

Молекулярная генетика

Рубрика

doi: 10.31043/2410-2733-2019-1-3-8

УДК 636.32/.38

Т. Е. Денискова¹, Н. А. Раджабов^{1, 2}, А. Н. Махмадшоев², В. А. Багиров¹, Н. А. Зиновьев¹

Генетическая характеристика локальных пород овец Республики Таджикистан на основе применения STR-маркеров

Аннотация. Природные условия Республики Таджикистан способствовали активному развитию овцеводства. В связи с этим, выведено большое количество выносливых и высокопродуктивных локальных пород. В настоящей работе представлено генетическое исследование овец гиссарской, таджикской и памирской тонкорунной пород с помощью микросателлитов. Полиморфизм 11 STR-локусов был изучен с использованием генетического анализатора. Статистическая обработка и визуализация данных были проведены в программах GenAIEx 6.503, PAST и Structure 2.3.4. Эффективное число аллелей варьировало от 2,81 у группы тонкорунных овец до 5,16 у группы таджикских овец. У таджикских, тонкорунных и гиссарских овец было обнаружено 5,73; 3,36 и 4,91 информативных аллелей на локус. Наибольший уровень генетического разнообразия обнаружен у таджикских овец. Во всех группах был зафиксирован дефицит гетерозигот, который составил 8,2%; 10,2% и 18,2% у овец таджикской, гиссарской и памирской тонкорунной пород, соответственно. На основе матрицы генетических дистанций по М. Нею по методу невзвешенного попарного среднего (UPGMA) построено филогенетические древо. Гиссарские и таджикские овцы формировали кластер в виду общности происхождения. Значения показателя *Fst* свидетельствовали об умеренной дифференциации и составили 0,123 между овцами гиссарской и таджикской пород; 0,189 между овцами тонкорунной и таджикской пород и 0,239 между овцами гиссарской и тонкорунной пород. Для установления принадлежности особи к группе проведен кластерный анализ в программе STRUCTURE. Все индивидуумы были отнесены к своим кластерам. Средние значения критерия членства в своем кластере были высокими во всех группах и составили $Q_{1/3}=0,967\pm 0,014$; $Q_{2/3}=0,990\pm 0,004$ и $Q_{3/3}=0,971\pm 0,010$ для овец таджикской, тонкорунной и гиссарской пород, соответственно. Таким образом, изучаемые группы овец являются четко обособленными друг от друга и характеризуются высокой внутрипородной консолидированностью. Исследования будут продолжены на большем поголовье.

Ключевые слова: домашняя овца; локальные породы; гиссарская порода; аллелофонд; генетическое разнообразие; STR-маркеры; идентификация.

Авторы:

Денискова Татьяна Евгеньевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, e-mail: horarka@yandex.ru;

Раджабов Наджбuddин Амиралиевич — кандидат сельскохозяйственных наук, заместитель директора по научной работе в Институте животноводства ТАСХН, докторант ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста, e-mail: najmudin_g63@mail.ru;

Махмадшоев Абдурахмон Наимович — кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник отдела овцеводства в Институте животноводства ТАСХН; e-mail: makhammadshoevvet@mail.ru;

Багиров Вугар Алиевич — доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник; e-mail: vijinfo@yandex.ru;

Зиновьев Наталия Анатольевна — доктор биологических наук, профессор, академик РАН, директор ФНЦ «ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», e-mail: n_zinovieva@mail.ru.

¹ Федеральный научный центр животноводства — ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, 142132, Московская область, Городской округ Подольск, поселок Дубровицы, д. 60;

² Институт животноводства Таджикской Академии сельскохозяйственных наук (ТАСХН), 734067, г. Душанбе, Гипрозем городок, д. 17.

Введение. Республика Таджикистан характеризуется преобладающим горным рельефом и специфическими климатическими условиями. Благодаря этим особенностям овцеводство является традиционной и наиболее популярной отраслью животноводства Таджикистана [1, 2]. На 2013 год в Республике разводили около 2,6 млн. овец [2], а совокупное поголовье овец и коз в 2017 год увеличилось на 60% по сравнению с 1991 годом [1].

В связи с этим, Таджикистан обладает большим разнообразием пород овец, наиболее популярными из которых являются гиссарская, джайтара, таджикская, каракульская и группа памирских тонкорунных овец [1]. Среди пород мясосального направления продуктивности выделяются гиссарская и таджикская породы овец.

Гиссарская порода выведена народной селекцией племенами кочевников в условиях круглогодичного пастбищного содержания в Таджикистане [3]. Гиссарские овцы характеризуются крупными размерами и крепким костяком, выносливы и хорошо приспособлены к длительным переходам [3]. Более 50% овец в Республике представлено именно гиссарской породой [1]. Кроме того, данная порода используется для улучшения мясосальных качеств как курдючных, так и аборигенных пород Таджикистана и Киргизии [1, 3].

Таджикская порода получена в результате сложного воспроизводственного скрещивания гиссарских маток с сараджинскими баранами с введением небольшого числа линкольн-гиссарских помесей. Таджикские овцы унаследовали лучшие качества от материнской (высокие мясосальные качества) и отцовской (ценная для производства ковров шерсть) пород [1, 4].

Группа памирских тонкорунных овец была получена на основе воспроизводственного скрещивания малопродуктивных дарвазских овцематок с баранами вюртембергской и киргизской пород [1]. Порода используется как для получения диетического мяса, так и для получения шерсти. Более подробная характеристика перечисленных пород представлена в таблице 1.

Несмотря на популярность представленных пород в Таджикистане, до настоящего момента не проводилось их исследование с помощью ДНК-маркеров. Выбор микросателлитов, или STR-маркеров, характеризующихся высокой информативностью и полиморфизмом, позволит получить данные о генетическом разнообразии и современном состоянии аллелофонда локальных пород овец.

Цель и методика исследований. Целью настоящей работы явилась характеристика аллелофонда, оценка генетического разнообразия и изучение генетических взаимоотношений представителей пород овец Таджикистана с помощью STR-маркеров.

Биологическим материалом для молекулярно-генетического исследования служили ушные выщипы, отобранные от овец таджикской (n=14), тонкорунной (n=4) и гиссарской пород (n=15). Работа выполнена на базе лаборатории молекулярных основ селекции ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста. ДНК выделяли с помощью наборов ДНК-Экстрон (ЗАО «Синтол», Россия) и «СОг-DIS ЭКСТРАКТ» (ООО «Гордиз», Россия) в соответствии с протоколами фирм-производителей.

Исследование проводилось по 11 микросателлитным локусам, в том числе OarCP49, INRA063, HSC, OarAE129, MAF214, OarFCB11, INRA005,

Таблица 1. Характеристика изучаемых пород овец Таджикистана

Параметр	Порода (группа)		
	Гиссарская	Таджикская	Памирские тонкорунные
Направление продуктивности	Мясо-сальное	Мясо-сальное, шерстное (ковровое)	Мясо-шерстное
Тип шерсти	Грубая	Полугрубая	Тонкая
Тип хвоста	Курдюк	Курдюк	Тощий
Живая масса	135–140 кг бараны, 85–90 кг матки	100–100 кг бараны, 60–70 кг матки	85–90 кг бараны, 55–60 кг матки
Продуктивность	Приrostы живой массы по 280–300 г/сут. Убойный выход до 65%	Настриг немытой шерсти от 2,5 (до 4–6 кг). Убойный выход 51–53% (до 60%).	Убойный выход 52–53% (до 57%). Настриг 4–7 кг, выход чистого волокна 50–52%.
Плодовитость	101–103 (до 115)	100–105	120–125
Племенная база	ПЗ «Гиссар», ФХ «Дилшод», КППХ «Баракат»	ПЗ им. Шерназарова ХуроСонского, ПФХ «Таджикистан»	ПХ «Сагирдашт», «Кангурт» и «Олучабулок», «Тебалай».

Примечание: составлена по данным Рахимова Ш. Т. и Раджабова Н. А. [1].

SPS113, INRA23, MAF65 и McM527, которые были объединены в две мультиплексные панели. Исследование полиморфизма в перечисленных локусах выполняли на генетическом анализаторе ABI3130xl («Applied Biosystems», США). Размеры аллелей получены с использованием программного обеспечения Gene Mapper v. 4 («Applied Biosystems», США).

В программе GenAIEx 6.503 [5] рассчитаны: среднее число аллелей на локус, эффективное число аллелей, число информативных аллелей, которые встречаются с частотой более 5 %, ожидаемая и наблюдаемая гетерозиготность, коэффициент инбридинга.

Степень генетической дифференциации пород оценивали по значениям показателя F_{ST} [6] и генетическим дистанциям по М. Нею (D_N) [7], рассчитанным попарно. В программе PAST [8] по методу невзвешенного попарного среднего (UPGMA) построено филогенетическое древо, визуализирующее матрицу генетических дистанций по М. Нею.

Принадлежность особи к своему кластеру была проанализирована в программе Structure 2.3.4 [9] без введения предварительной информации о происхождении овец.

Результаты. В таблице 2 продемонстрированы основные показатели, характеризующие аллелофонд и уровень генетического разнообразия. По среднему количеству аллелей на локус группа таджикских овец незначительно превосходила группу гиссарских овец: 7,73 и 7,27 аллелей, соответственно. Эффективное число аллелей варьировало от минимального у группы тонкорунных овец ($2,81 \pm 0,37$) до максимального у группы таджикских овец ($5,16 \pm 0,81$). Все аллели, иденти-

фицированные у овец тонкорунной породы, были информативными, в то время как 74,1% и 67,5% аллелей у овец таджикской и гиссарской пород, соответственно, встречались с частотой более 5%. Во всех изучаемых выборках овец обнаружены приватные аллели, которые встречались только у одной из групп, а именно: 2,36; 1,64 и 2,09 аллелей у овец таджикской, тонкорунной и гиссарских пород, соответственно.

При оценке уровня генетического разнообразия установлено, что наибольший уровень наблюдаемой гетерозиготности был зафиксирован у овец таджикской породы (табл. 3). Во всех выборках наблюдался дефицит гетерозигот, который соответствовал положительным значениям коэффициента инбридинга и варьировал от 8,2% у овец таджикской и 10,2% гиссарской породы до 18,2% у овец тонкорунной породы. Полученные умеренно-высокие значения коэффициента инбридинга, скорее всего, связаны с тем, что пробы для анализа были отобраны у родственных животных. Значения информационного индекса Шеннона от 1,5 и выше у таджикской и гиссарской пород свидетельствовали о достаточном уровне биоразнобразия в этих группах.

На рисунке 1 представлены результаты анализа по определению популяционной принадлежности особей. Показано, что, несмотря на некоторую генетическую близость овец гиссарской и таджикской пород, 100% особей каждой из пород были генетически отнесены к собственной породе.

На рисунке 2 продемонстрировано филогенетическое дерево генетических взаимоотношений между овцами таджикской, тонкорунной и гиссарской пород. Группа тонкорунных овец образует

Таблица 2. Характеристика аллелофонда овец таджикской, тонкорунной и гиссарской пород

Порода	n	Среднее число аллелей	Эффективное число аллелей	Информативное число аллелей
Таджикская	14	7,73±0,91	5,16±0,81	5,73±0,60
Тонкорунная	4	3,36±0,47	2,81±0,37	3,36±0,47
Гиссарская	15	7,27±1,18	4,54±0,89	4,91±0,78

Примечание: *n — количество голов в выборке; все показатели рассчитаны на 1 микросателлитный локус.

Таблица 3. Уровень генетического разнообразия овец таджикской, тонкорунной и гиссарской пород

Порода	n	Гетерозиготность		Коэффициент инбридинга	Индекс Шеннона
		Наблюдаемая	Ожидаемая		
Таджикская	14	0,675± 0,068	0,757±0,036	0,104	1,709±0,143
Тонкорунная	4	0,409±0,091	0,591±0,068	0,302	1,065±0,139
Гиссарская	15	0,562±0,098	0,664±0,080	0,182	1,523±0,219

отдельную ветвь, в то время как животные гиссарской и таджикской пород образует кластер, что является логичным, так как гиссарская порода была использована при выведении таджикской породы [4].

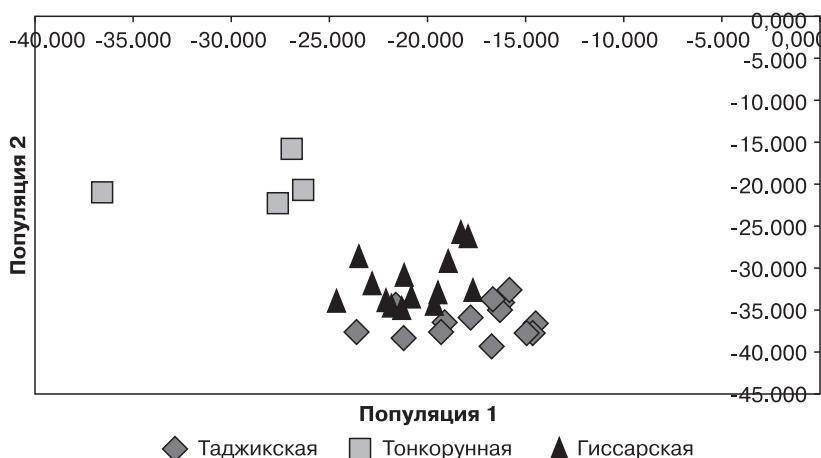


Рис. 1. Определение популяционной принадлежности особей

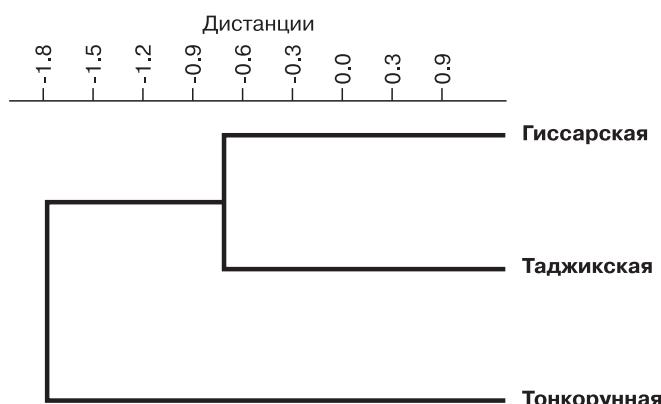


Рис. 2. Филогенетическое дерево генетических взаимоотношений между овцами таджикской, тонкорунной и гиссарской пород построенное на основе матрицы попарных генетических дистанций по М. Нею

Значения показателя Fst также подтверждают более близкую генетическую связь овец гиссарской и таджикской пород ($Fst=0,123$) и удаленность тонкорунной породы ($Fst=0,189$ и $0,239$ с таджикской и гиссарской породами, соответственно).

Для установления принадлежности особи к своей популяции был проведен кластерный анализ в программе STRUCTURE с выбором наиболее вероятного числа популяций (K), равного 3 (рис. 3). В целом, особи были четко отнесены к своей породе, о чем свидетельствует формирование обособленных кластеров. Значения критерия членства в своей группе (или критерия Q) варьировали от 0,812 до 0,994 в выборке овец таджикской породы, от 0,980 до 0,996 — в выборке тонкорунной породы и от 0,848 до 0,994 — в выборке гиссарской породы. Средние значения критерия членства в своем кластере были высокими во всех группах и составили $Q_{1/3}=0,967\pm0,014$; $Q_{2/3}=0,990\pm0,004$ и $Q_{3/3}=0,971\pm0,010$ для овец таджикской, тонкорунной и гиссарской пород, соответственно.

Выводы. Рекомендации. В настоящей работе было показано, что овцы гиссарской, таджикской пород и памирской тонкорунной группы являются четко обособленными. Внутри выборок отмечена высокая консолидация, что свидетельствует о чистопородном разведении и устоявшемся генофонде представленных животных. Для более досконального генетического анализа локальных пород Таджикистана необходимо увеличить количество исследуемых голов.

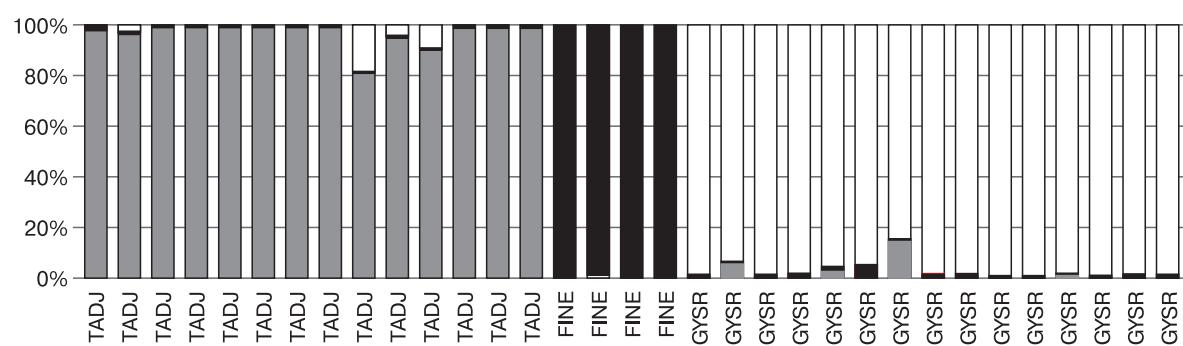


Рис. 3. Структура популяций овец таджикской, тонкорунной и гиссарской пород

При выполнении исследований использовано оборудование Центра коллективного пользования научным оборудованием «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л. К. Эрнста.

Работа проведена в рамках выполнения фундаментальных научных исследований Министерства науки и высшего образования РФ по теме 0445-2019-0026, № 6 (AAAA-A18-118021590138-1)

Литература

1. Рахимов Ш. Т. Породные ресурсы овец Таджикистана / Ш. Т. Рахимов, Н. А Раджабов // Овцы, козы, шерстяное дело. — 2017. — № 1. — С. 30–33.
2. Хайитов А. Х. Состояние и перспективы овцеводства в Таджикистане / А. Х. Хайитов, К. М. Курбонов // Овцы, козы, шерстяное дело. — 2013. — № 2. — С. 112–113.
3. Эрнст Л. К., Дмитриев Н. Г., Паронян И. А. (Ред.) Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных в России и сопредельных странах. СПб.: Изд-во ВНИИГРЖ, 1994.
4. Николаев А. И. (Ред.) Овцеводство. З-е изд., перераб. М.: Колос, 1964.
5. Peakall R. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update / R. Peakall, P. E. Smouse // Bioinformatics. — 2012. — № 28. — P. 2537–2539.
6. Weir B. S. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure / B. S. Weir, C. C. Cockerham // Evolution. — 1984. — № 38(6). — P. 1358–1370.
7. Nei M. Genetic distance between populations / M. Nei // American Naturalist. — 1972. — № 106. — P. 283–392.
8. Hammer O. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis / O. Hammer, D.A.T. Harper, P. D. Ryan // Palaeontologia Electronica. — 2001. — № 4(1). — P. 4–9.
9. Prichard J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data / J. K. Prichard, M. Stephens, P. Donnelly // Genetics. — 2000. — № 155. — P. 945–959.

Deniskova T.¹, Radjabov N.^{1,2}, Makhmadshoev A.², Bagirov V.¹, Zinovieva N.¹

Genetic assessment of local sheep breeds of the Republic of Tajikistan based on STR markers

Abstract. The natural conditions of the Republic of Tajikistan had promoted the rise of sheep breeding. In this regard, many hardy and highly productive local breeds were obtained. Here, we presented a genetic study of the Gissar, Tajik and Pamir fine-fleeced sheep based on microsatellites. The polymorphism of 11 STR loci was studied using a genetic analyzer. Statistical processing and data visualization were performed in software GenAlEx 6.503, PAST and Structure 2.3.4. The effective number of alleles varied from 2.81 in the group of fine-fleeced sheep to 5.16 in the group of Tajik sheep. There were found 5.73; 3.36 and 4.91 informative alleles per locus in the Tajik, fine-fleeced and Gissar sheep, respectively. The highest level of genetic diversity was identified in the Tajik sheep. In all groups, there was a deficit of heterozygotes, which was 8.2%; 10.2% and 18.2% in the Tajik, Gissar and Pamir fine-fleeced sheep breeds, respectively. Based on the matrix of Nei's genetic distances, a phylogenetic tree was constructed using UPGMA method. The Gissar and Tajik sheep formed a cluster according their common origin. The pairwise Fst values showed a moderate differentiation and were 0.123 between the Gissar and Tajik sheep; 0.189 between the Pamir fine-wool and Tajik sheep and 0.239 between the Gissar and Pamir fine-wool sheep. To establish the individual assignment to a group, cluster analysis was performed in STRUCTURE. All sheep were assigned to their own clusters. The average values of the membership criterion in own cluster were high in all groups and were to $Q_{1/3}=0.967\pm0.014$; $Q_{2/3}=0.990\pm0.004$ and $Q_{3/3}=0.971\pm0.010$ for the Tajik, Pamir fine-fleeced and Gissar sheep, respectively. Thus, the studied sheep groups are clearly differentiated and are characterized by high withinbreed consolidation. Research will be continued on a larger sample.

Key words: domestic sheep; local breeds; Gissar breed; allele pool; genetic diversity; STR markers; identification.

Authors:

Deniskova T. — PhD (Biol. Sci), senior researcher, e-mail: horarka@yandex.ru;

Radjabov N. — PhD (Agricultural Sciences), Deputy Director for Research of the Institute of Animal Husbandry of TAAS, doctoral student of L. K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry, e-mail: najmudin_r63@mail.ru;

Makhmadshoev A. — PhD f Veterinary Sciences, leading researcher of the Sheep Breeding Department of the Institute of Animal Husbandry of TAAS; e-mail: makhmadshoevvet@mail.ru;

Bagirov V. — Dr. Habil (Biol. Sci), Professor, Corresponding Member of the RAS, leading researcher, e-mail: vijinfo@yandex.ru;

Zinovieva N. — Dr. Habil (Biol. Sci), Academician of RAS, Director, e-mail: n_zinovieva@mail.ru.

¹ Federal Science Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, 142132, Moscow region, Podolsk city district, Dubrovitsy settlement, 60;

² Institute of Animal Husbandry of the Tajik Academy of Agricultural Sciences (TAAS), 734067, Dushanbe, Giprozem town, 17.

References

1. Rakhimov Sh. T. Breed resources of sheep of Tajikistan /Sh. T. Rakhimov, N.A. Rajabov // Ovtsy, kozy, sherstyanoe delo. — 2017. — № 1. — P. 30–33
2. Khayitov A. Kh. State and prospects of sheep farming in Tajikistan / A. Kh. Khayitov, K. M. Kurbonov // Ovtsy, kozy, sherstyanoe delo. — 2013. — № 2. — P. 112–113
3. Ernst L. K., Dmitriev N. G., Paronyan I. A. (Eds.) Genetic Resources of Agricultural Animals in Russia and Neighboring Countries. SPb.: Publishing house VNIIGRZH, 1994.
4. Nikolaev A. I. (Eds.) Sheep breeding. 3rd ed. M.: Kolos, 1964.
5. Peakall R. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update / R. Peakall, P. E. Smouse // Bioinformatics. — 2012. — № 28. — P. 2537–2539.
6. Weir B. S. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure / B. S. Weir, C. C. Cockerham // Evolution. — 1984. — № 38(6). — P. 1358–1370.
7. Nei M. Genetic distance between populations / M. Nei // American Naturalist. — 1972. — № 106. — P. 283–392.
8. Hammer O. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis / O. Hammer, D.A.T. Harper, P. D. Ryan // Palaeontologia Electronica. — 2001. — № 4(1). — P. 4–9.
9. Prichard J. K. Inference of population structure using multilocus genotype data / J. K. Prichard, M. Stephens, P. Donnelly // Genetics. — 2000. — № 155. — P. 945–959.