

Генетическая характеристика голштинской породы крупного рогатого скота с использованием микросателлитных ДНК-маркеров

М.А. Часовщикова, д.с.-х.н., профессор, ФГБОУ ВО ГАУ Северного Зауралья

Микросателлиты – это варьирующие участки или локусы в ядерной ДНК или ДНК органелл, состоящие из tandemно повторяющихся мономеров. Используются в качестве молекулярных маркеров при исследовании генетического разнообразия, принадлежности к популяции, родства, эволюционных процессов. Это сравнительно новая технология генетической экспертизы, которая стала популярной в девяностые годы XX века [1, 2]. Впервые она была применена в дактилоскопии ДНК и идентификации человека, но очень быстро вошла в область идентификации животных. Под руководством Международного общества генетики животных (ISAG) была создана панель из не менее 12 микросателлитных маркеров для контроля происхождения крупного рогатого скота, которая используется во всем мире. Эта панель включает следующие микросателлитные маркеры: BM 1814, BM 1818, BM 2113, ETH 3, ETH 10, ETH 225, INRA 23, SPS 115, TGLA 53, TGLA 122, TGLA 126, TGLA 227 [2]. При исследовании ДНК в стадах крупного рогатого скота России используют панели, включающие 11–15 коротких tandemных повторов [3–6].

Цель работы заключалась в исследовании генетической структуры стада голштинской породы с использованием 15 микросателлитных маркеров ДНК.

Материал и методы исследования. Исследование микросателлитной ДНК проведены в 2018 г. в одном из племенных репродукторов по разведению голштинской породы крупного рогатого скота Тюменской области. В качестве биологического материала для выделения ДНК использовали образцы стабильной крови племенных нетелей голштинской породы (n=35). Анализ ДНК и постановку полимеразной цепной реакции проводили согласно методическим рекомендациям по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве [7] в Центре геномных технологий государственного аграрного университета Северного Зауралья (г. Тюмень). Исследование микросателлитной ДНК проведено по 15 локусам. Набор маркеров включал следующие микросателлиты: BM 1818, BM 1824, BM 2113, CSRM 60, CSSM 66, ETH 3, ETH 10, ETH 225, ILST 6, INRA 23, SPS 115, TGLA 53, TGLA 122, TGLA 126, TGLA 227. Частота встречаемости аллелей, число информативных аллелей, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность, индекс фиксации Райта рассчитаны по общепринятым методикам [8, 9].

Результаты исследования. Проанализировав полиморфизм 15 локусов нуклеотидных последовательностей ДНК у нетелей голштинской породы, установили 102 аллеля, диапазон размеров которых варьировал от 81 до 288 bp. В изучаемых локусах идентифицировано от 4 до 13 аллелей. Среднее число аллелей на локус составляло 7,2 (табл. 1).

1. Характеристика полиморфизма микросателлитов

Локус	Аллели	Число аллелей на локус	Число информативных аллелей на локус
BM 1818	258–270	6	3,3
BM 1824	178–188	4	3,0
BM 2113	125–143	6	3,3
CSRM 60	92–102	5	3,0
CSSM 66	181–197	7	4,3
ETH 3	117–129	5	3,7
ETH 10	209–225	8	5,3
ETH 225	140–152	11	3,7
ILST 6	288–296	5	3,5
INRA 23	200–218	8	5,0
SPS 115	248–260	6	3,3
TGLA 53	154–186	13	6,3
TGLA 122	143–183	11	6,7
TGLA 126	115–123	4	4,0
TGLA 227	81–103	9	9,0
\bar{x}	–	7,2	4,6
$S_{\bar{x}}$	–	0,71	0,52

Общее число аллелей в локусах и их распределение по локусам является показателем варибельности генетического потенциала популяции. Как правило, увеличение числа аллелей и их равномерное распределение по локусам указывает на повышение генетической варибельности. В то же время чем больше в локусе аллелей, тем он более информативен для характеристики популяции. Среднее число информативных аллелей, характеризующее уровень полиморфности подконтрольного стада, составляло 4,6 ед. Из всех исследованных локусов минимальной полиморфностью обладали BM 1824 и CSRM 60 – 3,0 ед., а общее количество локусов с наименьшей, чем в среднем, информативностью равнялось 10. Наибольшей полиморфностью обладал локус TGLA 227 с уровнем 9,0 ед. В группу с наибольшей информативностью (5,0–6,7 ед.) также вошли локусы INRA 23, TGLA 53, TGLA 122 и ETH 10.

Частота встречаемости аллелей в исследуемом стаде голштинского скота колебалась от 0,014 до 0,600 (табл. 2).

Наибольшей частотой отличались аллели 102 (локус CSRM 60), 117 (ETH 3), 294 (ILST 6) и 248 (локус SPS 115) – 0,529–0,600. В свою очередь

2. Частота аллелей 15 микросателлитов, р

Локус	Аллель	Частота	Локус	Аллель	Частота	Локус	Аллель	Частота	
BM 1818	258	0,014	ETH 3	117	0,529	TGLA 53	162	0,086	
	262	0,443		121	0,043		166	0,071	
	264	0,043		125	0,100		168	0,100	
	266	0,414		127	0,086		170	0,043	
	268	0,071		129	0,243		172	0,057	
	270	0,014		209	0,114		174	0,043	
BM 1824	178	0,300	ETH 10	213	0,100	TGLA 122	176	0,086	
	180	0,243		215	0,014		180	0,029	
	182	0,086		217	0,214		182	0,014	
	188	0,371		219	0,414		186	0,029	
BM 2113	125	0,200	ETH 225	221	0,029	TGLA 126	143	0,229	
	127	0,329		223	0,057		147	0,029	
	135	0,343		225	0,057		149	0,271	
	137	0,057		ETH 225	140		0,143	151	0,100
	139	0,057			144		0,029	157	0,014
	143	0,014			148		0,443	159	0,071
CSRM 60	92	0,186	ILST 6	150	0,314	TGLA 227	161	0,129	
	96	0,086		152	0,071		163	0,043	
	98	0,071		288	0,271		169	0,043	
	100	0,100		290	0,014		181	0,014	
CSSM 66	181	0,057	INRA 23	292	0,100	TGLA 53	183	0,057	
	183	0,086		294	0,600		115	0,414	
	185	0,057		296	0,014		117	0,471	
	187	0,086		200	0,014		121	0,071	
	189	0,471		202	0,200		123	0,043	
	193	0,229		206	0,200		81	0,143	
197	0,014	208	0,043	83	0,029				
SPS 115	248	0,600	TGLA 53	210	0,257	TGLA 227	87	0,100	
	252	0,214		214	0,257		89	0,329	
	254	0,029		216	0,014		91	0,100	
	256	0,114		218	0,014		95	0,100	
	258	0,029		154	0,014		97	0,086	
	260	0,014		158	0,057		101	0,071	
			160	0,129	103	0,043			

наименьшей частотой, от 0,014 до 0,043, характеризовались 30 аллелей из 12 локусов.

В популяционно-генетических исследованиях важной составной частью является оценка гетерозиготности. Гетерозиготность возникает при слиянии разнокачественных гамет и наблюдается у организмов, гомологичные хромосомы которых имеют разные аллели гена. Известно, что гетерозиготность играет положительную роль в процессе адаптации, при повышении гетерозиготности животные приобретают ряд преимуществ, в том числе повышается жизнеспособность, что особенно важно для импортируемого поголовья, потомками которого является подконтрольная группа животных. В связи с этим нами представлена и проанализирована наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность (табл. 3).

Так, наибольшим уровнем наблюдаемой гетерозиготности среди 15 исследуемых локусов характеризовался локус TGLA 227 – 0,905, наименьшим – BM 1824 и CSRM 60 – 0,667. В то же время ожидаемая гетерозиготность, которая по сути точнее отражает уровень аллельного разнообразия, была наибольшей по локусу TGLA 53 и составляла 0,941, а наименьшей – 0,556 по

локусу ILST6. Средний уровень фактической и ожидаемой гетерозиготности составлял 0,755 и 0,706 соответственно.

Для того чтобы установить отклонения гетерозиготных генотипов от теоретически ожидаемых рассчитали индекс фиксации, который показывает нехватку гетерозигот в популяции – при положительном выражении, или их избыток – при отрицательном выражении. В исследуемом стаде в среднем наблюдался незначительный избыток гетерозигот (-0,070). Анализируя каждый локус в отдельности, установили, что в большинстве из них наблюдался избыток гетерозигот. Недостаток гетерозигот отмечали лишь по трём локусам: BM 1824, BM 2113, TGLA 53. Таким образом, подконтрольное поголовье нетелей голштинской породы характеризуется высокой степенью гетерозиготности, система случайного скрещивания в стаде преобладает над инбридингом.

Выводы. Исследование полиморфизма 15 локусных микросателлитов показало, что в стаде голштинского скота среднее число аллелей на локус составляло 7,2 с числом информативных аллелей – 4,6. Максимальная частота встречаемости (p=0,600) характерна для аллелей 248 и 294,

3. Гетерозиготность локусных микросателлитов

Локус	Гетерозиготность		Индекс фиксации
	наблюдаемая	ожидаемая	
BM 1818	0,700	0,625	-0,120
BM 1824	0,667	0,706	0,056
BM 2113	0,700	0,727	0,038
CSRM 60	0,667	0,633	-0,054
CSSM 66	0,769	0,704	-0,092
ETH 3	0,727	0,642	-0,133
ETH 10	0,813	0,752	-0,080
ETH 225	0,727	0,678	-0,071
ILST 6	0,714	0,556	-0,284
INRA 23	0,800	0,785	-0,019
SPS 115	0,700	0,579	-0,208
TGLA 53	0,842	0,941	0,105
TGLA 122	0,850	0,834	-0,019
TGLA 126	0,750	0,599	-0,250
TGLA 227	0,905	0,826	-0,095
\bar{x}	0,755	0,706	-0,070
$S_{\bar{x}}$	0,019	0,028	—

расположенных в локусах SPS 115 и ILST 6 соответственно. Наиболее информативными, с точки зрения гетерозиготности, следует считать восемь локусов: BM 1824, BM 2113, CSSM 66, ETH 10, ETH 225, INRA 023, TGLA 53, TGLA 122, TGLA 227, которые характеризуются наибольшей ожидаемой полиморфностью и, следовательно, могут быть успешно использованы для установления происхождения.

Литература

- Хабибрахманова Я.А. Генетическая характеристика голштинской породы с использованием микросателлитных маркеров / Я.А. Хабибрахманова, Л.А. Калашникова, Т.Б. Ганченкова [и др.] // Сборник научных трудов Ставропольского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства. 2014. № 7. С. 511–516.
- Brenig B., Schütz E. Recent development of allele frequencies and exclusion probabilities of microsatellites used for parentage control in the German Holstein Friesian cattle population // BioMed Central Genetics. 2016. URL: <https://doi.org/10.1186/s12863-016-0327-z> (дата обращения: 15.02.19).
- Стрекозов Н.И. Генетическая характеристика созданных типов скота бурой швицкой и сычевской пород с использованием полиморфизма микросателлитных локусов / Н.И. Стрекозов, Н.А. Зиновьева, П.В. Горелов [и др.] // Сельскохозяйственная биология. 2009. № 2. С. 10–15.
- Гладырь Е.А. Изучение изменчивости микросателлитов при создании нового типа мясного скота Сибири / Е.А. Гладырь, Г.М. Гончаренко, П.В. Горелов [и др.] // Достижения науки и техники АПК. 2011. № 10. С. 30–32.
- Долматова И.Ю. Характеристика аллелофонда башкирской популяции симментальского скота по микросателлитам / И.Ю. Долматова, П.В. Горелов, А.Д. Ильясов [и др.] // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2012. № 2. С. 52–54.
- Часовщикова М.А., Шевелёва О.М. Генетическая характеристика крупного рогатого скота герефордской породы Тюменской области с использованием микросателлитных ДНК-маркеров // Вестник Иркутской ГСХА. 2018. № 88. С. 141–150.
- Зиновьева Н.А., Попов А.Н., Эрнст Л.К. Методические рекомендации по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве. Дубровицы: ВИЖ, 1998. 47 с.
- Айала Ф., Кайгер Д. Современная генетика. М.: Мир, 1988. 336 с.
- Меркурьева Е.К. Генетические основы селекции в скотоводстве. М.: Колос, 1977. 174 с.