

ӘОЖ 636.06:636.32/.38

Білім алушы: Уразова Г.М., магистрант

Ғылыми жетекші: Бейшова И.С., а.ш.ғ. кандидаты (ҚР), б.ғ.д. (РФ),

қауымдастырылған профессор

«Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті»КеАҚ,
Орал қ.

МИКРОСАТЕЛЛИТТИ МАРКЕРЛЕРДІ ҚОЛДАНУ АРҚЫЛЫ ЕДІЛБАЙ ҚОЙ ТҰҚЫМЫНЫҢ ГЕНЕТИКАЛЫҚ ПОЛИМОРФИЗМІ

АННОТАЦИЯ

Мақалада ДНҚ микросателлиттерінің 12 локустары негізінде Батыс Қазақстан облысында өсірілген еділбай қой тұқымының генетикалық әртүрлілігіне жасалған талдау жұмыстарының нәтижелері көрсетілген. Генетикалық талдау жұмыстары McM042, INRA006, McM527, ETH152, CSRD247, OarFCB20, INRA172, INRA063, MAF065, MAF214, INRA005, INRA023 сияқты 12 микросателлиттік локус бойынша жүрізілді. Зерттеу жұмысына 75 бас еділбай қойының жүн талшықтары қолданылды.

Зерттеудің мақсаты ДНҚ-ның 12 микросателлиттік локусы бойынша еділбай қой тұқымының генетикалық құрылымын анықтау болды. Еділбай тұқымды қойлар мынадай популяциялық-генетикалық көрсеткіштер бойынша сипатталды: аллельдердің орташа саны (N) – 11,25, күтілетін гетерозиготалық деңгейі (H_e) – 0,768, бақыланатын гетерозиготалық деңгейі (H_o) – 0,735, күтілетін гомозиготалық деңгейі (C_a) – 0,232, полиморфтық деңгей (A_e) – 4,816 және фиксация индексі (F_{is}) – 0,044.

Кілт сөздер: еділбай қой тұқымы, гетерозиготалық, микросателлиттер, локус, ДНҚ.

Кіріспе. Еділбай қойы – денесінің ірілігімен және айтарлықтай деңгейдегі жоғары ет-май өнімділік ерекшеліктері бойынша өте бағалы тұқым болып саналады [1]. Олар құйрықты тұқым және жүн түсімі мен сапасы жоғары деңгейде болып келеді.

Ауыл шаруашылығы жануарларының өнімділігін, көбею, даму ерекшеліктерін көрсететін қасиеттерін арттыру мал шаруашылығындағы генетика мен селекцияның негізгі міндеті болып табылады. Отандық мал шаруашылығы селекциясында жануарлардың тұқымдық бағалы қасиеттерін анықтау үшін дәстүрлі «халықтық іріктеу» әдістерін қолдану жеткіліксіз. Сол себепті, бұл бағытта генетикалық зерттеу әдістері мен молекулярлық-генетикалық маркерлер қолданылады.

ДНҚ технологиясының дамуы мал шаруашылығындағы көптеген жаңалықтардың ашылуымен байланысты. Олардың маңыздыларына: жануарлардың генетикалық ресурстарының қазіргі жағдайы туралы маңызды ақпарат көзіне айналған микросателлиттердің анықталуы, әртүрлі генетикалық маркерлердің ашылуы мен қолданылуы жатады [2].

Микросателлиттер (қысқа тандемді қайталау, STR), жоғары генетикалық полиморфизмнің арқасында бүкіл геномға кеңінен енгізілген қысқа тандемдік қайталанулар. Олар тұқымның генетикалық құрылымын белгілейді, осылайша сирек кездесетін және жойылып бара жатқан тұқымдардың генофондын сақтай отырып, генетикалық анықтамалыққа айналады [3].

Микросателлиттерді генетикалық маркерлер ретінде таңдау олардың ерекшеліктеріне байланысты: геномдағы кең таралуы және біркелкі таралуы, аллельдік әртүрлілік, жоғары ақпараттылық, мендельдік типтегі кодоминантты тұқым қуалаушылық, жоғары репродуктивтілік, сонымен қатар талдауды автоматтандырудың қарапайымдылығы [2].

Қазақстанның мал шаруашылығы өнімінің сапасын жақсарту және оны әлемдік нарыққа интеграциялау үшін өсірудің қандай да бір аймағына бейімделген жаңа жоғары өнімді тұқымдарды, жануарлардың түрлері мен желілерін жасауға мүмкіндік беретін озық селекциялық-генетикалық әдістерді пайдалану талап етіледі. Селекциялық процестің тиімділігі үшін жоғары өнімді дараларды іріктеу қатаң генетикалық мониторингті сақтай отырып жүргізілуі тиіс. Асыл тұқымды мал шаруашылығында, оның ішінде қой шаруашылығында ауыл шаруашылығы жануарларының шығу тегін генетикалық бақылау әдісі үлкен маңызға ие, ал жоғары құнды генотиптерді генетикалық паспорттау асыл тұқымды шаруашылықтарда зоотехникалық есепке алудың міндетті элементі болып табылады. Осыған байланысты құрылымды оңтайландыру, құнды генотиптерді сәйкестендіру және құжаттау, сондай-ақ қой шаруашылығындағы генетикалық ресурстарды жүйелеу үшін генетикалық зерттеулер өзекті болып табылады [4, 5].

Аталған деректерді назарға ала отырып, бұл зерттеу жұмысының мақсаты – ДНҚ-ның 12 микросателлиттік локусы бойынша еділбай қой тұқымының генетикалық құрылымын анықтау.

Зерттеу материалдары және әдістері: Зерттеу жұмыстары «Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті» КеАҚ Сынау орталығы базасында аккредиттелген биотехнология және жұқпалы ауруларды балау зертханасында жүргізілді. Зерттеудің биологиялық материалы ретінде Батыс Қазақстан облысының «Аймекен» шаруа қожалығындағы еділбай қой тұқымы ($n=75$) қолданылды.

Биологиялық материалдардан ДНҚ оқшаулау жалпы қабылданған әдістермен жүзеге асырылды. Жүн талшықтарынан ДНҚ оқшаулау үшін Синтол фирмасының "ДНҚ-Экстран-2" коммерциялық жиынтығы қолданылды. Алынған ДНҚ саны мен сапасы *NanoVue Plus* спектрофотометрінде тексерілді.

ДНҚ амплификациясы өндірушінің әдістемесіне сәйкес Proflex (Thermo Fisher Scientific) амплификаторында «COrDIS» (Mackey, Ресей) компаниясының COrDIS Sheep "12 микросателлиттік маркерлер мен қой амелогенинінің локусын мультиплексті талдауға арналған реагенттер жиынтығы" коммерциялық жиынтығын пайдалана отырып, ПТР әдісімен жүргізілді.

COrDIS Sheep – микросателлиттік локустар және жыныс маркері ретінде амелогенин гені деп те аталатын қысқа тандемдік қайталанулары (STR) бар 12 локустың мультиплексті ПТР талдауы негізінде жануарлардың туыстық және ДНҚ даралануын талдау мақсатында қойлардың молекулалық-генетикалық сипаттамаларына арналған реагенттер жинағы [6].

Талданатын 12 локус Халықаралық жануарлар генетикасы қоғамы (International Society of Animal Genetics – ISAG) ұсынған стандартты маркерлерді құрайды: McM042, INRA006, McM527, ETH152, CSRD247, OarFCB20, INRA172, INRA063, MAF065, MAF214, INRA005, INRA023[7].

Электрофорез АҚШ-тың 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) 8-капиллярлы автоматты генетикалық анализаторында жүргізілді.

Алынған мәліметтер GeneMapper бағдарламалық жасақтамасымен талданды [8].

Зерттеу нәтижелері. Мал шаруашылығында, оның ішінде қой шаруашылығында селекциялық-асыл тұқымдық жұмыстың тиімділігін арттыру мал шаруашылығы өнімін өндіруді қарқындату және индустрияландыру кезеңінде ерекше маңызға ие. Осы мақсатта гендердің молекулалық-генетикалық маркерлері қолданылады. Олар гендердің аллельдік нұсқалары туралы ақпарат алуға және жеке гендерді тікелей эксперименталды түрде зерттеуге мүмкіндік береді. Селекциялық процестердің критерийлері ретінде көптеген генетикалық маркерлерді пайдалану тұқымдардың, популяциялардың және жеке даралардың генетикалық әлеуетін неғұрлым сенімді бағалауға, табындардағы селекциялық процестерді дәлірек бақылауға, олардың бағытын реттеуге мүмкіндік береді [9].

Еділбай қой тұқымына ДНҚ-ның 12 микросателлиттік локустары бойынша полиморфизмін анықтауға жүргізілген зерттеу жұмысы бойынша 136 аллель анықталды. Локустардағы аллельдер саны 5-тен 15- ке дейін болды.

Жеке локустар аспектісінде алынған деректерді талдау бойынша, еділбай қойларындағы генетикалық әртүрліліктің төмен деңгейі ETH152 және McM042 локустарына тән болды, яғни бұл локустар 5 және 8 аллельден тұрды.

Ең жоғары генетикалық әртүрлілік 15 аллельден тұратын INRA063 локусынан анықталды.

Зерттелетін қой тұқымындағы генетикалық әртүрлілікті бағалау үшін гетерозиготалықтың бақыланатын және күтілетін дәрежесі, фиксация индексі, полиморфтылық деңгейі есептелді (1 кесте).

Кесте 1 – Еділбай қой тұқымының микросателлиттік STR-локустарының полиморфизміне сипаттама (n=75)

Микросателлиттік локус	Күтілетін гетерозиготалық деңгей(<i>He</i>)	Бақыланатын гетерозиготалық деңгей(<i>Ho</i>)	Фиксация индексі (<i>Fis</i>)	Күтілетін гомозиготалық деңгейі(<i>Ca</i>)	Полиморфтылық деңгей (<i>Ae</i>)
McM042	0,661	0,560	0,153	0,339	2,950
INRA006	0,701	0,707	-0,009	0,299	3,344
McM527	0,843	0,720	0,146	0,157	6,369
ETH152	0,649	0,627	0,034	0,351	2,849
CSRD247	0,782	0,720	0,079	0,218	4,587
OarFCB20	0,864	0,853	0,013	0,136	7,353
INRA172	0,708	0,693	0,021	0,292	3,425
INRA063	0,873	0,827	0,053	0,127	7,874
MAF065	0,797	0,747	0,063	0,203	4,926
MAF214	0,729	0,733	-0,005	0,271	3,690
INRA005	0,835	0,880	-0,054	0,165	6,061
INRA023	0,771	0,747	0,031	0,229	4,367
Орташа мәні	0,768	0,735	0,044	0,232	4,816

Полиморфизм деңгейін бағалау үшін тиімді аллельдердің (*Ae*) саны есептелді. Тиімді аллельдердің саны неғұрлым аз болса, популяцияның генетикалық әртүрлілігі соғұрлым төмен болатыны белгілі [11]. Біздің жұмысымызда тиімді аллельдердің саны ETH152 локусында 2,950-ден INRA063 локусында 7,874-ке дейін болды. Полиморфизм деңгейінің орташа көрсеткіші **4,816** болды (1-кесте). Зерттелген еділбай қой тұқымының 12 микросателлиттік локус іріктемесінің бесеуінде аллельдер саны орташа полиморфтық деңгейден жоғары, ал қалған жетеуінде төмен болды.

Зерттеу барысында жануарлардың гетерозиготалығы бағаланды, өйткені бұл популяциялардың генетикалық жағдайының динамикасы мәселелерінде маңызды параметр болып табылады. Өздеріңіз білетіндей, гетерозиготалық көрсеткіш мутациялық процестерді, іріктеудің әртүрлі түрлерін, гендік дрейфті, кездейсоқ емес жұптасуды және популяция динамикасының басқа факторларын көрсетеді [10]. Бақыланатын гетерозиготалылық дәрежесі (*Ho*) популяциядағы генетикалық әртүрліліктің өлшемі болып табылады. Гетерозиготалардың жиілігі маңызды көрсеткіш, өйткені әрбір гетерозиготада әртүрлі аллельдер болады және өзгергіштіктің болуын көрсетеді. Популяцияның өзгергіштігін дәл бағалау үшін аллельдік әртүрлілік деңгейін қарастыратын күтілетін гетерозиготалылық (*He*) көрсеткіші енгізіледі [12]. Зерттеу жұмысымыздың талдау

нәтижелері еділбай қойларында гетерозигота тапшылығы бар екенін көрсетеді (1 кесте). Күтілетін гетерозиготалық деңгейдің (*He*) мәндеріне қатысты максимум INRA063 (0,873) локусымен сипатталды, ал минималды мән ETH152 (0,649) локусында белгіленді, ең жоғары бақыланатын гетерозиготалық деңгей (*Ho*) INRA005 (0,880) локусымен, ал ең төмені McM042 (0,560) локусымен сипатталды. Бақыланатын гетерозиготалықтың орташа көрсеткіші **0,735** болды, ал күтілетін гетерозиготалықтың орташа мәні **0,768** болып, бақыланатын гетерозиготалыққа қарағанда жоғары көрсеткішке ие болды.

Әр locus үшін Райттың фиксация индексінің (*Fis*) мәндері есептелді. Индекс мәні оң және теріс мәндерге ие болуы мүмкін. *Fis* индексінің оң мәні берілген популяцияда гетерозиготалардың жетіспеушілігін білдіреді, ал индекстің теріс мәні гетерозиготалардың артық болуын көрсетеді. Еділбай қойы зерттеу тобы үшін гетерозиготалардың артық мәні тек қана INRA005 (-0,054), INRA006 (-0,009), MAF214 (-0,005) локустарында байқалды. Қалған локустарда (McM042, McM527, ETH152, CSRD247, OarFCB20, INRA172, INRA063, MAF065, INRA023) гетерозиготалардың жетіспеушілігі байқалды, фиксация индексінің мәні 0,013-тен 0,153-ке дейінгі шаманы көрсетті.

Орташа алғанда, зерттелген барлық 12 STR локустары бойынша фиксация индексі 0,044-ке тең болып, оң мәнге ие болып, бұл гетерозиготалардың жетіспеушілігін және сәйкесінше еділбай қой тұқымының генетикалық әртүрлілігінің төмен деңгейін көрсетті.

Қорытынды. Зерттеудің нәтижелері бойынша, еділбай қой тұқымы үшін 12 микросателлиттік локустарда 136 аллель анықталды, әр локуста 5-тен 15-ке дейін аллель саны болды. Полиморфтылықтың ең жоғары деңгейі INRA063 локусымен, ал ең төмені ETH152 локусымен сипатталды. Сонымен қатар, зерттелген еділбай қой тұқымының бақыланатын гетерозиготалық деңгейінің орташа мәні 0,735-ке тең болды, күтілетін гетерозиготалық – 0,768, фиксация индексі – 0,044-ті құрады, бұл зерттелген қой тұқымында гетерозиготалықтың жетіспеушілігін білдіреді. Осылайша, еділбай қой тұқымының зерттеу тобы STR-локустар бойынша генетикалық әртүрліліктің төмен деңгейін көрсетті.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Есенғалиев К.Г., Давлетова А.М. Етті-майлы және етті-жүнді қойлардың өнімділігін жоғарылату әдістері: оқу құралы / К.Г. Есенғалиев, А.М. Давлетова – Алматы: Альманахъ, 2022. – 90б.
2. Денискова Т.Е., Селионова М.И., Гладырь Е.А., Доцев А.В., Бобрышова Г.Т., Костюнина О.В., Брем Г., Зиновьева Н.А. Изменчивость микросателлитов в породах овец, разводимых в России// Сельскохозяйственная биология, 2016, том 51, №6, с. 801-810.
3. Селионова М.И., Лушихина Е.М., Чижова Л.Н. Особенности микросателлитного профиля овец, разводимых в условиях Кыргызстана // Сельскохозяйственный журнал №1(11), 2018. С. 84-90.
4. Данкверт А.Г. Животноводство / Учебное пособие (ISBN978-5-94939-065-8) – Москва: Издательство «Репроцентр М», 2011. – 376 с.
5. Мирзабеков С.Ш. Овцеводство / С.Ш. Мирзабеков, А.И. Ерохин. – Алматы: Издатмаркет, 2005. – 507 с.
6. Инструкция пользователя [Электронный ресурс]: COrDIS Sheep Набор реагентов для мультиплексного анализа 12-ти микросателлитных маркеров и локуса амелогенина овец. – Режим доступа: <https://gordiz.ru/wp-content/uploads/2021/05/instrukciya-cordis-sheep-140521.pdf>
7. ISAG conference Camelid Genetics and Genomics Workshop, Equine Genetics and Thoroughbred Parentage Testing Workshop, Pig Genetics and Genomics, Applied Genetics

in Sheep and Goats, Cattle Molecular Markers and Parentage Testing Workshop. Xian, China, 2014.

8. Genemapper software. Applied Biosystems:

<http://www.appliedbiosystems.com/absites/en/home/support/software/dna-sequencing/genemapper.htm>

9. Юлдашбаев Ю.А., Чиндалиев А.Е., Нурбаев С.Д., Сейтпан К.М., Баймуканов Д.А., Ертай А. Генетическая структура популяции овец казахской тонкорунной породы по молекулярно-генетическим маркерам ДНК // «Овцы, козы, шерстяное дело», № 3, 2020, с.2-7.

10. Левонтин Р. Генетические основы эволюции. – М.: Мир, 1978. – 352 С.

11. Бейшова И.С., Ульянова Т.В., Сидарова А.Ж. Генетическое разнообразие абердин-ангусской породы с использованием микросателлитных маркеров // «Наука и Образование», № 4-1 (61), 2020, с.26-31

12. Насамбаев Е.Г., Ахметалиева А.Б., Нугманова А.Е. Генетическая структура молодняка герефордской и абердин-ангусской пород по данным полиморфизма микросателлитных локусов ДНК // «Наука и Образование», № 4-1 (61), 2020, с.83-91

РЕЗЮМЕ

Исследования были посвящены выявлению генетического полиморфизма едилбаевских породы овец КХ "Аймекен" Западно-Казахстанской области с использованием микросателлитных маркеров. Генотипирование едилбаевской породы овец проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР), а выделение и детектирование продуктов амплификации выполнялось методом капиллярного электрофореза на 8-м капиллярном генетическом анализаторе 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) в автоматическом режиме. Анализ полученных графических результатов осуществлялся в программе GeneMapper, а статистический анализ в программе Microsoft Excel. Овец едилбаевской породы характеризовали по следующим популяционно-генетическим показателям: среднее количество аллелей (N), ожидаемый гетерозиготный уровень (He), контролируемый гетерозиготный уровень (Ho), ожидаемый гомозиготный уровень (Ca), полиморфный уровень (Ae) и индекс индивидуальной фиксации (Fis). Таким образом, выявлены характерные признаки полиморфизма по всем изученным показателям микросателлитных локусов ДНК едилбаевских овец.

RESUME

The research was devoted to the identification of genetic polymorphism of the Edilbay sheep breed of the «Aimeken» farm in the West Kazakhstan region using microsatellite markers. The genotyping of the Edilbay sheep breed was carried out by polymerase chain reaction (PCR), and the isolation and detection of amplification products was performed by capillary electrophoresis on the 8th capillary genetic analyzer 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA) in automatic mode. The analysis of the obtained graphical results was carried out in the GeneMapper program, and statistical analysis was carried out in the Microsoft Excel program. The sheep of the Edilbay breed were characterized by the following population-genetic indicators: the average number of alleles (N), the expected heterozygous level (He), the observed heterozygous level (Ho), the expected homozygous level (Ca), polymorphic level (Ae) and the index of individual fixation (Fis). Thus, characteristic signs of polymorphism were revealed for all the studied indicators of microsatellite DNA loci of Edilbay sheep.