

УДК 636.1
МРНТИ 68.39.49

DOI 10.56339/2305-9397-2022-4-1-70-79

Ибадуллаева А.Ә., PhD докторант, **основной автор**, <https://orcid.org/0000-0003-2955-4034>
НАО «Казахский Национальный аграрный исследовательский университет», пр. Абая, 8, Алматы, Казахстан, akerke.ibadullayeva@gmail.com
Асанбаев Т.Ш., к.с/х.н., <https://orcid.org/0000-0002-6464-4931>
НАО «Торайгыров университет», Ломова, 64, Павлодар, Казахстан, asanbaev.50@mail.ru
Хамзина А.К., PhD докторант, <https://orcid.org/0000-0003-2211-0377>
НАО «Западно-Казахстанский аграрно-технический университет имени Жангир хана», г. Уральск, ул. Жангир хана 51, Казахстан, aigerim.khamzina55@gmail.com
Касымбекова Ш.Н., к.в.н., <https://orcid.org/0000-0003-2992-881>
НАО «Казахский Национальный аграрный исследовательский университет», пр. Абая, 8, Алматы, Казахстан, kasymbekova.shinara@yandex.kz

Ibadullayeva A.A., PhD student, **main author**, <https://orcid.org/0000-0003-2955-4034>
NJSC «Kazakh national agrarian research university», Almaty, Republic of Kazakhstan, akerke.ibadullayeva@gmail.com
Assanbayev T.Sh., candidate of agricultural sciences, <https://orcid.org/0000-0002-6464-4931>
NJSC «Toraygyrov University», Lomova, 64, Pavlodar, Kazakhstan, asanbaev.50@mail.ru
Khamzina A.K., PhD student, <https://orcid.org/0000-0003-2211-0377>
NJSC «West Kazakhstan Agrarian and Technical University named after Zhangir khan», Uralsk, st. Zhangir khan 51, 090009, Kazakhstan, aigerim.khamzina55@gmail.com
Kassymbekova Sh.N., candidate of veterinary sciences, <https://orcid.org/0000-0003-2992-881>
NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», 8 Abay Ave., Almaty, Kazakhstan, kasymbekova-s@mail.ru

**ОЦЕНКА ДНК ИЗ ОБРАЗЦОВ КАЗАХСКИХ ПОРОД ЛОШАДЕЙ ТИПА ЖАБЕ И
АДАЙСКОГО ТИПА ДЛЯ 16S рРНК СЕКВЕНИРОВАНИЯ
EVALUATION OF DNA SAMPLES OF KAZAKH HORSE BREEDS OF THE ZHABE AND
ADAI TYPES FOR 16S rRNA SEQUENCING**

Аннотация

Представленные нами микробиоты кишечника, и верхних дыхательных путей, лошадей казахской породы типа жабе и адайского типа в состоянии нормального физиологического состояния и недомогания, напрямую зависят от точного и воспроизводимого получения микробиологических данных. Критическим шагом в этом процессе, является применение соответствующей методологии для извлечения микробной ДНК, поскольку искажения, вносимые в процессе извлечения ДНК, могут привести к неточному представлению микроорганизмов.

В своих исследованиях, мы провели количественный анализ экстрагированного ДНК коммерческим набором (Purelink Microbiome Purification Kit) по методике производителя из образцов казахской лошади двух типов - жабе и адай (образцы взяты из верхних дыхательных путей (n-24), кишечника (n-24) и фекалий (n-22) для дальнейшего 16S рРНК секвенирования и последующего получения данных о микробных сообществах, находящихся в кишечнике, и верхних дыхательных путей выше указанных типов.

В целом, коммерческий комплект для извлечения ДНК из микробиома Purelink Microbiome Purification Kit являлся наиболее оптимальным и простым в применении, так как, не имел противопоказаний как для окружающей среды, так и для исполнителя. Результаты флуориметрического анализа для определения показателей количества подтвердили пригодность вышеуказанного метода экстракции ДНК для последующего секвенирования и хранения.

ANNOTATION

Our representation of the microbiota of the intestine, upper respiratory tract of a horse (Kazakh horse: Jabe, Adai) in health and indisposition conditions directly depends on the accurate and reproducible receipt of microbiological data. A critical step in this process is the application of an appropriate methodology for the extraction of microbial DNA, since distortions introduced in the process of DNA extraction can lead to an inaccurate representation of microorganisms.

In this study, we conducted a qualitative analysis of extracted DNA with a commercial Purelink Microbiome Purification Kit using the manufacturer's method from samples of two types of Kazakh horse - Jabe and Adai (samples from the upper respiratory tract (n=24), gut (n=24) and feces (n=22)) for further 16S rRNA sequencing and for further obtaining data on microbial communities located in the gut and upper respiratory tract of horses.

In general, the commercial kit for extracting DNA from the microbiome Purelink Microbiome Purification Kit was the most optimal and easy to use, as it had no contraindications for the environment and for the performer. The results of the fluorometric analysis to determine the quality indicators confirmed the suitability of the above method of DNA extraction for subsequent sequencing and storage.

Ключевые слова: ДНК, микробиом, экстракция ДНК, казахская лошадь, тип жабе и адай, секвенирование, метагеномика

Keywords: DNA, microbiome, DNA extraction, Kazakh horse, sequencing, metagenomics

Введение. Естественный отбор в течение тысячелетий, под влиянием сложных климатических условий, при круглогодичном пастбищно-тебеневочном способе содержания, косячном способе воспроизводства, использование примитивных методов отбора и подбора, в соответствии с требованиями уклада жизни кочевого народа, стали основными факторами в формировании казахской породы лошадей. Отличные приспособительные, воспроизводительные, рабочие и продуктивные качества считались их достоинством. Табунно-тебеневочный метод разведения коневодства происходил на протяжении столетий, человек особо не вмешивался, в данный процесс, поэтому у казахских лошадей на протяжении веков, каких либо заметных видоизменений не происходило [1,2].

Генетический потенциал современных местных казахских лошадей, под влиянием селекционно-племенной работы, создания новых внутрипородных и заводских типов, линий и семейств, с целью повышения мясной и молочной продуктивности, приобрело свои генетические особенности. Задача коневодов Казахстана, состоит в сохранении, и улучшении, генотипа отечественной породы [3].

Одомашненные лошади живут в других условиях по сравнению со своими вымершими дикими предками, и соответственно имеют различия в микробиоме [4].

Желудочно кишечный тракт лошадей содержит разнообразное сообщество микроорганизмов, которые содержат грибки, паразиты, вирусы и бактерии [5]. Эта совокупность различных микроорганизмов является микробиотой, а соответствующая единица генетического материала, называется микробиомом [6].

Результаты научных исследований демонстрируют тесную связь между кишечным микробиомом, содержанием и его функций. [7].

Для сравнения, верхняя часть кишечника лошади (желудок, jejunum и подвздошная кишка) демонстрирует более изменчивую микробиоту, что происходит за счет высокой концентрации бактерий в корме и окружающей среде. Более того, члены α -протеобактерии обычно многочисленны в этой части кишечника [7]. Напротив, состав микробиота, обитающая в нижних отделах ЖКТ лошадей (слепая кишка и толстая кишка), кажется удивительно стабильной, несмотря на индивидуальность животного, породу, возраст и пр.

Микробиом кишечника меняется в зависимости от диеты, лекарственных препаратов, кормления, стресса, и ряда хронических заболеваний, таким образом, здоровье лошади зависит от состояния кишечника [8].

Некоторые микробы продуцируют метаболиты, которые являются провоспалительными, могут активировать иммунную систему, чтобы она стала более

реактивной и усугубила аллергическое заболевание кожи или воспаление кожи [9]. Выявление наличия таких микробов дает нам возможность изменить их количество, скорректировав рацион или применив пребиотические и пробиотические добавки. Уровень аппетита, колики, избыточное газообразование, колиты, язвы кишечника, хроническая диарея, воспалительные заболевания кишечника и многие другие факторы связаны с резкими изменениями в популяциях кишечных микробов у лошадей. Защитный барьер кишечника и слизистая оболочка, связаны с большим количеством «хороших» бактерий [8,9]. Исследованиями обнаружена связь состава кишечного микробиома, с некоторыми поведенческими и психологическими состояниями животных, такими как агрессия, тревога и даже депрессия и гиперактивность, такими как ADAD у людей. [8,9].

Технология ДНК секвенирования, другими словами секвенирование нового поколения (NGS), теперь позволяет производить исследования более сложных биологических образцов на основе информации о последовательности в больших объемах [10].

Как правило ДНК сначала очищают, и в последующем ДНК секвенирование применяют для характеристики таксонов, с применением генетического маркера, такой как 16S рРНК для бактерий, 18S рРНК для эукариот, либо внутреннюю, транскрибируемую спейсерную ДНК (ITS), присутствующую между генами рРНК для грибов [11].

Для определения микробной среды у животных используется метод 16s секвенирования, который признан «золотым стандартом» анализа состава микробиоты кишечника.

Метод 16s секвенирования – это ДНК-метод исследования кишечной микробиоты человека и животных, который даёт возможность получить информацию о полном микробиологическом разнообразии в кишечнике, определяя и пристеночную, и просветную микробиоту.

Вне зависимости от цели генетического исследования, качество данных, в корне зависит от метода первичной экстракции нуклеиновых кислот [12].

Первым и важным этапом секвенирования является экстракция ДНК.

Эффективность клеточного лизиса и качество ДНК из сложных бактериальных экосистем являются двумя основными проблемами в таких молекулярно-экологических исследованиях. Исследования, связанные с животными и людьми, часто требуют анализа большего количества образцов, что делает важной производительность метода выделения ДНК [13].

Коммерческие наборы для извлечения ДНК, и для очистки ДНК, из разных биологических образцов, являются практичными и высокопроизводительными наборами, к тому же не причиняют вред здоровью животного и человека.

Набор для очистки ДНК микробиома Purelink Microbiome Purification Kit обеспечивает быструю очистку высококачественной микробной ДНК, и ДНК хозяина, из самых разных типов образцов, включая сложные образцы, такие как стул и почва. В наборе используется проверенная технология для надежного получения очищенной ДНК, готовой для последующей ПЦР, секвенирования, или иных применений. Благодаря высокоэффективному подходу тройного лизиса, быстрому удалению ингибиторов и универсальности, этот набор идеально подходит для проектов по исследованию микробиома, а также программ, направленных на быстрое обнаружение патогенных бактерий в различных образцах.

Перед NGS секвенированием, считается эффективным проводить проверку качества ДНК на флуорометре Qubit, поскольку он измеряет неповрежденную дцДНК [14]. Выделение и измерение экстрадированной концентрации ДНК является базовым методом, от которого зависит надежность и эффективность хранения и использования образцов [17].

В нашей работе, мы преследовали цель оценки метода выделения геномной ДНК из верхних дыхательных путей, кишечника и фекалий, казахской породы лошадей типа жабе и адайского типа, с точки зрения количества ДНК, концентрации, чистоты, целостности и пригодности для 16S секвенирования.

Материалы и методы. Материалом для выделения ДНК служили образцы из верхних дыхательных путей (n=24), кишечника (n=24) и фекалий (n=22) казахской лошади двух типов. В исследовании использовали 70 образцов. Образцы были отобраны в Мангистауской, Восточно-Казахстанской и в Павлодарской областях. Все образцы пронумерованы по индивидуальному тавру животных.

Экстракцию ДНК проводили используя коммерческий набор для выделения ДНК Purelink Microbiome Purification Kit, в соответствии с протоколом производителя [15]. Purelink Microbiome Purification Kit, является набором, специализирующимся на извлечении ДНК бактериального микробиома из смывов, и жидкостей живого организма. В процессе очистки максимизирует охват бактериальной ДНК при анализе секвенирования следующего поколения, и позволяет проводить высокочувствительный анализ микробиома на основе 16S рДНК и исследования метагеномного секвенирования.

Количественный анализ ДНК. Количественное определение всех образцов проводили в четырехкратной повторности. Экстрагированную ДНК количественно определяли на флуорометре Qubit 3.0 (Life Technologies) с набором для анализа Qubit dsDNA HS для Qubit 3.0, в соответствии с протоколом производителя [16]; к 195 мкл рабочего раствора Qubit добавляли 5 мкл каждого образца. Желаемая концентрация для успешного секвенирования 16S рДНК 3-4 нг/мл. Образцы, чьи концентрации были $10 < \text{нг/мл}$ нормализовали с помощью деионизированной воды.

Результаты исследования и обсуждение. Флуорометрический анализ наглядно демонстрирует достаточную концентрацию выделенной ДНК, что является ключевым моментом для дальнейших анализов. При оценке целостности нуклеиновой кислоты, она имела высокую молекулярную массу, что существенно при 16S секвенировании.

Средняя концентрация ДНК из образцов лошади типа жабё (смывы из верхних дыхательных путей- (n=16) из кишечника –(n=16) и фекалий-(n=14)) составила 7,8 нг/мл (таблица 1).

Таблица 1 – Количество ДНК казахской лошади типа жабё

Типы		№	Концентрация ДНК нг/мл
Жабё	Верхние дыхательные пути	1	5,7
		2	10
		3	12,3
		4	4,8
		5	6,1
		6	9,5
		7	12,3
		8	3
		9	7,7
		10	2,7
		11	11,8
		12	5,9
		13	5,1
		14	8,5
		15	4,3
		16	4,8

	Кишечник	1	7,7
		2	8
		3	12,5
		4	4,1
		5	13,7
		6	5
		7	2,9
		8	12,1
		9	7,8
		10	7,1
		11	12,3
		12	3,9
		13	15,7
		14	10,8
		15	11,3
		16	5,6
	Фекалии	1	5,7
		2	2,9
		3	10,3
		4	8,5
		5	5,2
		6	6
		7	12,8
		8	7,8
		9	5,6
		10	6
		11	13,3
		12	6,9
		13	5,3
		14	10,7
			Средняя концентрация: 7,869565 нг/мл

В свою очередь, образцы из лошади типа Адай (смывы из верхних дыхательных путей-(n=8) из кишечника –(n=8) и фекалий-(n=8)) показали среднюю концентрацию 8,2 нг/мл (таблица 2).

Таблица 2 – Количество ДНК казахской лошади адайского типа

Типы		№	Концентрация ДНК нг/мл
Адай	Верхние дыхательные пути	1	9,5
		2	8,7
		3	7,6
		4	6,4
		5	9,8
		6	10,9
		7	5,9
		8	9,9
	Кишечник	1	4,4
		2	10,5
		3	6
		4	5,9
		5	9,7
		6	9,1
		7	7,5
		8	10,4
	Фекалии	1	5,8
		2	8
		3	9,5
		4	4,9
		5	11,3
		6	6
		7	11,5
		8	7,7
			Средняя концентрация:8,204167

Анализ концентрации на Qubit DNA HS образцов лошади типа жабе из смывов верхних дыхательных путей, кишечника и фекалий демонстрируется в графике (рисунок 1). Самая высокая концентрация доходит до 16 нг/мкл (кишечный смыв), самая минимальная составляет 3 нг/мкл (фекалии,кишечный смыв и смыв из верхних дыхательных путей).

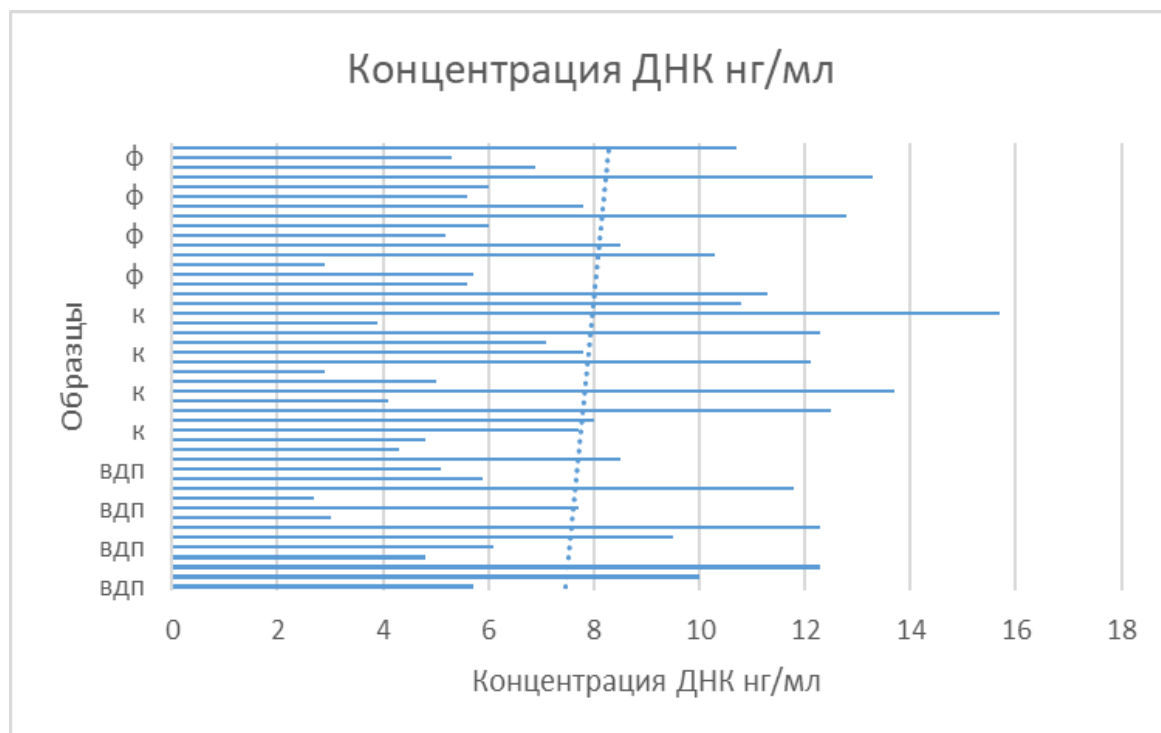


Рисунок 1 – Кривая данных анализа концентрации на Qubit DNA HS образцов лошади типа жабе: вДП-Верхние дыхательные пути (смывы), к-Кишечник (смывы), ф-фекалии



Рисунок 2 – Кривая данных анализа концентрации на Qubit DNA HS образцов лошади типа адай: вДП-Верхние дыхательные пути (смывы), к-кишечник (смывы), ф-фекалии

Анализ концентрации на Qubit DNA HS образцов лошади типа адай (фекалии, смывы из кишечника и верхних дыхательных путей). Наибольшая концентрация ДНК наблюдается в образце фекалий, которая составляет около 11 нг/мкл, наименьшая достигает 5 нг/мкл, которая была экстрагирована из кишечного смыва лошади типа Адай (рисунок 2).

Заклучение: На основе выше изложенных результатов выделения ДНК, все образцы были экстрадированы в достаточной концентрации для дальнейшего использования на основе 16S секвенирования. ДНК-секвенирование используют для описания таксонов, используя 16S рРНК - маркерный ген для бактерий. В дальнейших исследованиях, будет идентифицирование бактериальных сообществ, результаты метагеномных исследований будут сравниваться с базами данных последовательностей генов 16S рРНК в открытом доступе, включая Greengenes (18) и Silva (19) с помощью программного обеспечения QIIME (количественный анализ микробной экологии) (20) и Mothur (21). Эти инструменты устанавливают последовательность определенным таксономическим уровням, на основе кластеризации оперативных таксономических единиц (OTU).

Финансирование: Работа выполнена в рамках грантового финансирования по научным и (или) научно-техническим проектам на 2022-2024 годы Министерства образования и науки Республики Казахстан АР14869181 «Изучение экогеномики микробиома лошадей казахской породы лошадей методом NGS секвенирования».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Барминцев Ю. Н. Казахская лошадь типа джабе и перспективы ее разведения // Коневодство. 1954. № 5. С. 6–13.
- 2 Рзабаев С., Рзабаев Т. С. Зоотехническая характеристика новых генотипов казахских лошадей типа жабе // Коневодство и конный спорт. 2016. № 3. С. 27–29.
- 3 Исхан К. Ж., В. А. Демин, Ю. А. Юлдашбаев А. Д., Баймуханов Зоотехнические особенности табунных лошадей* 2019 г.
- 4 Ang, L., Vinderola, G., Endo, A. et al. Gut Microbiome Characteristics in feral and domesticated horses from different geographic locations. Commun Biol 5, 172 (2022). <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03116-2>
- 5 Costa M.C., Weese J.S. Understanding the intestinal microbiome in health and disease. Vet Clin North Am Equine Pract. 2018;34:1–12. 2.
- 6 Ursell L.K., Metcalf J.L., Parfrey L.W., Knight R. Defining the human microbiome. Nutr Rev. 2012;70:38–44.
- 7 Микробиом кишечника лошадей: текущие исследования энтеробиологической микробиоты лошадей и перспективы на будущее [<https://ru.biomedicalhouse.com/3390009-the-gut-microbiome-of-horses-current-research-on-equine-enteral-microbiota-and-future-perspectives>]
- 8 Багиров В.А., Ушаков А.С., Дускаев Г.К., Кван О.В., Рахматулин Ш.Г., Яушева Е.В., Вершинина И.А. Метагеномный анализ микробиома кишечника и биохимический состав мяса бройлеров при использовании растительного экстракта quercus cortex в рационах. Сельскохозяйственная биология, 2020, том 55, № 4, с. 682-696 doi: 10.15389/agrobiology.2020.4.682rus
- 9 Kauter A., Epping L., Semmler T., Antao EM., Kannapin D., Stoeckle S., Gehlen H., Lübke-Becker A., Günther S., Wieler L.H. and Walther B. The gut microbiome of horses: current research on equine enteral microbiota and future perspectives, Animal Microbiome (2019) 1:14 <https://doi.org/10.1186/s42523-019-0013-3>
- 10 Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sampling to analysis. Nat Biotechnol. 2017;35:833.
- 11 Kim D., Hofstaedter C.E., Zhao C., Mattei L., Tanes C., Clarke E., et al. Optimizing methods and dodging pitfalls in microbiome research. Microbiome. 2017;5:52
- 12 Leigh Greathouse K., Sinha R., Vogtmann E. DNA extraction for human microbiome studies: The issue of standardization. Genome Biol. 2019; 20(1): 212. pmid:31639026
- 13 Li, M., Gong, J., Cottrill, M., Yu, H., de Lange, C., Burton, J., & Topp, E. (2003). Evaluation of QIAamp® DNA Stool Mini Kit for ecological studies of gut microbiota. Journal of Microbiological Methods, 54(1), 13–20. doi:10.1016/s0167-7012(02)00260-9
- 14 Nakayama Y., Yamaguchi H., Einaga N., Esumi M. (2016) Pitfalls of DNA Quantification Using DNA-Binding Fluorescent Dyes and Suggested Solutions. PLoS ONE 11(3): e0150528. doi:10.1371/journal.pone.0150528
- 15 <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https://assets.thermofisher.com>
- 16 https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/qubit_3_fluorometer_man.pdf

- 17 Балановский О., Кагазежева Ж., Олькова М. Методы измерения концентрации ДНК: совпадение относительных величин и различия абсолютных, Вестник Российского государственного медицинского университета, 2019 № 27, 33
- 18 greengenes.secondgenome.com - The StrainSelect and Greengenes Databases
- 19 [Silva \(arb-silva.de\)](http://Silva.arb-silva.de) – High quality ribosomal RNA database
- 20 QIIME - Quantitative Insights Into Microbial Ecology. QIIME is an open-source bioinformatics pipeline for performing microbiome analysis from raw DNA sequencing data.
- 21 [mothur website](http://mothur_website) - Schloss PD et al. 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. Applied and Environmental Microbiology 75:7537–7541.

REFERENCES

- 1 Barmincev YU. N. Kazahskaya loshad' tipa dzhabe i perspektivy ee razvedeniya // Konevodstvo.1954. № 5. С. 6–13.
- 2 Rzabaev S., Rzabaev T.S. Zootehnicheskaya harakteristika novyh genotipov kazahskih losha-dej tipa zhabe // Konevodstvo i konnyj sport. 2016. № 3. S. 27–29.
- 3 Iskhan K. ZH., V.A. Demin, YU. A. YUldashbaev A.D., Bajmukanov Zootehnicheskije osobenno-sti tabunnyh loshadej* 2019 g.
- 4 Ang, L., Vinderola, G., Endo, A. et al. Gut Microbiome Characteristics in feral and domesticated horses from different geographic locations. Commun Biol 5, 172 (2022). <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03116-2>
- 5 Costa M.C., Weese J.S. Understanding the intestinal microbiome in health and disease. Vet Clin North Am Equine Pract. 2018;34:1–12. 2.
- 6 Ursell L.K., Metcalf J.L., Parfrey L.W., Knight R. Defining the human microbiome. Nutr Rev. 2012;70:38–44.
- 7 Mikrobiom kishechnika loshadej: tekushchie issledovaniya enterobiologicheskoy mikrobioty loshadej i perspektivy na budushchee [<https://ru.biomedicalhouse.com/3390009-the-gut-microbiome-of-horses-current-research-on-equine-enteral-microbiota-and-future-perspectives>]
- 8 Bagirov V.A., Ushakov A.S., Duskaev G.K., Kvan O.V., Rahmatulin SH.G., YAusheva E.V., Ver-shinina I.A. Metagenomnyj analiz mikrobioma kishechnika i biohimicheskij sostav myasa brojle-rov pri ispol'zovanii rastitel'nogo ekstrakta quercus cortex v racionah. Sel'skohozyajstvennaya biologiya, 2020, tom 55, № 4, s. 682-696 doi: 10.15389/agrobiology.2020.4.682rus
- 9 Kauter A., Epping L., Semmler T., Antao EM., Kannapin D., Stoeckle S., Gehlen H., Lübke-Becker A., Günther S., Wieler LH. and Walther B. The gut microbiome of horses: current research on equine enteral microbiota and future perspectives, Animal Microbiome (2019) 1:14 <https://doi.org/10.1186/s42523-019-0013-3>
- 10 Quince C, Walker AW, Simpson JT, Loman NJ, Segata N. Shotgun metagenomics, from sam-pling to analysis. Nat Biotechnol. 2017;35:833.
- 11 Kim D., Hofstaedter C.E., Zhao C., Mattei L., Tanes C., Clarke E., et al. Optimizing methods and dodging pitfalls in microbiome research. Microbiome. 2017;5:52
- 12 Leigh Greathouse K., Sinha R., Vogtmann E. DNA extraction for human microbiome studies: The issue of standardization. Genome Biol. 2019;20(1):212. pmid:31639026
- 13 Li, M., Gong, J., Cottrill, M., Yu, H., de Lange, C., Burton, J., & Topp, E. (2003). Evaluation of QIAamp® DNA Stool Mini Kit for ecological studies of gut microbiota. Journal of Microbiological Methods, 54(1), 13–20. doi:10.1016/s0167-7012(02)00260-9
- 14 Nakayama Y., Yamaguchi H., Einaga N., Esumi M. (2016) Pitfalls of DNA Quantification Using DNA-Binding Fluorescent Dyes and Suggested Solutions. PLoS ONE 11(3): e0150528. doi:10.1371/ journal.pone.0150528
- 15 <https://www.thermofisher.com/document-connect/document-connect.html?url=https://assets.thermofisher.com>
- 16 https://tools.thermofisher.com/content/sfs/manuals/qubit_3_fluorometer_man.pdf
- 17 Balanovskij O., Kagazezheva Zh., Ol'kova M. Metody izmereniya koncentracii DNK: sovpadenie otnositel'nyh velichin i razlichiya absolyutnyh, Vestnik Rossijskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta, 2019 № 27, 33
- 18 greengenes.secondgenome.com - The StrainSelect and Greengenes Databases

- 19 [Silva \(arb-silva.de\)](http://Silva (arb-silva.de)) – High quality ribosomal RNA database
20 QIIME – Quantitative Insights Into Microbial Ecology. QIIME is an open-source bioinformatics pipeline for performing microbiome analysis from raw DNA sequencing data.
21 mothur website – Schloss PD et al. 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. Applied and Environmental Microbiology 75:7537–7541.

ТҮЙІН

Біздің жылқының ішек, жоғарғы тыныс алу жолдарының микробиотасын (қазақ жылқысы: Жабы, Адай) сау және науқас күйде бейнелеуіміз микробиологиялық деректердің дәл және ұдайы өндірілуіне тікелей байланысты. Бұл процесстегі маңызды қадам микробтық ДНҚ-ны бөліп алу үшін тиісті әдісті қолдану болып табылады, өйткені ДНҚ-ны алу процесінде орын алған бұрмаланулар микроорганизмдердің дәл емес көрінісін қалыптастыруы мүмкін.

Бұл зерттеуде біз 16s рРНҚ секвенирлеу және кейіннен жылқылардың ішектерінде және жоғарғы тыныс жолдарында орналасқан микробтық қауымдастықтар туралы мәліметтер алу мақсатында Purelink Microbiome Purification Kit коммерциялық жиынтығымен өндірушінің әдісі бойынша алынған екі типтегі Қазақ жылқысының (Жабы мен Адай) үлгілерінен (жоғарғы тыныс жолдарынан (n-24), ішектен (n-24) және нәжістен (n-22) алынған ДНҚ-на сандық саралау жүргіздік.

Жалпы, Purelink Microbiome Purification Kit микробиомадан ДНҚ бөліп алуға арналған коммерциялық жиынтығы ең оңтайлы және қолдануға жеңіл болды, өйткені оның қоршаған ортаға және орындаушы денсаулығына қарсы көрсетілімдері жоқ. Мөлшерлік көрсеткіштерді анықтауға арналған флуорометриялық талдау нәтижелері жоғарыда аталған ДНҚ экстракциясының одан арғы секвенирлеуге және сақтау үшін жарамдылығын растады.

UDC 619:636.22

IRSTI 68.41.49

DOI 10.56339/2305-9397-2022-4-1-79-86

Alikhanov K.D., Ph.D, Associate Professor, **main author**, orcid.org/0000-0001-9514-7678
NJSC «Kazakh National Agrarian Research University», Almaty, st. Abay 26, Kazakhstan, mr.kuantar_87@mail.ru

Jakupov I.T., doctor of veterinary sciences, professor, <https://orcid.org/0000-0002-9373-2520>,
NJSC «S.Seifullin Kazakh Agro Technical University», Astana, Pobeda avenue, 62, 010000, Kazakhstan, dzhakupov@mail.ru

Abultdinova A.B., Master of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-0097-0758>,
NJSC «S.Seifullin Kazakh Agro Technical University», Astana, Pobeda avenue, 62, 010000, Kazakhstan abultdinova-a@mail.ru

Kuzerbayeva A.T., PhD, Associate Professor, <https://orcid.org/0000-0003-4748-9037>,
NJSC «M. Auezov South Kazakhstan University» Shymkent, 5 Tauke Khan avenue, 010000, Kazakhstan, aisulu_171287@mail.ru

Mamytbekova G.K., Master of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0002-3866-5003?lang=ru>
NCJSC «S.Seifullin Kazakh Agro Technical University», Astana, Pobeda avenue, 62, 010000, Kazakhstan, gulnur4284@mail.ru

ULTRASOUND DIAGNOSTICS PARAMETERS OF UTERINE PATHOLOGIES IN COWS

ANNOTATION

Excessive exploitation of highly productive cows affects the reduction of reproduction and the development of obstetric pathology. In these conditions, it is necessary to carry out timely diagnostic and therapeutic procedures. Ultrasound scanning is a modern and effective diagnostic method, both in determining pregnancy and for detecting the pathological condition of the genitals in cows. Determination of new diagnostic parameters increases diagnostic efficiency. To achieve this goal, determination of parameters of ultrasound diagnostics of uterine pathologies in cows, 59 Holstein-