Козлова Л.Г.

Исследование ДНК полиморфизма двух линий жеребцов-производителей якутской породы методом RAPD-PCR

*ФГБНУ Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства
им. М.Г. Сафронов
(Россия, Якутск)*

doi: 10.18411/lj-10-2018-133

idsp: 000001:lj-10-2018-133

Аннотация

Табунное мясное коневодство является традиционной и рентабельной отраслью животноводства Республики Саха (Якутия). В республике разводятся 3 породы: якутская, приленская и мегежекская. Цель работы: оценка генетической однородности микропопуляций лошадей для определения степени их генетического сходства. Образцы ДНК, выделенные от волосных луковиц двух линий лошадей анализировали с использованием 18 праймеров. По полученным данным более полиморфными являются праймеры ОРА 07, ОРА 09, ОРА 10, ОРА 18 и ОРВ 18. Большинство праймеров амплифицирует фрагменты размером от 350 до 1000 п.н. Исключение составляет последовательность праймера ОРА 02, который отсутствует в обеих линиях лошадей. В то же время праймер ОРА 06 фрагмент 1200 п.н. присутствует только у кобылы линии жеребца «Куобах». В остальных пробах двух линий жеребцов наблюдается равномерное распределение фрагментов по всему диапазону длин. RAPD анализ может служить своеобразным экспресс - методом выявления генетического полиморфизма, что особенно актуально для малоизученных популяций животных, а также как источник уникальных локусов – специфичных маркеров.

Ключевые слова: лошади, порода, ДНК, RAPD-ПЦР, полиморфизм, праймеры.

Табунное мясное коневодство является традиционной и рентабельной отраслью животноводства Республики Саха (Якутия). Из существующих в мире лошадей, породы табунных лошадей Якутии являются самыми северными. В республике разводятся 3 породы: якутская, включающая три типа: коренной, колымский и янский, приленская и мегежекская. Они созданы методом народной селекции и отличаются высокой приспособленностью к суровым природно-климатическим условиям, круглый год пасутся под открытым небом, почти не нуждаются в дополнительном кормлении, способны к быстрому нагулу и жиरोотложению.

Аборигенная якутская лошадь как самостоятельная порода, была признана приказами (1987) Госагропрома СССР от 2 сентября № 860 и Госагропрома РСФСР от 1 октября № 871. Патентообладатель Якутская НИИСХ. Область ее разведения на территории Республики Саха (Якутия) простирается далеко за северный полярный круг в лесотундру [1]. Якутская порода разводится в чистоте, и её совершенствование осуществляется отбором и подбором желательных типов. Лошади этого типа разводятся в хозяйствах Центральной и Вилюйской группе районов. Средние показатели промеров и живой массы: жеребцов – 138,7-147,4-180,5-20,1 см-464,5 кг; кобылы – 136,0-143,6-173,3-18,4 см-421,0 кг. Генетический потенциал живой массы лошадей коренного типа: жеребцы – 430-490 кг; кобылы – 415-470 кг. Убойный выход: жеребят 6-7 месяцев – 55,3%; Взрослые лошади – 53,3%. Молочная продуктивность кобыл – 1600 л молока за 6 месяцев лактации.

Приленская порода выведена прилитием крови лошадей орловского рысака и русской тяжеловозной пород лошадям якутской породы. Лошади этой породы сравнительно крупные, имеют хорошо выраженные мясные формы. Средние показатели промеров и живой массы: жеребцов – 142,1–150,4 –182,6–20,1 см и 482,1 кг; кобыл – 138,0–146,2–173,9–18,5 см и 432,0 кг. Генетический потенциал живой массы лошадей

приленской породы: жеребцы-производители – 450 – 560 кг; кобыл – 430-530 кг. Убойный выход: жеребят 6-7 месяцев – 56,2 %, взрослые лошади – 55,6 %. Молочная продуктивность кобыл – 1660 л молока за 6 месяцев лактации. Патентообладатель Якутская НИИСХ, патент селекционного достижения № 5770 от 16.02.2011 г. [2].

Мегежекская порода выведена прилитием крови лошадей кузнецкой и русской тяжеловозных пород лошадям якутской породы. Лошади этой породы крупные, массивные, с длинным бочкообразным корпусом и хорошо развитой мускулатурой, которые характерны для лошадей мясной продуктивности. Средние показатели промеров и живой массы жеребцов: жеребцов – 143,8 – 154,6 – 190,1 – 20,6 см и 514,2 кг; кобыл – 140,7 – 150,0 – 181,5 – 18,9 см и 461,7 кг. Генетический потенциал живой массы лошадей мегежекской породы: жеребцов-производителей – 470 -610 кг; кобыл – 450-580 кг. Убойный выход: жеребят – 6-7 месяцев – 56,15%; взрослых лошадей – 55,90%. Молочная продуктивность кобыл – 2393 л молока за 6 месяцев лактации. Патентообладатель Якутская НИИСХ, патент селекционного достижения № 5773 от 16.02.2011 г. [2].

В настоящее время во всем мире ведется активная работа по изучению и сбережению местных пород. Практически любая локальная порода – это резерв наследственных качеств, использование которых может понадобиться в будущем. Такие признаки аборигенных пород, как адаптивность к местным внешним условиям, высокое качество продукции, крепкая конституция, высокая плодовитость и большая продолжительность жизни, могут найти применение при создании животных, способных приспосабливаться к новым биотехнологиям. Чем дольше популяция животных подвергается экстремальному средовому воздействию, тем выше вероятность эволюции адаптивных признаков. Местные породы животных могут быть использованы в скрещиваниях с целью создания новых форм, лучше приспособленных к экстремальным условиям среды [3]. Цель работы: оценка генетической однородности микропопуляций лошадей для определения степени их генетического сходства.

Изучение генофонда местных пород лошадей представляет интерес в плане оригинальности генетической структуры и выявлении полигенов отвечающих за высокие адаптивные качества животных. Местные породы лошадей не только обладают исключительно высокими адаптивными качествами, но и являются живыми памятниками культуры создавших их народов и представляют огромную историко-этнографическую ценность. Так, уже в самом начале работ по ДНК-тестированию было открыто огромное число фрагментов, ранее не описанных зарубежными исследователями. Лидируют по этому показателю ахалтекинская, башкирская, тувинская и якутская породы. Каждый из этих фрагментов может стать новым маркером адаптивных и хозяйственно-полезных признаков [4]. Самый высокий уровень полиморфности исследованных локусов был отмечен у аборигенных пород лошадей, хорошо приспособленных к существованию в природных условиях: якутской [5] мезенской, вятской. Высокий уровень полиморфности маркерных генов аборигенных пород лошадей, а также их высокий приспособительный потенциал позволяет в будущем использовать их генофонд в качестве источника потенциальных хозяйственно-полезных признаков [6]. Именно перечисленные особенности, отличающие местные породы от широко распространенных иностранных, необходимо сохранять в племенных хозяйствах. Исследования последних лет, проведенные в лаборатории иммуногенетики ВНИИК показали, что маркерные гены могут быть успешно использованы в выявлении генетических особенностей пород и генетической паспортизации пород и популяций.

При сохранении пород основная задача состоит в том, чтобы не утратить специфические генные комплексы, которые обуславливают фенотипические породные характеристики, связанные с экстерьерными особенностями, продуктивностью, жизнеспособностью, резистентностью животных. Молекулярно-генетическая характеристика популяции якутской лошади является важным вкладом в систему пока

еще немногочисленных знаний о генофондах популяций аборигенных лошадей Сибири [7].

До настоящего времени в республике Саха (Якутия) у местных пород лошадей не проводилось изучение генетической структуры методом RAPD-PCR. Для первичных поисковых исследований по выведению новых высокопродуктивных линий коренного типа якутской породы проведено тестирование двух линий лошадей из ГУП «Конезавод им. Героя Попова» с. Сыымах Мегино-Кангаласского улуса на определение достоверности происхождения потомства. В молекулярно-генетической лаборатории ЯНИИСХ ДНК из волосяных луковиц от лошадей коренного типа по принципу отец-мать-сын выделялась сорбентным методом с использованием 18 десятичленных олигонуклеотидных праймеров с помощью набора «АмплиПрайм ДНК-сорб-В» (производитель ООО «НекстБио»), согласно рекомендациям изготовителя и современных приборов: термоциклер Tprofessional фирмы Biometra; камера для горизонтального электрофореза SE-1, изготовлена ООО «Биоклон»; трансиллюминатор, изготовлен «НПФ Биоклон» и видеосистема «GEL-IMAGER 2» (табл. 1).

Таблица 1

RAPD-праймеры, использованные для ДНК-амплификации образцов лошадей коренного типа якутской породы

Праймер	Нуклеотидная последовательность 5' 3'	Температура отжига
ОРА02	TGC CGA GCTG	360 С
ОРА06	GGT CCC TGAC	360 С
ОРА07	GAA ACG GGTG	360 С
ОРА08	GTG ACG TAGG	36 С
ОРА09	GGG TAA CGCC	360 С
ОРА10	GTG ATC GCAG	360 С
ОРА11	CAA TCG CCGT	360 С
ОРА12	TCG GCG ATAG	360 С
ОРА15	TTC CGA ACCC	360 С
ОРА17	GAC CGC TTGT	360 С
ОРА18	AGG TGA CCGT	360 С
ОРВ13	TTC CCC CGCT	360 С
ОРВ 15	GGA GGG TGTT	360 С
ОРВ 18	CCA CAG CAGT	360 С
ОРВ20	GGA CCC TTAC	360 С
ОРС02	GTG AGG CGTC	360 С
ОРС03	GGG GGT CTTT	360 С
ОРС 05	GAT GAC CGCC	360 С

Образцы ДНК, выделенные от волосяных луковиц двух линий лошадей анализировали с использованием 18 праймеров (табл. 2). По полученным данным более полиморфными являются праймеры ОРА 07, ОРА 09, ОРА 10, ОРА 18 и ОРВ 18. Большинство праймеров амплифицирует фрагменты размером от 350 до 1000 п.н. Исключение составляет последовательность праймера ОРА 02, который отсутствует в обеих линиях лошадей. В то же время праймер ОРА 06 фрагмент 1200 п.н. присутствует только у кобылы линии жеребца «Куобах». В остальных пробах двух линий жеребцов наблюдается равномерное распределение фрагментов по всему диапазону длин.

Таблица 2

Размер фрагментов, полученных в ходе RAPD-PCR от двух линий жеребцов-производителей якутской породы

Линия жеребца «Куобах»				Линия жеребца «Дьоллоох»		
Праймеры	Отец ГП-4/1 1996 г.р.	Сын ГП-15-2 2015 г.р.	Мать ГП- 7-6 1996 г.р.	Отец ГП-5-1	Сын ГП-5-1 2015 г.р.	Мать ГП-25
ОРА02	-	-	-	-	-	-
ОРА06	-	-	1200	-	-	-

ОРА07	700 650 550	600 550 450	700 650	700 650 550	700 500	700 650
ОРА08	1300 900	1000 900 700 500	1400 850	-	800 750 600	850 800
ОРА09	1000 650 550	900 800 700 600 500	1100 950	1000 950 650 600	1000 900 700 500	650 600
ОРА10	1100 700 450	1000 900 800 700	1100 1000 850 750	1200 750	1000 700 400	1200 950
ОРА11	1100 600 350	900 500 250	-	1200 1000 350	1000 700 650 250	1000 350
ОРА12	1200 850 420	1200 800 700 380	1400 730 450	1400	1300 700 400	1300 1100 750 350
ОРА15	700	800 700	1000 900 750 700	900 700	900 800 700	1000 850 620
ОРА17	1200 900	850 700	1100 950 850	1100	1100 900	1100 900 850
ОРА18	1300 1000 620	700 400	900 600	1100 600	900 600	1000 600
ОРВ13	1200 600	800 380	-	950 750	1100 900 600	1100 600
ОРВ15	1000 800	-	-	1000 700	-	900 550
ОРВ 18	1100 900	-	-	1000 900	900	1000 850
ОРВ20	1500 1000 800	1000 900 700 400	1500 1100 850	1400 1000	1200 1000 800	1500 1200 900 750
ОРС02	900 500	600 400 300	1500 1100 900	500	1000 700 500	1000
ОРС03	900 850	500	800	800	-	850
ОРС 05	850 700	800 700 450	900 750	900 700	1400 1000 800 700	700

Полученные данные показывают, что между двумя линиями лошадей коренного типа якутской породы выявлено меньше различий по размерам фрагментов ДНК. С нашей точки зрения, это может свидетельствовать как о консолидированности двух линий лошадей и единой селекционной стратегии разведения, так и достаточно близком родстве исследованных групп лошадей.

При сохранении пород основная задача состоит в том, чтобы не утратить специфические генные комплексы (или сбалансированную систему генов), которые обуславливают фенотипические породные характеристики, связанные с экстерьерными особенностями, продуктивностью, жизнеспособностью, резистентностью животных. Именно перечисленные особенности, отличающие местные породы от других широко распространенных пород лошадей, необходимо сохранять в племенных коневодческих хозяйствах.

Полученная информация позволит оценить генетическую однородность исследуемых микропопуляций, генетические связи между ними и оценить степень генетического сходства между микропопуляциями лошадей. Таким образом, RAPD анализ может служить своеобразным экспресс - методом выявления генетического полиморфизма, что особенно актуально для малоизученных популяций животных, а также как источник уникальных локус – специфичных маркеров.

1. Лошадь якутской породы: внутривидовые типы, хозяйственные и биологические особенности / Н.Д. Алексеев, Н.П. Степанов // Достижения науки и техники АПК. 2006. № 5. С. 8-10.
2. Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова - 60 лет на службе научного обеспечения сельского хозяйства Якутии [Текст]: брошюра / Отв. ред.: А.Д. Решетников; сост.: А.Д. Решетников, В.В. Романова, С.А. Павлова, Н.А. Николаева, А.И. Барашкова; Федер. агентство науч. организаций России, Федер. гос. бюджет. науч. учреждение «Якут. науч.-исслед. ин-т сел. хоз-ва им. М. Г. Сафронова». – Якутск: ОАО "Медиа-холдинг Якутия", 2016. 48 с.
3. Проблема сохранения генофондов domesticированных животных / Ю.А. Столповский, И.А. Захаров-Гезехус // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017. № 21(4). С. 477-486.
4. Дополнительные возможности метода ДНК-анализа в коневодстве / В.В. Калашников, М.М. Дергунова, А.М. Зайцев, Л.А. Храброва, М.А. Зайцев // FARM ANIMALS. 2013. № 3,4. С. 72 – 74.
5. Гурьев И. П. Генетическая характеристика лошадей колымского типа якутской породы // Сборник научных трудов Всероссийского научно-исследовательского института овцеводства и козоводства. Ставрополь. Т.2. 2009. № 2-2. С. 29-32.
6. Полиморфизм структурных генов и ISSR-PCR маркеров при популяционно-генетических исследованиях некоторых пород крупного рогатого скота / А.В. Городная, В.И. Глазко // Цитология и генетика. 2006. № 1. С. 49 – 56.
7. Кузнецова М.М. Генетическая структура и филогенетические связи аборигенных пород лошадей Западной Сибири: автореф. дис. ... канд. биол. наук: Дубровицы, 2011. 15с.

Комаров Е.В., Комарова О.П.

Влияние орошения на формирование энтомокомплексов агроландшафтов Нижнего Поволжья

*Всероссийский научно-исследовательский институт орошаемого земледелия
(Россия, Волгоград)*

doi: 10.18411/lj-10-2018-134

idsp: 000001:lj-10-2018-134

Аннотация

В статье рассмотрена роль орошения, которое в аридных регионах позволяет расширить диапазон оптимальных условий обитания для более широкого видового спектра энтомофауны в агроэкосистемах и, соответственно, существенно увеличить их биоразнообразие. Показано увеличение видового разнообразия насекомых и их численности под воздействием орошения за счет мезофилов и, частично, гигрофилов. При этом возрастает стабильность экосистемы.

Ключевые слова: энтомокомплексы, орошение, биоразнообразие, агроландшафт.