

УДК 34.23.59

Насамбаев Е. Г.¹, ауылшаруашылық ғылымдарының докторы, профессор

Арысова Э. А.¹, 7M05100 «Биотехнология» мамандығының магистранты

Поддудинская Т. В.², ауылшаруашылық ғылымдарының магистрі

¹ «Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық- техникалық университеті» КЕ АҚ, Орал қ.

² «А. Байтұрсынов атындағы Қостанай аймақтық университеті» КЕ АҚ, Қостанай қ.

МИКРОСАТЕЛЛИТТИ МАРКЕРЛЕРДІ ҚОЛДАНУ АРҚЫЛЫ ҚАЗАҚ АҚБАС ТҰҚЫМЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ СИПАТТАМАСЫН ЖАСАУ

Аннотация

Берілген мақалада қазақ ақбас тұқымының шаруа қожалықтарының 2019 және 2020 жылдардағы генетикалық сипаттама талдауының нәтижелері көрсетілген. Генетикалық талдау BM1818, ETH3, CSSM66, INRA23, ILSTS6, TGLA227, TGLA126, TGLA122, SPS115, ETH225, TGLA53, CSRM60, BM2113, BM1824, ETH10 сияқты 15 микросателлитті локустар бойынша өткізілді. Зерттеуде биологиялық материал ретінде 2019 және 2020 жылдарда «Айсұлу» және «Дөңгелек» шаруа қожалықтарынан жиналған жалпы саны 148 бас ірі қара малдың шаш түптері қолданылды.

Зерттеу жұмысының мақсаты жалпы қазақ ақбас тұқымының генетикалық әртүрлілігін STR микросателлиттер көмегімен сипаттау және оған қоса «Айсұлу» және «Дөңгелек» шаруа қожалықтары популяцияларының генетикалық құрылымдарын салыстыру болды.

Ірі қара малды генотипирлеу ПТР әдісімен жүргізілді. 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, АҚШ) 8 – капиллярлы генетикалық анализаторында капиллярлы электрофорез әдісімен автоматты режимде амплификация өнімдерін бөлу және анықтау орындалды. Алынған зерттеу нәтижелері GeneMapper бағдарламасында талданды. Зерттеу жұмысы барысында келесідей көрсеткіштер есептелді: аллельдердің кездесу жиілігі, күтілетін (He) және бақыланатын (Ho) гетерозиготалылық деңгейі, полиморфтылық деңгейі (Ae), фиксация индексі (Fis).

Зерттеу нәтижесінде Батыс Қазақстан облысының «Айсұлу» және «Дөңгелек» ШҚ-ның 2019 және 2020 жылғы қазақ ақбас тұқымының бұқашықтарының популяциялары генотипирленіп, олардың микросателлитті маркерлері бойынша генетикалық әртүрлілігі анықталды. 15 микросателлитті locus қарастырылып, жоғарыда аталған көрсеткіштер есептелді. Соның нәтижесінде, ең жоғарғы орта күтілетін гетерозиготалылық деңгейі 0,706 тең болса, ең төмені 0,623 тең болды, бақыланатын гетерозиготалылықтың жоғары көрсеткіші 0,741 көрсетсе, төменгісі 0,607 қамтыды. Фиксация индексінің ең тиімді мәні минус 0,883 тең болды, бұл гетерозиготалар санының көптігін, яғни генетикалық әралуандылықты білдіреді. Мұндағы полиморфтылық деңгейінің ең жоғарғы көрсеткіші 3,871 болып, оның әртүрлі ішкі генетикалық құрылымын көрсетті, бұл популяция жануарларының генетикалық әлуантүрлі материалдың резервуары екенін білдіреді. Осындай әдіспен, қазақ ақбас тұқымының ДНҚ полиморфизмінің негізгі сипаттамалары анықталып популяция аралық талдау жасалды.

***Түйінді сөздер:** Қазақ ақбас тұқымы, ДНҚ, микросателлиттер, аллель, locus.*

Кіріспе. Микросателлиттер-генетикалық өзгергіштікті зерттеу үшін кеңінен қолданылатын молекулалық-генетикалық маркерлердің жеке класы, атап айтқанда микроэволюциялық процестердің әсерінен жасанды іріктеу әдісімен алынған жануарлар популяцияларында қолданылады [1]. Геномның бойында біркелкі орналасатын қысқа қайталанатын тізбектердің немесе микросателлиттердің ашылуымен, жануарларды генетикалық бағалау және сипаттау әлдеқайда тиімді болды. Басқа маркерлік жүйелермен салыстырғанда геномда кең таралған микросателлиттер тұқым қуалайтын жоғары полиморфизм мен кодоминантты белгілеріне ие [2]. Олардың жоғары полиморфизмі мен техникалық қарапайымдылығы, оның ішінде ПТР технологиясы мен капиллярлық электрофорезге жарамдылығы арқасында микросателлиттерге артықшылық беріледі, ірі қара мал тұқымдарының шығу тегін анықтауда, әрі қарай асылдандыру жұмыстарын жүргізуде қолданылады [3]. Қазіргі таңда жалпы ірі қара малдағы микросателлиттер саны 20000-ға жуықтайды. Жануарлар популяциясы

арасындағы генетикалық байланыстарды дұрыс анықтау селекциялық бағдарламаларды жасау, тұқымдық құрылымдарды қалыптастыру, тұқым қуалаушылықты бағалау және селекциялық құндылықты арттыру үшін өте маңызды [3-7]. Әкелікті дұрыс емес сәйкестендірудің едәуір жоғары көрсеткіштері тіпті табындарды есепке алу өте мұқият жүргізілетін елдерде де тіркеліп тұрады.

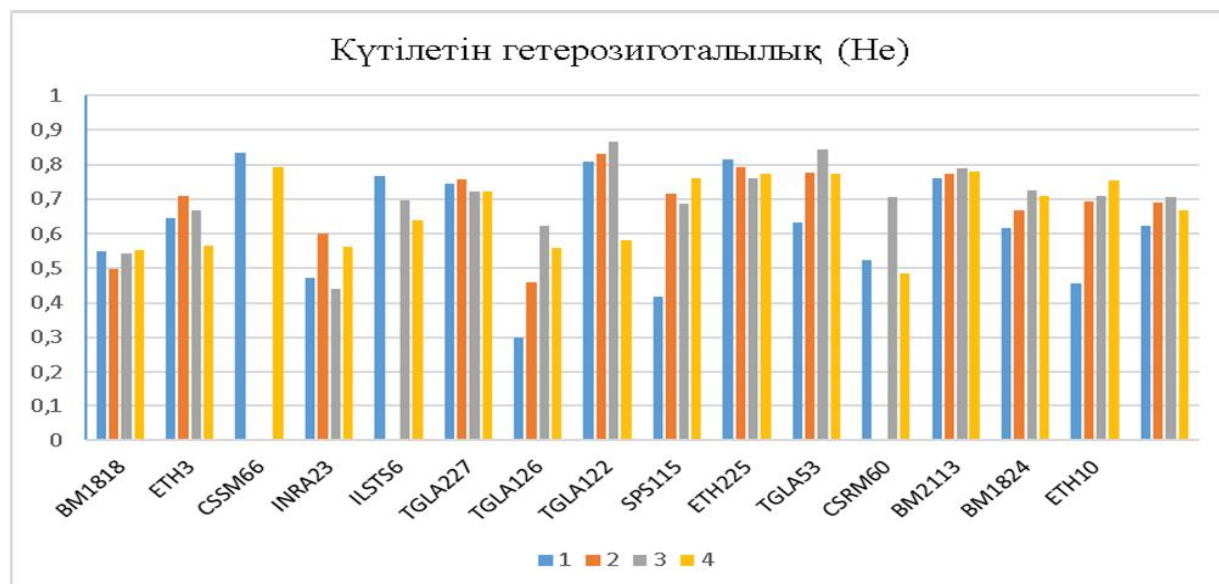
Аталған деректерді назарға ала отырып, бұл зерттеу жұмысының мақсаты қазақ ақбас тұқымының генетикалық құрылымын STR- локустар бойынша сипаттау. Аталған мақсатты орындау үшін төмендегі міндеттер анықталды:

1. Батыс Қазақстан облысы «Айсұлу» және «Дөңгелек» ШҚ-тары жағдайында STR- локустарын анықтау;

2. Салыстырмалы аспектіде алынған нәтижелерді талдау.

Зерттеу құралдары мен тәсілдері. Зерттеу Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті жанындағы Сынау орталығының «Биотехнология және инфекциялық ауруларды балау» зертханасында жүргізілді. Зерттеу нысаны «Айсұлу» және «Дөңгелек» ШҚ-нан 2019 және 2020 жылдары алынған (n=148) бұқашықтар популяциясы болды. ДНҚ-ны шаш түптерінен (фолликулаларынан) бөліп алу үшін «Syntol» (Мәскеу) компаниясының «ДНК-Экстрен-2» коммерциялық жиынтығын қолданылды. ДНҚ-ны амплификация жасау әдісі өндірушінің ұсыныстарына сәйкес Proflex амплификаторында (Thermo Fisher Scientific) «Гордиз» (Мәскеу қ.) компаниясының «Cordis Cattle» коммерциялық жиынтығын қолданумен ПТР арқылы жүзеге асырылды. Ірі қара малды генотипілеу 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, АҚШ) 8 – капиллярлы генетикалық анализаторында капиллярлы электрофорез әдісімен автоматты режимде амплификация өнімдерін бөлу және анықтау арқылы ПТР әдісімен жүргізілді. Алынған зерттеу нәтижелері GeneMapper бағдарламасында талданды. Зерттеу жұмысы барысында келесідей көрсеткіштер есептелді: аллельдердің кездесу жиілігі, күтілетін(He) және бақыланатын(Ho) гетерозиготалылық деңгейі, полиморфтылық деңгейі (Ae), фиксация индексі(Fis).

Зерттеу нәтижелері. Түрлердің сақталу қажеттілігін анықтайтын маңызды факторлар-бұл жануарлардың саны және олардың генетикалық бірегейлігі. Генетикалық әртүрлілікті зерттеудің заманауи әдістеріне үй жануарларының түрлері мен генетикалық әртүрлілікті зерттеуде жаңа перспективалар ашатын молекулалық-генетикалық маркерлерді қолдану жатады [8]. Популяциялардың генетикалық әралуандылығының маңызды көрсеткіші болып оның гетерозиготалылығын бағалау табылады [1].

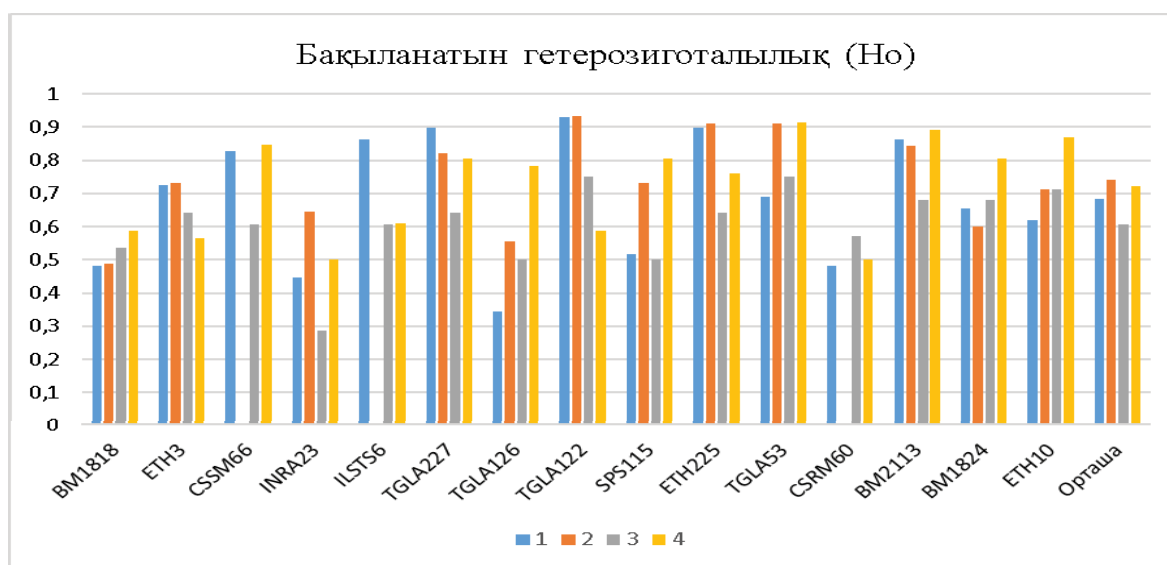


Сурет 1. Микросателлиттік локустардың күтілетін гетерозиготалылық деңгейі
Ескерту – 1 – «Айсұлу» ШҚ, 2019 жыл, 2- «Айсұлу» ШҚ, 2020 жыл, 3- «Дөңгелек» ШҚ, 2019 жыл, 4- «Дөңгелек» ШҚ, 2020 жыл

Берілген популяциялардың басым бөлігінде бақыланатын гетерозиготалылық деңгейі күтілетін гетерозиготалылық деңгейінен басым болды. Дәлірек айтқанда, «Айсұлу» ШҚ-ның

2019 жылғы мәліметтеріне сәйкес бақыланатын гетерозиготалылық деңгейі 0,683 тең, ал күтілетін 0,623 тең болды. Бұл жерде кері нәтижелер көрсеткен BM1818, CSSM66, INRA23, CSRM60 локустары. 2020 жылы аталған шаруа қожалығында бұл көрсеткіштер деңгейі айтарлықтай артты. Оған дәлел, күтілетін және бақыланатын гетерозиготалылық деңгейі сәйкесінше 0,689 және 0,741- ге тең болды. BM1824 локусында ғана бақыланатын гетерозиготалылық деңгейі 0,600- ге тең болып, 0,668 көрсеткен күтілетін гетерозиготалылық деңгейінен кем болды.

«Дөңгелек» ШҚ-ның 2020 жылғы популяциясының жекелеген INRA23, ILSTS6, ETH225 локустарында бақыланатын гетерозиготалылық көрсеткіші төмен болды, бірақ жалпы есептеу нәтижесінде 15 локус бойынша бақыланатын 0,722, ал күтілетін гетерозиготалылық 0,667 болды. 2019 жылғы «Дөңгелек» ШҚ-ның нәтижелері алдыңғылармен салыстырғанда ерекшеленеді. Мұнда бақыланатын гетерозиготалылық деңгейі 0,607- ге тең болып, күтілетін гетерозиготалылық (0,706) деңгейінен кем болды. «Дөңгелек» ШҚ-ның 2019 жылғы популяциясы бақыланатын гетерозиготалылық бойынша ең төмен көрсеткішке ие, ал күтілетін гетерозиготалылық бойынша керісінше жоғары көрсеткішке ие екендігін диаграмма 1, 2 байқауға болады.

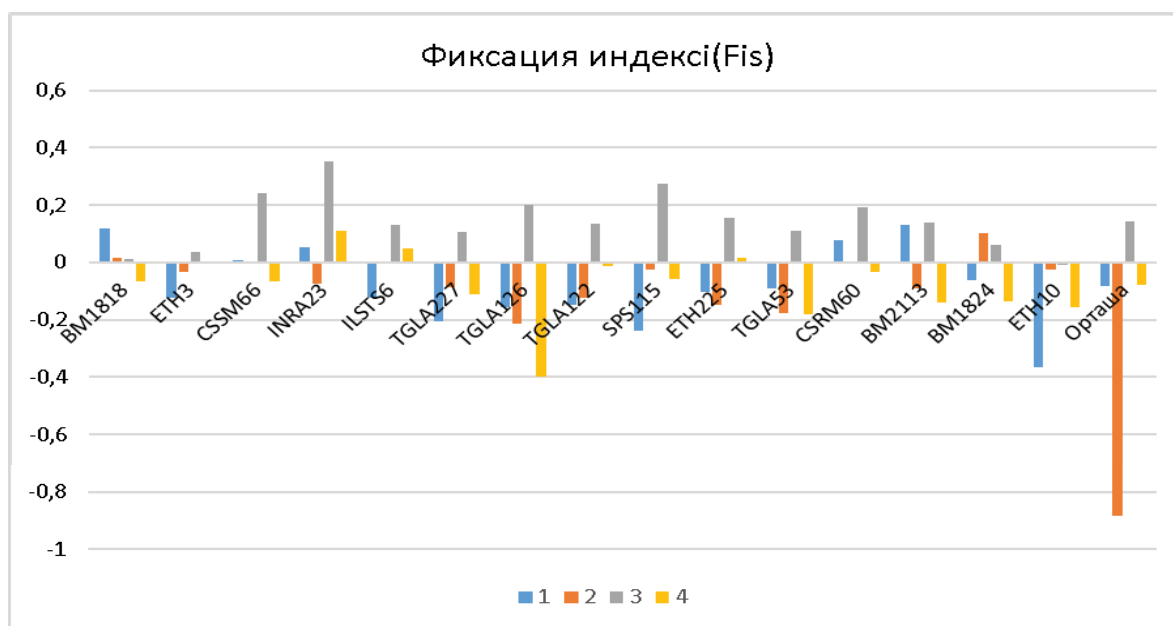


Сурет 2. Микросателлиттік локустардың бақыланатын гетерозиготалылық деңгейі
Ескерту - 1- «Айсұлу» ШҚ, 2019 жыл, 2- «Айсұлу» ШҚ, 2020 жыл, 3- «Дөңгелек» ШҚ, 2019 жыл, 4- «Дөңгелек» ШҚ, 2020 жыл

Популяцияларды генетикалық әртүрлілікке талдау негізінде, бақыланатын гетерозиготалылық деңгейі 0,607- ден («Дөңгелек» ШҚ, 2019) 0,741- ге («Айсұлу» ШҚ, 2020) дейін өзгеріп тұрды. Күтілетін гетерозиготалылық көрсеткішінің ең төмені 0,623- тен («Айсұлу» ШҚ, 2019) 0,706-ға («Дөңгелек» ШҚ, 2019) дейін барды.

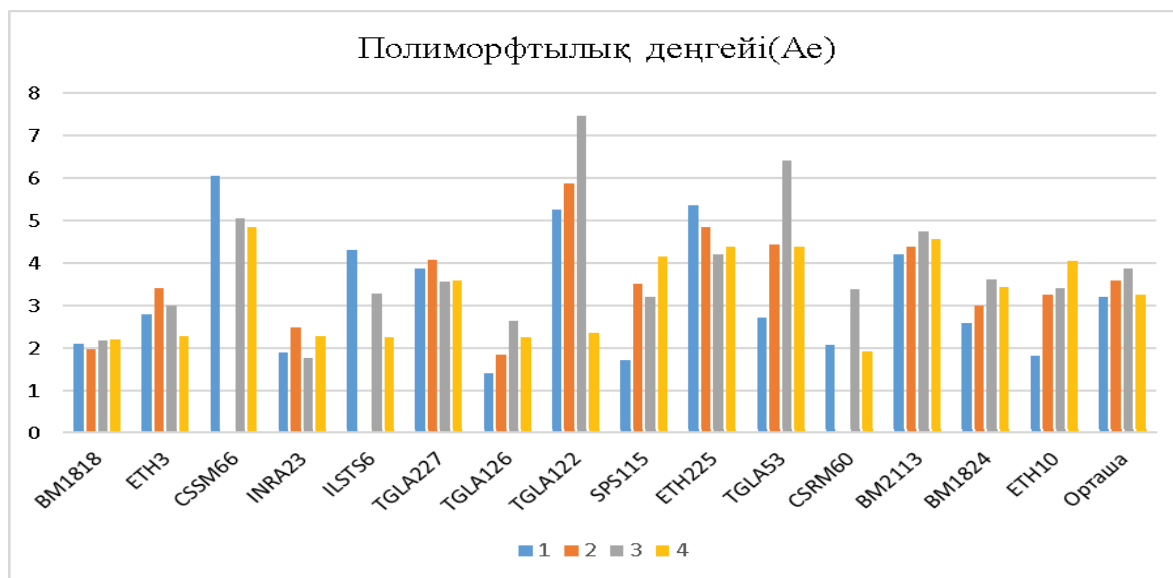
Fis көрсеткіші гетерозиготалы генотиптердің пайда болу жиілігінің популяция ішінде кездейсоқ жұптасқан кезде гетерозиготалардың теориялық күтілетін (Харди-Вайнберг бойынша) үлесінен ауытқуын сандық түрде көрсетеді. Fis индексінің оң мәні белгілі бір популяцияда гетерозиготалардың жетіспеушілігін білдіреді, ал индекстің теріс мәні гетерозиготалардың артық екенін көрсетеді [10].

«Айсұлу» ШҚ – ның 2019 және 2020 жылдардағы Fis индексі параметрінің көрсеткіштеріне сәйкес 15 локустың нәтижелері бойынша екеуінде де гетерозиготалар саны басым болды. Әр жылға келер болсақ, жалпы 2019 жыл үшін есептелген Fis индексінің көрсеткіші минус 0,082-ге тең болса, 2020 жылы ол минус 0,883- ке тең болды. Демек 2020 жылда гетерозиготалар деңгейі алдыңғы жылмен салыстырғанда артқан. 2019 жылдың есептеулері бойынша BM1818, CSSM66, INRA23, CSRM60, BM2113 локустары оң көрсеткішке ие болса (0,008-0,131 арасында), 2020 жылы BM1818 және BM1824 локустарындағы Fis индексі сәйкесінше 0,015 және 0,102- ге тең болып, осы локустағы гомозиготалар басымдығын көрсетті.



Сурет 3. Микросателлиттік локустардың фиксация индексі көрсеткіштері
Ескерту - 1- «Айсұлу» ШҚ, 2019 жыл, 2- «Айсұлу» ШҚ, 2020 жыл, 3- «Дөңгелек» ШҚ, 2019 жыл, 4- «Дөңгелек» ШҚ, 2020 жыл

«Дөңгелек» ШҚ- нда 2019 жылы 15 локус бойынша Fis индексі 0,143- ке тең болып, гетерозиготалардың жеткіліксіздігін көрсетті. ETH10 локусы ғана минус 0,008 көрсеткішімен ерекшеленді. Ал 2020 жылы Fis индексі минус 0,079 тең болды. Яғни жылы локустардағы тепе-теңдік гетерозиготалар жағына қарай ауысты. Мұндағы оң көрсеткіш көрсеткен INRA23, ILST56, ETH225 (0,110, 0,048, 0,014 сәйкесінше) локустарын атап өтуге болады. Сурет 3 көрсетілгендей жалпы төрт популяция бойынша жоғары гетерозиготалар деңгейі 2020 жылы «Айсұлу» ШҚ-на тиісті.



Сурет 4. Зерттелген популяциялардың полиморфтылық деңгейі
Ескерту- 1 – «Айсұлу» ШҚ, 2019 жыл, 2- «Айсұлу» ШҚ, 2020 жыл, 3- «Дөңгелек» ШҚ, 2019 жыл, 4- «Дөңгелек» ШҚ, 2020 жыл

Популяциядағы жануарлардың генетикалық алуантүрлілігі жеке локустағы аллельдерге де, полиморфты локустар үлесіне де тәуелді. Төрт популяцияны талдау нәтижесі бойынша, 2019 жылғы «Дөңгелек» ШҚ ең жоғарғы полиморфтылық деңгейіне ие ($A_e = 3,871$). Диаграмма 4 бейнеленгендей,

мұндағы көрсеткіштердің ең төмені 1,789 (INRA23), ең жоғарғы 7,463 (TGLA122) көрсетті. Демек, бұл популяцияның басқалармен салыстырмалы түрде генетикалық алуантүрлілігі жоғары. Керісінше, 3,222 тең көрсеткішімен ең төмен полиморфтылық деңгейін 2019 жылы «Айсұлу» ШҚ көрсетті. Мұндағы көрсеткіштер 1,425- 6,061 арасында өзгеріп тұрды. 2020 жылы «Айсұлу» ШҚ-ның 2019 жылға қарағанда полиморфтылық деңгейі 3,602- ге өсті.

Ал 2020 жылы «Дөңгелек» ШҚ-на қатысты полиморфтылық деңгейі 3,276 тең болып, 2019 жылмен салыстырғанда әлдеқайда азайған. Дегенмен де, күтілетін гетерозиготалылық деңгейі мәнінің жоғары болуы бұл популяция жануарларының генетикалық өзгергіштіктің маңызды резервуары екенін растайды.

Қорытынды. Қазақ ақбас тұқымы Қазақстанның барлық аймақтарында кең таралған. Қазіргі уақытта шет елдерде ДНҚ технологияларды қолдану арқылы генетикалық құрылымды анықтау қарқынды жүріп жатқан процесс болғандықтан, оны жергілікті тұқымдарға қолдану өте маңызды болып табылады. Зерттеу нәтижелеріне сәйкес, жалпы берілген екі шаруа қожалықтарының 2019 және 2020 жылы алынған төрт популяция бойынша, ең жоғарғы орта күтілетін гетерозиготалылық деңгейі 0,706 тең болса, ең төмені 0,623 тең болды. Сәйкесінше, бақыланатын гетерозиготалылықтың жоғары көрсеткіші 0,741 көрсетсе, төменгісі 0,607 тең болды. Фиксация индексінің ең тиімді мәні минус 0,883 қамтыды, бұл гетерозиготалар санының көптігін, яғни генетикалық әралуандылықты білдіреді. Жалпы нәтижелер бойынша салыстырмалы түрде «Дөңгелек» ШҚ-ның 2019 жылғы популяциясы жоғары нәтижелер көрсетті.

Осындай әдісті қолдана отырып алынған зерттеу нәтижелерін қазақ ақбас тұқымын асылдандыруда, олардық генетикалық құрылымын, әртүрлілігін сақтауда қолдануға болады.

ҚОЛДАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Ldyka V. I, Khmelnychy L. M, Lyashenko Y. V, Kulibaba R. O: Analysis of the genetic structure of population of Lebedyn cattle by microsatellite markers. Regul. Mech. Byosyst., 2019, 10(1): 45-49, 2019.
2. Özşensoy Y, Kurar E: Markör sistemleri ve genetik karakterizasyon çalışmalarında kullanımları. J Cell Mol Biol, 10 (2): 11-19, 2012.
3. Stevanovic J, Stanimirovic Z, Dimitrijevic V, Maletic M: Evaluation of 11 microsatellite loci for their use in paternity testing in Yugoslav Pied cattle (YU Simmental cattle). Czech J Anim Sci, 55 (6): 221-226, 2010.
4. Carolino I, Sousa CO, Ferreira S, Carolino N, Silva FS, Gama LT: Implementation of a parentage control system in Portuguese beef-cattle with a panel of microsatellite markers. Genet Mol Biol, 32 (2): 306-311, 2009.
5. Geldermann H, Pieper U, Weber WE: Effect of misidentification on the estimation of breeding value and heritability in cattle. J Anim Sci, 63, 1759-1768, 1986
6. Dechow CD, Norman HD, Zwald NR, Cowan CM, Meland OM: Relationship between individual herd-heritability estimates and sire misidentification rate. J Dairy Sci, 91 (4): 1640-1647, 2008.
7. Banos G, Wiggans GR, Powell RL: Impact of paternity errors in cow identification on genetic evaluations and international comparisons. J Dairy Sci, 84 (11): 2523-2529, 2001.
8. Гужеев Ю.В., Мельник О.В., Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А. Полиморфизм пяти микросателлитных локусов ДНК при изучении серой украинской и серой болгарской пород крупного рогатого скота // Розведення і генетика тварин. - 2016. - № 52. - С. 202-211.
9. Вейр, Б. Анализ генетических данных / Б. Вейр; пер. с англ. Д. В. Зайкина, А. И. Пудовкина, А. Н. Татаренкова. – М. : Мир, 1995. – 400 с.

РЕЗЮМЕ

Исследования были посвящены определению генетической характеристики казахской белоголовой породы КХ «Дөңгелек» и КХ «Айсұлу» Западно- Казахстанской области с использованием микросателлитных маркеров. Генотипирование животных было проведено методом ПЦР, разделение и детекция амплифицированных ДНК было проведено на генетическом анализаторе 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США). В программе GeneMapper были проанализированы результаты в графическом виде. По 15 STR –локусам , были изучены такие параметры, как наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность(He, Ho), уровень полиморфности (Ae) и индекс

фиксации (Fis). Результаты данных были предоставлены в виде диаграмм. По результатам генетического анализа популяций скота двух хозяйств, было установлено, что животные КХ «Донгелек» характеризовались более высоким генетическим разнообразием по уровню полиморфности (3,871) и ожидаемой гетерозиготности (0,706) по сравнению с животными КХ «Айсұлу» (3,276 и 0,667). Максимальный показатель уровня полиморфности показал различную внутреннюю генетическую структуру популяции, что означает, что животные популяции являются резервуарами генетически разнообразного материала. Таким методом были выявлены основные характеристики полиморфизма ДНК казахской белоголовой породы и проведен межпопуляционный анализ.

RESUME

The aim of the research was to identify genetic specification of kazakh white-headed breed of «Aisulu» and «Dongelek» farms (West Kazakhstan region), using microsatellite loci. Genotyping of animals was carried out by PCR, separation and detection of amplified DNA was carried out on a genetic analyzer 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA). The graphical results were analyzed in the GeneMapper program. By 15 STR loci was determined parameters, as expected and observed heterozygosity (He, Ho), polymorphism level (Ae) and fixation index (Fis). Based on the genetic analysis results of the breed of two farms, was concluded «Dongelek» farm animals differ from «Aisulu» farm's breed (3,276 and 0,667) by polymorphism level (3.871) and expected heterozygosity (0.706). The maximum polymorphism rate showed a different internal genetic structure of the population, which means that animal populations are reservoirs of genetically diverse material. Using this method, the main characteristics of the DNA polymorphism of the kazakh white-headed breed were identified and an inter-population analysis was carried out.

УДК 636.3.083.2.637.623

Омарова К.М.¹, кандидат сельскохозяйственных наук

Шаугимбаева Н.Н.², кандидат сельскохозяйственных наук

Нуралиева У.А.², кандидат сельскохозяйственных наук

Джетписбаева Б.Ш.³, кандидат сельскохозяйственных наук

¹Казахский агротехнический университет им. С.Сейфуллина, г.Нур-Султан

²Казахский национальный аграрный университет, г.Алматы

³Алматинский технологический университет, г.Алматы

КОРМЛЕНИЯ И СОДЕРЖАНИЯ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ В КХ «ОЛЖА»

Аннотация

В статье приводятся результаты научно-исследовательской работы по изучению кормления местных, помесных и казахской белоголовой породы по периодам выращивания, разводимых в крестьянском хозяйстве «Олжа» Меркенского района Жамбылской области. В период опыта животные выращивались на рационах, рассчитанных на получение 800-850 г среднесуточного прироста. Животные содержались в одинаковых условиях и соответствовало зоотехнические параметры и было предусмотрено максимальное использование животными дешевых пастбищ и рацион состоял из кормов собственного приготовления хозяйства. Это ячменное – пшеничная дерть, сено разнотравное, зерносенаж ячменный и пастбищная трава. На естественных пастбищах, где содержали подопытных бычков произрастает более 50 видов естественных кормовых культур. Рационы были сбалансированы по основным питательным веществам. Потребность животных в минеральных обеспечивались не только за счет рациона, но и дополнительной дачи соли лизунца и мела. В структуре рациона за 18 мес. выращивания, молоко составляло 13,1 – 13,2%, грубый корм (сено) – 15,4 – 15,9%, зерносенаж – 20,8 – 21,1%, трава – 13,1 – 13,5% и концентраты – 37,1 – 37,3%. Анализируя структуру израсходованных кормов, важно отметить, что с возрастом животных увеличивается удельный вес концентрированных кормов в рационах. Такой уровень кормления способствовал получению достаточно высокого прироста массы тела во все периоды роста. На основании проведенных исследований нами сделано предположение о том, что повышение эффективности кормления с возрастом животных увеличивается удельный вес и способствовало