

Методы днк-тестирования в селекции крупного рогатого скота

Methods of DNA testing in cattle breeding

Е.В. Ражина, аспирант

Уральского государственного аграрного университета

(Екатеринбург, ул. Карла Либкнехта, 42)

Рецензент: О.Г. Лоретц, доктор биологических наук, профессор

Уральского государственного аграрного университета

Аннотация

Представлена характеристика ДНК-методов, используемых в селекции сельскохозяйственных животных. Проведено генотипирование крупного рогатого скота по гену каппа-казеина в племенных хозяйствах Свердловской области. Рассмотрено соответствие наблюдаемого распределения генотипов каппа-казеина ожидаемому у подопытных коров.

Ключевые слова: ДНК-технологии, каппа-казеин, генотип, аллель.

Abstract

The characteristics of DNA-methods used in breeding of farm animals are presented. Genotyping of cattle for the kappa-casein gene in breeding farms of the Sverdlovsk region was carried out. The correspondence of the observed distribution of kappa-casein genotypes to the expected distribution in experimental cows is considered.

Keywords: DNA technology, Kappa-casein, genotype, allele.

Ускоренное развитие молочного скотоводства в настоящее время, как в России, так и в Свердловской области, возможно при внедрении современных молекулярно-генетических методов. Особое внимание исследователей привлекают методы ДНК-тестирования [1, 5].

Одним из распространенных в ДНК-исследованиях является метод полиморфизма длин рестрикционных фрагментов (ПДРФ). Метод основан на применении специальных ферментов рестриктаз, которые распознают короткую последовательность нуклеотидов и разрезают молекулу ДНК в определенных местах на фрагменты. Продукты рестрикции разделяются электрофорезом. На основании полос в геле, по длине фрагментов устанавливают гомозиготный или гетерозиготный вариант аллеля.

Не менее известным является метод полимеразной цепной реакции (ПЦР), основанный на копировании участка ДНК между 2 праймерами.

Метод аллель-специфичной ПЦР заключается в применении ДНК-зондов с флюорофорами, на основании которых устанавливаются аллели генов.

ПЦР-ПДРФ анализ основан на полимеразной цепной реакции, имеющей сочетание с рестрикционным анализом амплифицированного фрагмента [3, 5].

С открытием методов полимеразной цепной реакции (ПЦР) и последующего анализа полиморфизма длин рестриктивных фрагментов продуктов ампликации (ПДРФ) становится возможным установить генотипы по локусам генов молочных белков.

Исследователями разработан метод полиморфизма митохондриальной ДНК, материнский цитоплазматический эффект положительно влияет на показатели молочной продуктивности коров [5].

В мировой практике проводится селекция животных с помощью полиморфизма единичного нуклеотидного сайта (SNP). Становится возможным тестировать большое количество аллелей с использованием ДНК-микрочипов. ДНК-микрочипы применяют для выявления генотипов разных видов генов и исследований мутационных спектров. Небольшие пластины или мембраны с различными биологическими пробами (ДНК, РНК, белки) называют чипами. С применением микрочипов возможно получить маркеры, равномерно распределенные по геному [3, 4].

В настоящее время в селекции крупного рогатого скота широко используются ДНК-маркеры. Метод геномной селекции подразумевает применение ДНК-маркеров, проведение генотипирования и фенотипирования, отбора по генотипу [6]. С возникновением технологии геномной селекции становится возможным одновременно отбирать множество полиморфных локусов, характеризующих селектуемый признак. Для проведения генотипирования популяции осуществляется геномное секвенирование с поиском и анализом однонуклеотидных полиморфизмов. С усовершенствованием методик по секвенированию появляется возможность осуществлять генотипирование по 1000 маркеров [3, 4, 6].

Современные методы молекулярной генетики и биологии способны более эффективно выявлять и охарактеризовать гены, отвечающие за количественные признаки животных [5].

Материалы и методы.

Цель исследования – проведение генотипирования коров по локусу гена каппа-казеина.

Исследования проводились на выборке голштинизированных коров в племенных организациях Свердловской области (СПК «Колхоз имени Свердлова» – Опыт 1; ОАО «Учхоз Уралец» – Опыт 2) с использованием ДНК. Биологическим материалом для исследований являлись образцы цельной крови. Генотипы каппа-казеина определялись в лабо-

ратории УрНИВИ согласно методу полимеразной цепной реакции с последующим анализом длин рестрикционных фрагментов. Частота встречаемости генотипов и аллелей каппа-казеина рассчитана по формулам на основании общепринятых методик. Теоретически ожидаемое количество генотипов определяли по закону Харди-Вайнберга [2]. Соответствие фактически полученного распределения генотипов теоретически ожидаемому рассчитывали на основании критерия хи-квадрат, по формуле:

$$\chi^2 = \sum \frac{(\Phi - T)^2}{T}, \text{ где}$$

Φ – фактически полученная частота генотипа,

T – теоретически ожидаемая частота генотипа.

Результаты исследований.

По результатам исследований животных разделили на 3 группы по генотипу каппа-казеина (таблица 1 и рисунок 1).

Таблица 1

Генотипирование крупного рогатого скота по гену каппа-казеину

Генотип каппа- казеина	Частота генотипов, %		Частота аллелей		χ^2
	Фактически полученная (наблюдаемая)	Теоретически ожидаемая	А	В	
Опыт 1					
АА	62,20	62,41	0,79	0,21	0,052
АВ	32,93	33,18			
ВВ	4,88	4,41			
Опыт 2					
АА	58,14	53,29	0,73	0,27	5,16
АВ	30,23	39,42			
ВВ	11,63	7,29			
В целом по группам					
АА	60,17	57,85	0,76	0,24	2,61
АВ	31,58	36,30			
ВВ	8,26	5,85			

На основании данных, большее число животных в 2 опытных группах имели генотип AA каппа-казеина (62,20% и 58,14%). АВ генотип выявлен у 32,93% и 30,93% коров. Только 4,88% и 11,63% подопытных животных имели гомозиготный генотип ВВ. Частота встречаемости аллелей А и В каппа-казеина в 2 хозяйствах составила: А – 0,79 и 0,73, В – 0,21 и 0,27. В опытной группе 2 отмечено снижение аллеля А (на 0,06) и повышение аллеля В (на 0,06).

На рисунке 1 представлены результаты расчета соответствия фактически полученного (наблюдаемого) распределения генотипов по локусу гена каппа-казеина теоретически ожидаемому.

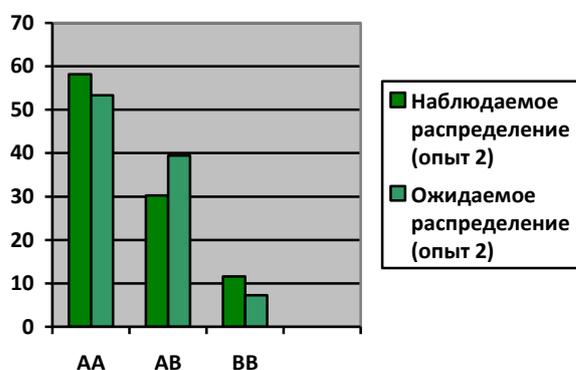
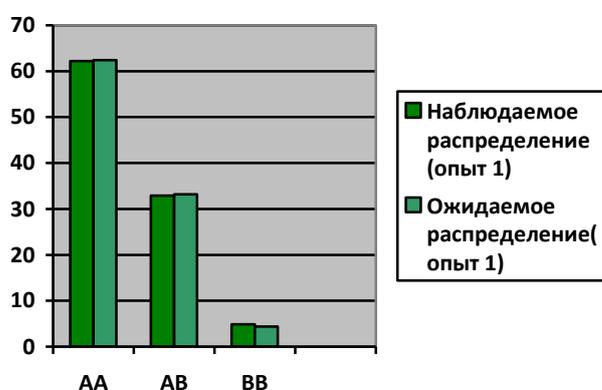


Рисунок 1. Наблюдаемое и ожидаемое распределение генотипов

Фактически полученная частота генотипов в опытной группе 1 отличается незначительно от теоретически ожидаемой : варианта AA ниже на 0,21%, АВ – ниже на 0,25%, ВВ – выше на 0,47%. В опытной группе 2 выявлены достоверные различия (при $p \leq 0,05$) между наблюдаемым и ожидаемым распределением. Наблюдаемая частота генотипа AA выше ожидаемой на 4,85%, АВ – ниже на 9,19%, ВВ – выше на 4,34%. Частота встречаемости гетерозиготных особей на 0,25% и 9,19% ниже ожидаемой. Значение оценочного критерия

χ^2 эмпирического (фактического) в опытной группе 1 – 0,052, в опыте 2 - 5,16. Следовательно, в популяции коров опытной группы 1 сохраняется генное равновесие.

Вывод.

Полученные результаты свидетельствуют о низкой частоте встречаемости желательного аллеля В каппа-казеина у голштиinizированного скота, что совпадает с результатами исследований многих ученых.

Библиографический список

1. *Лоретц О.Г.* Молочная продуктивность и технологические свойства молока различных генотипов по каппа-казеину // Ветеринария Кубани. 2014. №2. С. 6-8.
2. *Меркурьева Е.К., Шангин-Березовский Г.Н.* Генетика с основами биометрии. Учеб. пособие для высш. с.-х. учеб. заведений. М.: Колос, 1983. 400 с.
3. *Петухов С.С.* Биологическая сущность метода ДНК-тестирования для выявления генетических маркеров продуктивных качеств молочного скота / Инновационные направления развития АПК и повышение конкурентоспособности предприятий, отраслей и комплексов – вклад молодых ученых: Материалы XIX международной науч.-практич. конференции. Ярославль: Изд-во ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, 2016. С. 129-132.
4. *Перчун А.В.* Оценка костромской породы крупного рогатого скота по ДНК-маркерам хозяйственно-полезных признаков // Автореф. дисс. ...канд.биол.наук. П. Караваево, Костромская область, 2015. 121 с.
5. *Тамарова Р.В., Ярлыков Н.Г., Корчагина Ю.А.* Селекционные методы повышения белковомолочности коров с использованием генетических маркеров: монография. Ярославль, 2014. 114 с.
6. *Хлесткина Е.К.* Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Том 17. №4/2.
7. *Ionel Neamt Radu; Elena Ilie Daniela; Toma Csiszter L.* Effects of Sires Genotyping for kappa-Casein on B Allele Frequency in Romanian Brown Cattle // RESEARCH JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY. Vol. 12. Iss. 12. Pp. 9-13. Published: DEC. 2017.