, которые могут быть связаны с образованием вторичных структур ДНК, G4 квадруплексов. Так, рассмотрен полиморфизм геномных участков, гомологичных фрагментам длинных концевых повторов 7 ретротранспозонов (Sabrina111, Sabrina 1336, Bare 123A, LTR IR, Sabrina, GlossyL, LTR OR2) и ДНК-транспозона Helitron, у трех пород кроликов (советская шиншилла, калифорнийская и белый великан), а также полученного на их основе нового синтетического трехпородного кросса Родник методом полилокусного генотипирования (всего исследованы 100 самцов и 100 самок). Праймер Sabrina имеет высокий показатель полиморфизма – полиморфное информационное содержание (PIC) (0,4125 в среднем). Так у синтетического кросса самые высокие показатели доли полиморфных локусов (ДПЛ) были среди праймеров Sabrina и LTR IR и равнялось 87,5%, так же как у белого великана и советской шиншиллы, при этом у калифорнийской породы выделялись Sabrina- 87,5% и Sabrina 1336- 71,42%, однако по показателю PIC полиморфизм выше у праймера Helitron – 0,495. Получены данные, свидетельствующие о том, что праймеры с потенциальной предрасположенностью к образованию G4 квадруплексов, выявляют повышенный полиморфизм у всех исследуемых пород кроликов, тем самым предполагая повышенную информативность подобных маркеров в генотипировании сельскохозяйственных видов животных.

**Ключевые слова:** ретротранспозоны, полиморфизм, G-квадруплексы, кролики, кросс.

Современное кролиководство идет по направлению интенсификации производства, в связи с чем необходима разработка методов управления генетическими ресурсами с целью сохранения имеющегося генофонда пород кроликов. Полилокусное генотипирование с использованием высокополиморфных участков ДНК фланкированных инвертированными повторами ретротранспозонов (IRAP Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) уже давно получило широкое распространение в популяционной генетике, наряду с микросателлитными маркерами, для выявления видо- и породоспецифичных особенностей сельскохозяйственных видов животных.

Мобильные генетические элементы (МГЭ) занимают примерно половину генома млекопитающих и, как полагают, играют ключевую роль в эволюции генома, хотя их распределение у кролика остается неясным [1]. Геном кролика

был впервые секвенирован и собран (Orycup 2.0, 2,66 Гб) в 2014 г. Гены, кодирующие белки (20 318) и днРНК (длинные некодирующие РНК) (14 165) были четко определены и аннотированы, при этом информации о их роли и влиянии в пороодообразовании малоизучена [2]. Накоплены экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что транспозиции и/или рекомбинации МГЭ в геномах ассоциированы с формированием таких вторичных структур ДНК, как G4 квадруплексы [3].

Одной из наиболее активно изучаемых неканонических форм ДНК являются четырехспиральные G-богатые структуры – G-квадруплексы (G4). Известно, что G4 квадруплексы играют важную роль в регуляции ключевых клеточных процессов [4,5], таких как репликация [6,7], защита хромосомных концов [8], транскрипция [9], мутагенез [10], репарация геномных повреждений

[11], рекомбинация ДНК [12] и эпигенетические процессы [13,14], а также посттранскрипционные события: трансляция [15], сплайсинг РНК, альтернативное полиаденилирование мРНК [16]. Нуклеотидная последовательность, способная сложиться внутримолекулярно в G-квадруплекс, обычно содержит недалеко расположенные друг от друга от 2 до 5 идущих подряд остатков гуанина.

Целью данной работы было сравнить различные праймеры мобильных генетических элементов, нуклеотидная последовательность которых может быть связана с образованием неканоничных структур ДНК в геноме домашнего кролика, для выявления наиболее информативных ДНК маркеров для контроля генетических структур и их динамики при создании новых пород и кроссов кроликов.

### Материалы и методы исследований

Исследования выполнены в отделе биотехнологии Научно-исследовательского института пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева на 200 головах (по 25 самок и 25 самцов каждой базисной породы кроликов и кросса) кроликов трех пород: советская шиншилла, белый великан, калифорнийская и кросса Родник [17], полученного на основе перечисленных пород [18].

Выполнен забор крови в пробирки с ЭДТА. Экстрагирование ДНК проводили с помощью набора ДНК-М-Сорб («Синтол», Россия) следуя инструкции от производителя. С полученными образцами ДНК проводили полимеразно-цепную реакцию (PCR) в амплификаторе Swift Maxi (Esco, Сингапур) с использованием наборов ПЦР-РВ («Синтол», Россия), а также ретротранспозонов в качестве маркеров. В качестве праймеров в PCR использовали IRAP-маркеры:

- Sabrina111 (AAA CAA GAA CTG ACA CTT GGC ACT) [19],
- Sabrina 1336 (TCA TGG CGT TGG GA GCAA GC) [19],
- Vare 123A (CCC TCT CGT AGA TGG ACA TCA CC) [20],
- LTR IR (GCA TCT CGT CAT GTT GCA AGA ATG G) [21],
- Sabrina (GGT CGG GCT GCC GTG GAA) [20],
- GlossyL (ATA TCT TGT GCA TCG GGA TTC C) [22],
- LTR OR2 (GCA GCC TGG GAT AGC AAG GAT GG) [21],

- ДНК маркер Helitron (GCA ACG CGT GGC CGG) [23].

С готовой ПЦР-смесью (20мкл) проводили амплификацию по программе: 2 мин. при 95 °С; 40 циклов – 20 сек. при 94 °С, 20 сек. при 55 °С, 2 мин. при 72 °С; 2 мин. при 72 °С. Фракционирование продуктов амплификации проводили в 1,5% агарозном геле в 1X TAE буфере при постоянном напряжении 100В и силе тока 100А в течение 60-90 минут. Гель фотографировали и анализировали под ультрафиолетовыми лучами в системе фотогельдокументации Quantum-ST4 (Vilber Lourmat, Франция).

Статистический анализ выполнен с использованием программ PopGene [24], TreeCon [25] и DarWin [26] по следующим параметрам: PIC (Polymorphic Information Content-полиморфное информационное содержание) [27], доля полиморфных локусов [28], индекс разнообразия Шеннона [29], генетические дистанции по Нею [30], Эффективное мультиплексное отношение (Effective Multiplex Ratio, EMR) [31] и Маркерный индекс (Marker Index, MI) [31].

Частота встречаемости участков гомологии к нуклеотидным последовательностям праймеров в референтных геномах домашнего кролика (*Oryctolagus cuniculus* (GCF\_000003625.3)) и дикого зайца (*Lepus* (GCA\_004026855.1)), представленных в GenBank NCBI, проанализирована с помощью алгоритмов BLASTn [32].

### Результаты исследований и обсуждение

В целях сравнения распределения участков гомологии к фрагментам 8 ретротранспозонов выполнен анализ частоты встречаемости соответствующих участков в референтном геноме домашнего кролика (*Oryctolagus cuniculus*) и дикого зайца (*Lepus*), представленного в GenBank NCBI с использованием алгоритмов BLASTn.

Полученные данные свидетельствуют о том, что наибольшая частота встречаемости гомологичных участков к праймерам в референтном геноме домашнего кролика обнаруживается для фрагмента LTR OR2 и групп праймеров Sabrina (Sabrina111 и Sabrina) и наименьшая – для LTR IR (табл.1).

В целом, у дикого зайца частота встречаемости тех же исследуемых праймеров значительно ниже, чем у домашнего кролика, однако наибольшие значения и у дикого зайца, и у домашнего кролика наблюдаются у одних и тех же праймеров – LTR OR2 (2307 и 4999 соответствен-



**Таблица 1. Частота встречаемости нуклеотидных последовательностей праймеров в референтном геноме домашнего кролика и дикого зайца, представленного в GenBank NCBI, гомологичных к участкам длинных концевых повторов эндогенных ретровирусов и ДНК-транспозона Helitron**

**Table 1. Frequency of nucleotide primer sequences in the reference genome of domestic rabbit and wild rabbit, represented in the NCBI GenBank, homologous to the long terminal repeats of endogenous retroviruses and DNA-transposon Helitron**

<b>Праймер/ Primer</b>	<b>Частота встречаемости в референтном геноме домашнего кролика/ Frequency of occurrence in the reference genome of the domestic rabbit</b>	<b>Частота встречаемости в референтном геноме дикого зайца/ Frequency of occurrence in the reference genome of the wild hare</b>
Sabrina111	4610	3177
Sabrina 1336	2252	437
Sabrina	3367	1780
Helitron	3985	1426
LTR IR	775	1127
LTR OR2	4999	2307
Bare123A	2792	815
GlossyL	1829	1587

но), Sabrina111 (3177 и 4610 соответственно) и Sabrina (1780 и 3367 соответственно). Полученные данные позволяют предполагать, что частота встречаемости последовательностей в референтном геноме домашнего кролика, которые в дальнейшем могут использоваться как праймеры для полилокусного генотипирования кроликов, в определенной степени ассоциированы с их полиморфизмом: чем больше частота встречаемости, тем больше полиморфных фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами указанных выше праймеров, в процессе амплификации предполагается получить.

В нуклеотидной последовательности используемых нами синтетических олигонуклеотидов обнаружены повторы гуанинов (табл. 2).

При сравнении данных, представленных в таблицах 1 и 2, следует обратить внимание, что маркеры Sabrina и LTR OR2 имеют по 3 области, предрасположенные к образованию G4 квадруплексов, при этом они же имеют наибольшую частоту встречаемости по гомологии в референтном геноме домашнего кролика, из чего можно предположить, что именно эти маркеры будут наиболее информативными в полилокусном генотипировании пород кроликов.

Для получения ответа на этот вопрос выполнен сравнительный анализ генетических структур трех пород кроликов и синтетического кросса на основании оценки полиморфизма суммарно 57 фрагментов ДНК различной длины, полученных в спектрах продуктов амплификации с использованием в качестве праймеров участков мобильных генетических элементов Sabrina111, Sabrina 1336, Sabrina, Helitron, LTR IR, LTR OR2, Bare123A и GlossyL.

Наивысший полиморфизм и показатели эффективного мультиплексного соотношения (EMR) и маркерного индекса (MI) у синтетического кросса Родник из представленных молекулярно-генетических маркеров, был обнаружен в спектрах праймеров Sabrina 111, Sabrina, LTR IR и LTR OR2. Из таблицы 3 и 4 можно выделить праймер с наивысшими показателями полиморфизма у всех исследованных пород кроликов – Sabrina, который, предположительно, является наиболее эффективным маркером внутривидовой дифференциации кроликов. Такие высокие показатели полиморфизма у молекулярного маркера Sabrina могут быть связаны с предрасположенностью к формированию вторичных структур ДНК (G4 квадруплексы, табл.2).

**Таблица 2. Повторы гуанинов, которые могут быть предрасположены к образованию G4 квадруплексов (выделены красным), присутствующие в нуклеотидной последовательности используемых праймеров**  
**Table 2. Guanine repeats that may predispose to form G4 quadruplexes (highlighted in red) present in the nucleotide sequence of the primers used**

Название праймера/ Primer name	Нуклеотидная последовательность/ Nucleotide sequence
Sabrina111	AAACAAGAACTGACACTT <b>GG</b> CACT
Sabrina 1336	TCAT <b>GG</b> CGTT <b>GGG</b> AGCAAGC
Bare 123A	CCCTCTCGTAGAT <b>GG</b> ACATCACC
LTR IR	GCATCTCGTCATGTTGCAAGAAT <b>GG</b>
Sabrina	<b>GGTCGGG</b> CTGCCGT <b>GGAA</b>
GlossyL	ATATCTTGTGCATC <b>GGG</b> ATTCC
LTR OR2	GCAGCCT <b>GGG</b> ATAGCAAG <b>GGATGG</b>
Helitron	GCAACGCGT <b>GGCCGG</b>

**Таблица 3. Показатели полиморфного информационного содержания (PIC) и доли полиморфных локусов (ДПЛ) между различными IRAP праймерами и исследованными породами кроликов**

**Table 3. Polymorphic information content (PIC) and the proportion of polymorphic loci (PPL) between different IRAP primers and rabbit breeds studied**

Праймер/ Primers	Калифорнийская/ Californian		Советская шиншилла/ Soviet chinchilla		Белый великан/ White giant		Синтетический кросс Родник/ Synthetic three-breed cross Rodnik		Индекс Шеннона/ Shannon Index
	ДПЛ, %/ PPL,%	PIC	ДПЛ, %/ PPL,%	PIC	ДПЛ, %/ PPL,%	PIC	ДПЛ, %/ PPL,%	PIC	
Ср.знач. middle value	58,57%	0,399	57,63%	0,379	63,53%	0,377	61,43%	0,344	
Sabrina 111	57,14	0,390	50	0,376	62,55	0,392	62,5	<b>0,382</b>	1,385
Sabrina 1336	71,42	0,457	42,85	0,464	50	0,425	33,3	0,341	1,383
Bare 123A	75	0,372	75	0,440	75	0,475	75	0,347	1,386
Helitron	20	0,495	20	0,273	16,60	0,188	16,60	0,188	1,382
LTR IR	57,5	0,346	87,5	0,446	87,5	0,428	87,5	<b>0,392</b>	1,386
Sabrina	87,5	0,453	85,71	0,430	87,5	0,381	87,5	<b>0,386</b>	1,376
Glossy L	50	0,372	50	0,292	62,5	0,364	62,5	0,339	1,376
LTR OR2	50	0,309	50	0,314	66,6	0,367	66,6	<b>0,384</b>	1,384

**Таблица 4. Показатели эффективного мультиплексного соотношения (EMR) и мультиплексный маркерный индекс (MI) между различными IRAP праймерами и породами кроликов**  
**Table 4. Effective multiplex ratio (EMR) and multiplex marker index (MI) scores between different IRAP primers and rabbit breeds**

Праймер/ Primers	Калифорнийская/ Californian		Советская шиншилла/ Soviet chinchilla		Белый великан/ White giant		Синтетический кросс Родник/ Synthetic three-breed cross Rodnik	
	EMR	MI	EMR	MI	EMR	MI	EMR	MI
Sabrina 111	2,285	0,893	2,00	0,753	3,125	1,227	<b>3,125</b>	<b>1,194</b>
Sabrina 1336	3,571	1,633	1,285	0,596	1,500	0,680	0,666	0,225
Bare 123A	2,250	0,931	2,250	0,992	2,250	1,068	2,250	0,780
Helitron	0,200	0,099	0,200	0,054	0,166	0,031	0,166	0,031
LTR IR	6,125	0,056	6,125	0,072	6,125	0,069	<b>6,125</b>	<b>0,064</b>
Sabrina	6,125	0,073	5,142	0,083	6,125	0,062	<b>6,125</b>	<b>0,063</b>
Gossy L	1,500	0,248	1,500	0,209	3,125	0,116	3,125	0,108
LTR OR2	1,500	0,206	1,500	0,209	2,666	0,137	<b>2,666</b>	<b>0,144</b>

На дендрограмме, построенной на основании генетических расстояний по М. Нею, рассчитанных на основании спектров фрагментов геномной ДНК, фланкированных Sabrina111, синтетический кросс (Cross) выделяется в отдельный кластер (рис. 1-А).

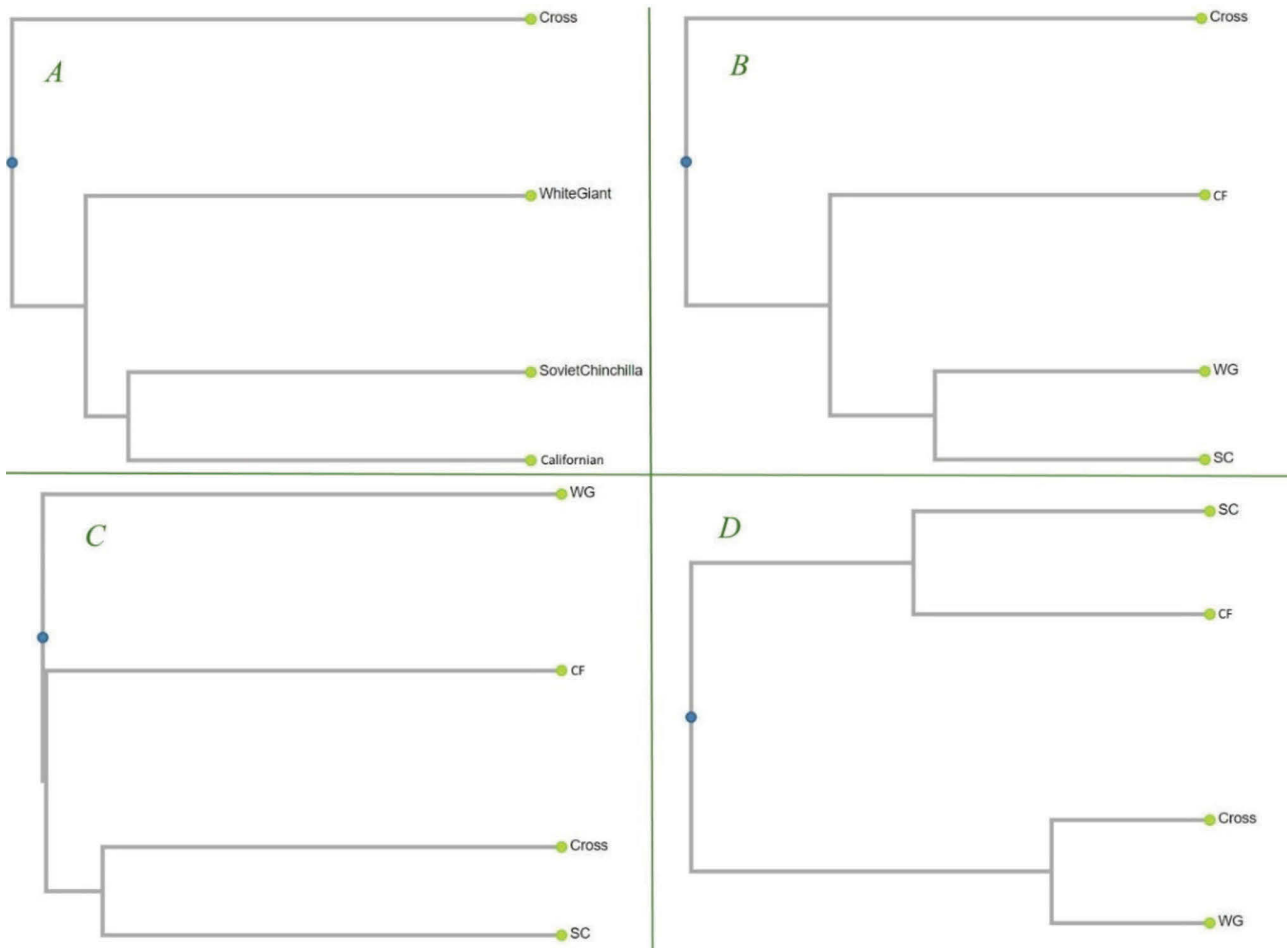
По результатам расчётов генетических расстояний при сравнении спектров фрагментов геномной ДНК, фланкированных ретротранспозоном LTR IR, построены дендрограммы. Выявлена схожая картина между двумя праймерами (LTR IR и Sabrina111) по генетическим дистанциям и кластерному анализу (рис. 1-В), где кросс Родник выделяется в отдельный кластер от пород, участвовавших в его образовании. Отличие от маркера Sabrina111 состоит в том, что следующую ветвь занимает порода калифорнийская, а не белый великан, несмотря на то, что максимальная генетическая дистанция наблюдается, также как и при праймере Sabrina111, между кроссом Родник и породой калифорнийская – 0,312, а минимальная между кроссом Родник и белым великаном.

Спектры праймеров Sabrina и Glossy L на дендрограмме выделяют синтетический кросс в

отдельный кластер вместе с советской шиншилой, а белого великана – совместно с калифорнийской породой кроликов (рис. 1-С), при этом генетическая дистанция между кроссом Родник и советской шиншилой имеют значительные различия, так, по праймеру Sabrina генетическая дистанция равна 0,554, а по праймеру Glossy L – 0,297.

Ретротранспозон Sabrina 1336 и ДНК-транспозон Helitron на дендрограмме выделяли кросс Родник совместно с породой кроликов белый великан (рис. 1-Д), при этом генетические дистанции между двумя группами кроликов минимальны и составляют 0,094 и 0,038 соответственно.

Bare 123A и LTR OR2 на дендрограмме образуют иную от остальных используемых маркеров кластеризацию, выделяя в отдельный кластер одну из базисных пород, участвовавших в создании кросса. Так, Bare 123A выделяет в отдельную группу породу калифорнийская (рис. 2-А), а LTR OR2 – белого великана (рис. 2-В). Максимальное генетическое расстояние по Нею между спектрами праймера Bare 123A было между породами кроликов: белый великан и калифорнийская (0,528) и советская шиншилла и калифорнийская



**Рисунок 1.** Кластерный анализ значений генетических дистанций между исследованными группами кроликов, рассчитанных на основании спектров фрагментов геномной ДНК, фланкированных Sabrina111 (A), LTR IR (B), Sabrina (C) и Sabrina 1336 (D), между породами кроликов калифорнийская – Californian (CF), советская шиншилла – SovietChinchilla (SC), белый великан – WhiteGiant (WG), синтетический кросс Родник – Cross

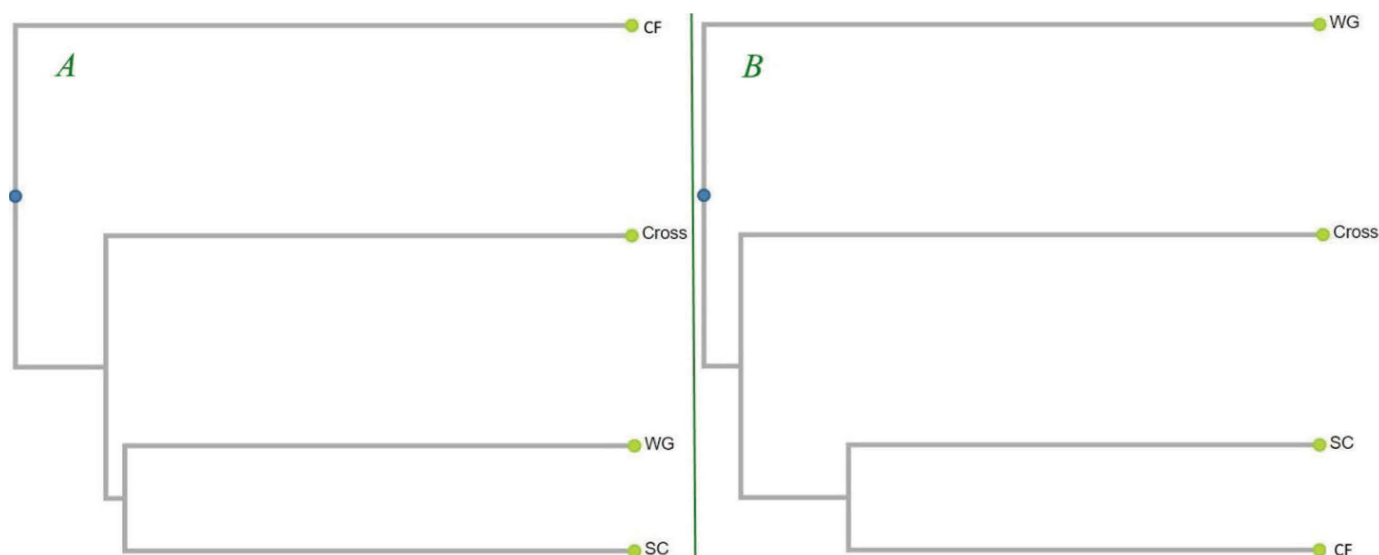
**Figure 1.** Cluster analysis of genetic distance values between the rabbit groups studied, calculated from the spectra of genomic DNA fragments flanked by Sabrina111 (A), LTR IR (B), Sabrina (C) and Sabrina 1336 (D) between the rabbit breeds Californian (CF), Soviet Chinchilla (SC), White Giant (WG) and synthetic cross Rodnik (Cross)

(0,424), а по спектрам праймера LTR OR2 – минимальное значение выявлено между породами калифорнийская и советская шиншилла – 0,281, а максимальное – у белого великана и калифорнийской – 0,375.

### Заключение

Успешность применения исследованных МГЭ для выявления популяционно-генетической дифференциации родительских пород и межпородного кросса обусловлена доказанным эволюционным влиянием ретротранспозонов [33]. Совместная кластеризация породы кроликов белый великан с синтетическим кроссом может быть ассоциирована с тем, что в его создании участвова-

ла эта порода непосредственно вместе с породой советская шиншилла, которую создавали также с участием белого великана. IRAP-PCR является эффективным, универсальным и недорогим методом, который может быть успешно применён для обнаружения полиморфных маркеров при межпородном сравнении, а дополнительное исследование по поиску гомологии на референтном геноме и изучение предрасположенности этих маркеров к образованию вторичных структур ДНК позволит лучше узнать о структуре и расположении используемых праймеров и потенциальном полиморфизме их спектров. Праймер Sabrina, спектры которого имеют повышенный полиморфизм среди всех исследуемых прайме-



**Рисунок 2.** Кластерный анализ значений генетических дистанций между исследованными группами кроликов, рассчитанных на основании спектров фрагментов геномной ДНК, фланкированных Bare 123A (A), LTR OR2 (B), где синтетический кросс Родник – Cross, белый великан – WG, советская шиншилла – SC и калифорнийская порода кроликов – CF

**Figure 2.** Cluster analysis of genetic distance values between the rabbit groups studied, calculated from Bare 123A flanked genomic DNA fragment spectra (A), LTR OR2 (B), where synthetic rabbit cross Rodnik – Cross, White Giant – WG, Soviet Chinchilla – SC and Californian rabbit breed – CF

ров у исследованных пород кроликов, можно использовать для выявления внутривидовой дифференциации, а его завышенные показатели PIC (0,4125 в среднем), вероятно, связаны с присутствием потенциальных G4 квадруплексов в его последовательности, которые могут быть предрасположены к образованию вторичных структур ДНК. По-видимому, именно такие ДНК-маркеры можно особенно эффективно использовать на разных породах, так как это позволит выявить различие генофондов пород и кроссов с высоким разрешением.

### Список литературы

1. Yang, Naisu et al. Distinct Retrotransposon Evolution Profile in the Genome of Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Genome biology and evolution* vol. 2021. V.13 Issue 8 evab168. DOI:10.1093/gbe/evab168.
2. Carneiro M, Ferrand N, Nachman MW. Recombination and speciation: loci near centromeres are more differentiated than loci near telomeres between subspecies of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Genetics* 2009. 181(2):593–606. DOI: 10.1534/genetics.108.096826.
3. Глазко В. И., Глазко Т. Т. Квадруплексы как источник геномной нестабильности // *Нанотехнологии и охрана здоровья*. 2013. Т. 5, № 1. С. 40–54.
4. Bochman, M.L., Paeschke, K., Zakian, V.A. DNA secondary structures: stability and function of G-quadruplex structures, *Nat. Rev. Genet.*, 2012. 13, 770–780. <https://doi.org/10.1038/nrg3296>.
5. Lipps, H.J., Rhodes, D. G-quadruplex structures: in vivo evidence and function, *Trends Cell Biol.*, 2009. 19, 414–422. DOI: 10.1016/j.tcb.2009.05.002.
6. Valton, A.L., Hassan-Zadeh, V., Lema, I., Boggetto, N., Alberti, P., Saintome, C., Riou, J.F., Prioleau, M.N. G4 motifs affect origin positioning and efficiency in two vertebrate replicators, *EMBO J.*, 2014. 33, 732–746. DOI: 10.1002/embj.201387506.
7. Foulk, M.S., Urban, J.M., Casella, C., Gerbi, S.A. Characterizing and controlling intrinsic biases of lambda exonuclease in nascent strand sequencing reveals phasing between nucleosomes and G-quadruplex motifs around a subset of human replication origins, *Genome Res.*, 2015. 25, 725–735. DOI: 10.1101/gr.183848.114.
8. Paeschke, K., Juranek, S., Simonsson, T., Hempel, A., Rhodes, D., Lipps, H.J. Telomerase recruitment by the telomere end binding protein beta facilitates G-quadruplex DNA unfolding in ciliates, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2008. 15, 598–604. DOI: 10.1038/nsmb.1422.
9. Balasubramanian, S., Hurley, L.H., Neidle, S. Targeting G-quadruplexes in gene promoters: a novel anticancer strategy?, *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2011. 10, 261–275. DOI: 10.1038/nrd3428.
10. Kruisselbrink, E., Guryev, V., Brouwer, K., Pontier, D.B., Cuppen, E., Tijsterman, M. Mutagenic capacity of endogenous G4 DNA underlies genome instability in FANCD1-defective *C. elegans*, *Curr. Biol.*, 2008. 18, 900–905. DOI: 10.1016/j.cub.2008.05.013.
11. Beaume, N., Pathak, R., Yadav, V.K., Kota, S., Misra, H.S., Gautam, H.K., Chowdhury, S. Genome-wide study predicts promoter-G4 DNA motifs regulate selective functions in bacteria: radioresistance of *D. radiodurans* involves

- G4 DNA-mediated regulation, *Nucleic Acids Res.*, 2013. 41, 76–89. DOI: 10.1093/nar/gks1071.
12. Cahoon, L.A., Seifert, H.S. An alternative DNA structure is necessary for pilin antigenic variation in *Neisseria gonorrhoeae*, *Science*, 2009. 325, 764–767. DOI: 10.1126/science.1175653.
  13. Tarsounas, M., Tijsterman, M. Genomes and G-quadruplexes: for better or for worse, *J. Mol. Biol.*, 2013. 425, 4782–4789. DOI: 10.1016/j.jmb.2013.09.026.
  14. Schiavone, D., Guilbaud, G., Murat, P., Papadopoulou, C., Sarkies, P., Prioleau, M.N., Balasubramanian, S., Sale, J.E. Determinants of G quadruplex-induced epigenetic instability in REV1-deficient cells, *EMBO J.*, 2014. 33, 2507–2520. DOI: 10.15252/embj.201488398.
  15. Beaudoin, J.D., Perreault, J.P. 5'-UTR G-quadruplex structures acting as translational repressors, *Nucleic Acids Res.*, 2010. 38, 7022–7036. DOI: 10.1093/nar/gkq557.
  16. Beaudoin, J.D., Perreault, J.P. Exploring mRNA 3'-UTR G-quadruplexes: evidence of roles in both alternative polyadenylation and mRNA shortening, *Nucleic Acids Res.*, 2013. 41, 5898–5911. DOI: 10.1093/nar/gkt265.
  17. Жвакина А.Р., Харламов К.В., Тинаев Н.И., Голованова Е.В. Создание отечественного мясного гибрида кроликов // Кролиководство и звероводство. 2017. №3. – С. 22-24.
  18. Патент на селекционное достижение №10245 Родник, зарегистрирован в Государственном реестре охраняемых селекционных достижений 24.04.2019г, Код 8153020. Патентообладатель: ФГБНУ НИИПЗК / Голованова Е.В., Косовский Г.Ю., Тинаев Н.И., Шумилина А.Р.
  19. Shirasu K., Schulman A.H., Lahaye T., Schulze-Lefert P. A contiguous 66-kb barley DNA sequence provides evidence for reversible genome expansion. *Genome Res.* 2000. 10(7):908-915. DOI: 10.1101/gr.10.7.908.
  20. Caldwell K.S., Langridge P., Powell W. Comparative sequence analysis of the region harboring the hardness locus in barley and its colinear region in rice. *Plant Physiol.* 2004. Oct;136(2):3177-90. DOI: 10.1104/pp.104.044081.
  21. Kalendar R., Vicient C.M., Peleg O., Anamthawat-Jonsson K., Bolshoy A., Schulman A.H. Large retrotransposon derivatives: abundant, conserved but nonautonomous retroelements of barley and related genomes. *Genetics*. 2004. Mar;166(3):1437-50. DOI: 10.1534/genetics.166.3.1437.
  22. Tacke E., Korfhage C., Michel D., Maddaloni M., Motto M., Lanzini S., Salamini F., Döring H.P. Transposon tagging of the maize Glossy2 locus with the transposable element En/Spm. *Plant J.* 1995. 8(6):907-17. DOI: 10.1046/j.1365-313x.1995.8060907.x.
  23. Babii A, Kovalchuk S, Glazko T, Kosovsky G, Glazko V. Helitrons and Retrotransposons Are Co-localized in *Bos Taurus* Genomes. *Curr Genomics*. 2017. Jun;18(3):278-286. DOI: 10.2174/1389202918666161108143909.
  24. Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T. (1999) POPGENE Version 1.32: Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetics Analysis. University of Alberta, Edmonton.
  25. Yves Van de Peer, Rupert De Wachter, TREECON: A software package for the construction and drawing of evolutionary trees, *Bioinformatics*, Volume 9, Issue 2, April 1993, Pages 177–182, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/9.2.177>.
  26. Perrier, X., Jacquemoud-Collet, J.P. (2006). DARwin software <https://darwin.cirad.fr/>
  27. Botstein D., White R.L., Skalnick M.H., Davies R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.*, 1980. 32: 314-331.
  28. Ayala, F. and Kiger Jr., J. *Modern genetics*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1984. V. 3. Inc. California, 335 p.
  29. Rozenberg G.S. Information index and diversity: Boltzmann, Kotelnikov, Shannon, Weaver ... Samarskaya Luka: problemy regional'noj i global'noj ekologii. 2010. T. 19, № 2. – С. 4-25.
  30. Nei M. The genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 1972. V. 106. P. 283–291.
  31. Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. The utility of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.*, 1996. 2: 225-238 DOI: 10.1007/BF00564200.
  32. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) “Basic local alignment search tool.” *J. Mol. Biol.* 215:403-410.
  33. Sotero-Caio C.G., Platt R.N. 2nd, Suh A., Ray D.A. Evolution and Diversity of Transposable Elements in Vertebrate Genomes. *Genome Biol Evol.* 2017. 9(1):161-177. DOI:10.1093/gbe/evw264.

### Информация об авторах:

**Колесник Елена Сергеевна** – младший научный сотрудник отдела биотехнологии лаборатории геномики, аспирант ФГБНУ НИИПЗК, SPIN-код: 3533-3806; AuthorID: 1050062; ORCID: 0000-0002-2465-7184; ScopusID: 57219537696, e-mail: elena.rainis.lis@yandex.ru

**Глазко Валерий Иванович** – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН (иностраный член), главный научный сотрудник ФГБНУ НИИПЗК, ORCID – 0000-0002-8566-8717, Author ID – 297850, e-mail: vigvalery@gmail.com.

**Глазко Татьяна Теодоровна** – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБНУ НИИПЗК, ORCID – 0000-0002-3879-6935, Author ID – 186988

**Косовский Глеб Юрьевич** – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, директор, ORCID – 0000-0003-3808-3086, Author ID – 353097, e-mail: niipzk@mail.ru

## INTRASPECIFIC DIFFERENTIATION OF THE DOMESTIC RABBIT (*ORYCTOLAGUS CUNICULUS*) USING IRAP-PCR

*Genotyping of rabbit breeds by IRAP-PCR*

**E.S. Kolesnik\*, V.I. Glazko, T.T. Glazko, G.Yu. Kosovsky**

*Afanas'ev Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding*

*6, ul. Trudovaya, pos. Rodniki, Ramenskii Region, Moscow Province, 140143 Russia*

*\*e-mail: niipzk@mail.ru*

Modern breeding work with animals of agricultural species is moving towards the intensification of the production of new forms, in particular the creation of new breeds and synthetic crosses. This requires the development of methods for identifying the “gene pool standard” of a breed, based on the most polymorphic genomic sites. The aim of the study was to analyze the genomes of domestic rabbit breeds and the Rodnik cross using primers that can be associated with the formation of G4 quadruplexes. Thus, we examined the polymorphism of genomic sites homologous to fragments of long terminal repeats of 7 retrotransposons (Sabrina111, Sabrina 1336, Bare 123A, LTR IR, Sabrina, GlossyL, LTR OR2) and DNA transposon Helitron in three rabbit breeds (Soviet Chinchilla, Californian and White Giant) as well as the new synthetic three-breed cross Rodnik by polylocus genotyping (100 bucks and 100 does were examined in total). The Sabrina primer has a high polymorphism score, polymorphic information content (PIC) (0,4125 on average). So in the synthetic cross, the highest PPL (the proportion of polymorphic loci) rates were among Sabrina and LTR IR primers and were 87,5%, as well as in the White Giant and the Soviet Chinchilla, while in the Californian breed stood out Sabrina – 87,5% and Sabrina 1336 – 71,42%, but by the PIC polymorphism rate was higher in the Helitron primer – 0,495. The data obtained indicate that primers with a potential predisposition to form G4 quadruplexes reveal an increased polymorphism in all rabbit breeds, thus suggesting an increased information content of such markers in genotyping of agricultural animal species.

**Keywords:** retrotransposons, polymorphism, G-quadruplexes, rabbits, cross.

### References

- Yang, Naisu et al. Distinct Retrotransposon Evolution Profile in the Genome of Rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Genome biology and evolution* vol. 2021. V.13 Issue 8 evab168. DOI:10.1093/gbe/evab168.
- Carneiro M, Ferrand N, Nachman MW. Recombination and speciation: loci near centromeres are more differentiated than loci near telomeres between subspecies of the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Genetics* 2009. 181(2):593–606. DOI: 10.1534/genetics.108.096826.
- Glazko V.I., Glazko T.T. Quadruplexes as a source of genomic instability // *Nanotechnology and Health Protection*. 2013. V. 5, № 1. С. 40–54.
- Bochman, M.L., Paeschke, K., Zakian, V.A. DNA secondary structures: stability and function of G-quadruplex structures, *Nat. Rev. Genet.*, 2012. 13, 770–780. <https://doi.org/10.1038/nrg3296>.
- Lipps, H.J., Rhodes, D. G-quadruplex structures: in vivo evidence and function, *Trends Cell Biol.*, 2009. 19, 414–422. DOI: 10.1016/j.tcb.2009.05.002.
- Valton, A.L., Hassan-Zadeh, V., Lema, I., Boggetto, N., Alberti, P., Saintome, C., Riou, J.F., Prioleau, M.N. G4 motifs affect origin positioning and efficiency in two vertebrate replicators, *EMBO J.*, 2014. 33, 732–746. DOI: 10.1002/embj.201387506.
- Foult, M.S., Urban, J.M., Casella, C., Gerbi, S.A. Characterizing and controlling intrinsic biases of lambda exonuclease in nascent strand sequencing reveals phasing between nucleosomes and G-quadruplex motifs around a subset of human replication origins, *Genome Res.*, 2015. 25, 725–735. DOI: 10.1101/gr.183848.114.
- Paeschke, K., Juraneck, S., Simonsson, T., Hempel, A., Rhodes, D., Lipps, H.J. Telomerase recruitment by the telomere end binding protein beta facilitates G-quadruplex DNA unfolding in ciliates, *Nat. Struct. Mol. Biol.*, 2008. 15, 598–604. DOI: 10.1038/nsmb.1422.
- Balasubramanian, S., Hurley, L.H., Neidle, S. Targeting G-quadruplexes in gene promoters: a novel anticancer strategy?, *Nat. Rev. Drug. Discov.*, 2011. 10, 261–275. DOI: 10.1038/nrd3428.
- Kruisselbrink, E., Guryev, V., Brouwer, K., Pontier, D.B., Cuppen, E., Tijsterman, M. Mutagenic capacity of endogenous G4 DNA underlies genome instability in FANCD1-defective *C. elegans*, *Curr. Biol.*, 2008. 18, 900–905. DOI: 10.1016/j.cub.2008.05.013.
- Beaume, N., Pathak, R., Yadav, V.K., Kota, S., Misra, H.S., Gautam, H.K., Chowdhury, S. Genome-wide study predicts promoter-G4 DNA motifs regulate selective functions in bacteria: radioresistance of *D. radiodurans* involves G4 DNA-mediated regulation, *Nucleic Acids Res.*, 2013. 41, 76–89. DOI: 10.1093/nar/gks1071.
- Cahoon, L.A., Seifert, H.S. An alternative DNA structure is necessary for pilin antigenic variation in *Neisseria gonorrhoeae*, *Science*, 2009. 325, 764–767. DOI: 10.1126/science.1175653.
- Tarsounas, M., Tijsterman, M. Genomes and G-quadruplexes: for better or for worse, *J. Mol. Biol.*, 2013. 425, 4782–4789. DOI: 10.1016/j.jmb.2013.09.026.
- Schiavone, D., Guilbaud, G., Murat, P., Papadopoulou, C., Sarkies, P., Prioleau, M.N., Balasubramanian, S., Sale, J.E. Determinants of G quadruplex-induced epigenetic

- instability in REV1-deficient cells, *EMBO J.*, 2014. 33, 2507–2520. DOI: 10.15252/embj.201488398.
15. Beaudoin, J.D., Perreault, J.P. 5'-UTR G-quadruplex structures acting as translational repressors, *Nucleic Acids Res.*, 2010. 38, 7022–7036. DOI: 10.1093/nar/gkq557.
  16. Beaudoin, J.D., Perreault, J.P. Exploring mRNA 3'-UTR G-quadruplexes: evidence of roles in both alternative polyadenylation and mRNA shortening, *Nucleic Acids Res.*, 2013. 41, 5898–5911. DOI: 10.1093/nar/gkt265.
  17. Zhvakina A.R., Kharlamov K.V., Tinaev N.I., Golovanova E.V. Creation of a domestic meat rabbit hybrid // *Krolikovodstvo i zverovodstvo*. 2017. №3. – С. 22-24.
  18. Patent for breeding achievement №10245 “RODNIK”, registered in the State Register of Protected Breeding Achievements 24.04.2019, Code 8153020. Patent holder: Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V. A. Afanas'ev / E. Golovanova, G. Kosovsky, N. Tinaev, A. Shumilina.
  19. Shirasu K., Schulman A.H., Lahaye T., Schulze-Lefert P. A contiguous 66-kb barley DNA sequence provides evidence for reversible genome expansion. *Genome Res.* 2000. 10(7):908-915. DOI: 10.1101/gr.10.7.908.
  20. Caldwell K.S., Langridge P., Powell W. Comparative sequence analysis of the region harboring the hardness locus in barley and its colinear region in rice. *Plant Physiol.* 2004. Oct;136(2):3177-90. DOI: 10.1104/pp.104.044081.
  21. Kalendar R., Vicient C.M., Peleg O., Anamthawat-Jonsson K., Bolshoy A., Schulman A.H. Large retrotransposon derivatives: abundant, conserved but nonautonomous retroelements of barley and related genomes. *Genetics*. 2004. Mar;166(3):1437-50. DOI: 10.1534/genetics.166.3.1437.
  22. Tacke E., Korfhage C., Michel D., Maddaloni M., Motto M., Lanzini S., Salamini F., Döring H.P. Transposon tagging of the maize Glossy2 locus with the transposable element En/Spm. *Plant J.* 1995. 8(6):907-17. DOI: 10.1046/j.1365-313x.1995.8060907.x.
  23. Babii A, Kovalchuk S, Glazko T, Kosovsky G, Glazko V. Helitrons and Retrotransposons Are Co-localized in Bos Taurus Genomes. *Curr Genomics*. 2017. Jun;18(3):278-286. DOI: 10.2174/1389202918666161108143909.
  24. Yeh, F.C., Yang, R.C. and Boyle, T. (1999) POPGENE Version 1.32: Microsoft Window-Based Freeware for Population Genetics Analysis. University of Alberta, Edmonton.
  25. Yves Van de Peer, Rupert De Wachter, TREECON: A software package for the construction and drawing of evolutionary trees, *Bioinformatics*, Volume 9, Issue 2, April 1993, Pages 177–182, <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/9.2.177>.
  26. Perrier, X., Jacquemoud-Collet, J.P. (2006). DARwin software <https://darwin.cirad.fr/>
  27. Botstein D., White R.L., Skalnick M.H., Davies R.W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism. *Am. J. Hum. Genet.*, 1980. 32: 314-331.
  28. Ayala, F. and Kiger Jr., J. *Modern genetics*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, 1984. V. 3. Inc. California, 335 p.
  29. Rozenberg G.S. Information index and diversity: Boltzmann, Kotelnikov, Shannon, Weaver ... Samarskaya Luka: problemy regional'noj i global'noj ekologii. 2010. T. 19, № 2. – С. 4-25.
  30. Nei M. The genetic distance between populations. *Amer. Natur.* 1972. V. 106. P. 283–291.
  31. Powell W., Morgante M., Andre C., Hanafey M., Vogel J., Tingey S., Rafalski A. The utility of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. *Mol. Breed.*, 1996. 2: 225-238 DOI: 10.1007/BF00564200.
  32. Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myers, E.W. & Lipman, D.J. (1990) “Basic local alignment search tool.” *J. Mol. Biol.* 215:403-410.
  33. Sotero-Caio C.G., Platt R.N. 2nd, Suh A., Ray D.A. Evolution and Diversity of Transposable Elements in Vertebrate Genomes. *Genome Biol Evol.* 2017. 9(1):161-177. DOI:10.1093/gbe/evw264.

### Information about the authors:

**Kolesnik Elena Sergeevna** – Junior Researcher of the Biotechnology Department, Genomics Laboratory, postgraduate student of Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V. A. Afanas'ev, SPIN: 3533-3806; AuthorID: 1050062; ORCID: 0000-0002-2465-7184; ScopusID: 57219537696, e-mail: elena.rainis.lis@yandex.ru

**Glazko Valery Ivanovich** – Doctor of Agricultural Sciences, professor, RAS academician (foreign member), Chief Researcher of Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V. A. Afanas'ev, ORCID – 0000-0002-8566-8717, Author ID – 297850, e-mail: vigvalery@gmail.com.

**Glazko Tatiana Theodorovna** – Doctor of Agricultural Sciences, professor, chief researcher of Afanas'ev Research Institute of Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V. A. Afanas'ev, ORCID – 0000-0002-3879-6935, Author ID – 186988

**Kosovsky Gleb Yurievich** – Doctor of Biological Sciences, RAS corresponding member, Chief Researcher, Head of Scientific Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding named after V. A. Afanas'ev, ORCID – 0000-0003-3808-3086, Author ID – 353097, e-mail: niipzk@mail.ru