

ОСОБЕННОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ДНК-МАРКЕРОВ В ПЛЕМЕННОМ ЖИВОТНОВОДСТВЕ

Гладких Марианна Юрьевна, и.о. заведующего кафедрой разведения, генетики и биотехнологии животных ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева

Селионова Марина Ивановна, д.б.н., профессор РАН, проректор по научной работе ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А.Тимирязева

Аннотация. Целью данной работы является обзорная характеристика основных методов генотипирования животных STR и SNP, и их применения в разведении сельскохозяйственных животных. В обзоре показано, что геномная селекция с использованием SNP-маркеров является современным и эффективным инструментом для идентификации и отбора лучших племенных животных. Кроме того, применение чипов высокой плотности с использованием SNP становится новыми генетическими инструментами для анализа количественных признаков и их генотипического разнообразия. Для получения генетических профилей животных по STR-маркерам и SNP-маркерам разработано достаточное число технологий, не все из которых, однако, применяются в племенном животноводстве. Тем не менее, для многих признаков сельскохозяйственных животных скорость генетического прогресса может быть существенно увеличена на базе применения маркер-ассоциированной селекции по сравнению с существующими методами генетической оценки..

Ключевые слова: STR-генотипирование, SNP-генотипирование, разведение животных, генетический прогресс.

В настоящее время в ряде отраслей ДНК-маркеры играют основную роль в программах разведения животных. Использование ДНК-маркеров оказывает революционное влияние на методы племенной работы и скорость генетического прогресса при работе с породами животных и сортами растений [5, 6].

Если проследить эволюцию уровня и методов селекции животных, то очевидно, что темпы развития технологий племенной работы ускорились в десятки и даже сотни раз (рис. 1).

Если при первобытнообщинном строе процесс domestikации исчислялся тысячами лет, в средневековье на создание породы методом «народной селекции» затрачивалось порядке сотни лет, а в 18-19 веках, когда был накоплен большой объем зоотехнических знаний и практических навыков в области животноводства, новая порода могла быть анонсирована через несколько десятков лет после начала работы по ее выведения.

Начиная с конца 20 века и, особенно, в последние десятилетия достижения в области молекулярной генетики привели к разработке технологий, позволяющих использовать ДНК-маркеры для ускорения темпов селекции

растениях и животных. Например, идентификация нескольких генов или их участков, связанных с генами, которые влияют на селекционные признаки, или геномные области, которые влияют на формирование количественных признаков. Все применяемые в настоящий момент ДНК-маркеры делятся на две основные группы:



Рисунок 1. Этапы развития технологий племенной работы.

1) маркеры на основе ПЦР анализа и другие методы на основе амплификации ДНК между повторяющимися последовательностями в геномной ДНК, такие как STR (микросателлиты) и SNP (однонуклеотидные последовательности),

2) маркеры на основе анализа полиморфизма длин рестриктных фрагментов ДНК (RFLP) [4].

В таблице 1 представлены молекулярно-генетические инструменты и то, насколько широко каждый из них применяется для решения задач племенного животноводства.

Таблица 1

Основные молекулярно-генетические инструменты, применяемые для развития генетических технологий при разведении животных [2]

Задачи, решаемые при разведении животных	Методы исследования	Применение в животноводстве	
		в мире	в РФ
Контроль происхождения племенного материала и идентификация животных	Анализ STR-маркеров	Применяется	Применяется
	Анализ SNP-маркеров	Применяется	В стадии разработки
Контроль наследственных заболеваний/ аномалий	Конструирование тест-систем	Применяется	Применяется

Исследование ДНК маркеров признаков продуктивности/ рабочих качеств	ПЦР-анализ в различных модификациях	Применяется	В стадии разработки
	Секвенирование фрагментов ДНК	Применяется	В стадии разработки
Мониторинг генетической структуры пород	Анализ микросателлитов	Применяется	В стадии разработки
	Высокопроизводительное генотипирование с использованием ДНК-чипов	Применяется	В стадии разработки
	Секвенирование NGS	Применяется	В стадии разработки
Применение программ геномной селекции	Высокопроизводительное генотипирование с использованием ДНК-чипов	В стадии разработки	В стадии разработки
	Генотипирование посредством секвенирования	В стадии разработки	В стадии разработки

Для осуществления контроля происхождения необходимо создание базы данных STR- и SNP- маркеров животных конкретной породы и родственных ей пород, причем достаточной численности, чтобы избежать ошибок при использовании информации для идентификации и отнесения пробанда к той или иной заявленной при тестировании породе (рис. 2).

Отдельное внимание заслуживает применение ДНК-маркеров для характеристики генетической структуры пород с целью определения особенностей их исторического развития и общности и различий компонентов генетической информации на текущий момент. На рисунке 3 показано разнообразие отечественных пород собак по результатам STR-генотипирования [1].

Генетический профиль		АНТh130	АНТh26	INU30	HTK21	CXX279	EN1690	INU055	EN10510	EN54P1	INRA21	AHT137	EN169D	АНТh253	INU005	FH2848	АНТ121	FH2054	EN162C0	АНТh171	EN247M	EN64E13																					
Особь		121	121	236	244	144	156	93	95	116	120	164	168	210	210	235	241	226	226	95	101	133	135	202	212	286	288	124	132	234	246	104	104	160	160	202	206	229	229	268	268	147	147
Мать		121	121	236	244	144	156	93	95	116	120	164	168	210	210	235	241	226	226	95	101	133	135	202	212	286	288	124	132	234	246	104	104	160	160	202	206	229	229	268	268	147	147
Пробанд		125	129	236	236	144	144	93	95	120	124	168	168	210	210	235	241	226	226	95	95	133	141	212	212	286	288	130	132	234	242	104	104	160	160	202	206	229	229	268	268	147	147
Вероятный отец 1		125	129	236	236	144	144	93	95	120	124	168	168	210	210	235	241	226	226	95	95	133	141	212	212	286	288	130	132	234	242	104	104	160	160	202	206	229	229	268	268	147	147
Вероятный отец 2		121	125	244	244	144	146	93	93	118	120	170	168	218	210	241	241	226	232	95	95	133	141	212	212	286	288	124	130	242	242	102	104	156	160	202	208	229	233	268	268	143	147

Заключение Вероятный отец 1 не может являться отцом пробанда, поскольку по гену АНТh130 не имеет аллелей, которые бы совпали с аллелями вероятного потомка. Вероятный отец 2 может являться отцом пробанда.

Пример использования базы данных для оценки вероятности принадлежности к конкретной породе

Предполагаемая порода пробанда - московская сторожевая

Генетический профиль		АНТh130	АНТh26	INU30	HTK21	CXX279	EN1690	INU055	EN10510	EN54P1	INRA21	AHT137	EN169D	АНТh253	INU005	FH2848	АНТ121	FH2054	EN162C0	АНТh171	EN247M	EN64E13																					
Особь		127	129	238	242	150	150	87	95	118	126	162	168	218	218	227	235	226	234	95	97	131	137	216	216	288	288	110	124	238	238	100	102	168	168	206	212	223	225	274	278	153	155
Пробанд		127	129	238	242	150	150	87	95	118	126	162	168	218	218	227	235	226	234	95	97	131	137	216	216	288	288	110	124	238	238	100	102	168	168	206	212	223	225	274	278	153	155
Аллели предполагаемой породы		121	236	144	87	116	162	210	227	226	91	131	131	210	286	122	230	96	152	192	219	268	143																				
Аллели породы		125	240	146	89	118	164	212	231	228	95	133	216	288	124	234	102	156	202	221	270	145																					
Аллели		129	244	148	91	124	168	214	233	232	97	135	218	292	126	236	104	160	204	229	272	147																					
Аллели		131	246	150	93	126	170	218	235	99	141	141	218	292	130	240	106	168	206	233	274	149																					
Аллели		139	152	152	95			237	237	101	147	147	218	292	132	242	108	172	208																								

Заключение У пробанда 14 аллелей не совпадают с аллельфондом породы, на принадлежность к которой производится проверка. По пяти генам не совпадает ни один из аллелей. Вероятность принадлежности к породе московская сторожевая составляет 66%, что недостаточно для положительного заключения.

Рисунок 2. Применение базы данных STR-маркеров для оценки достоверности происхождения и оценки вероятности отнесения животного к конкретной породе [3].

Также SNP-генотипирование позволяет рассчитывать генетические дистанции между домашними породами животных и их диками предками (рис. 4).

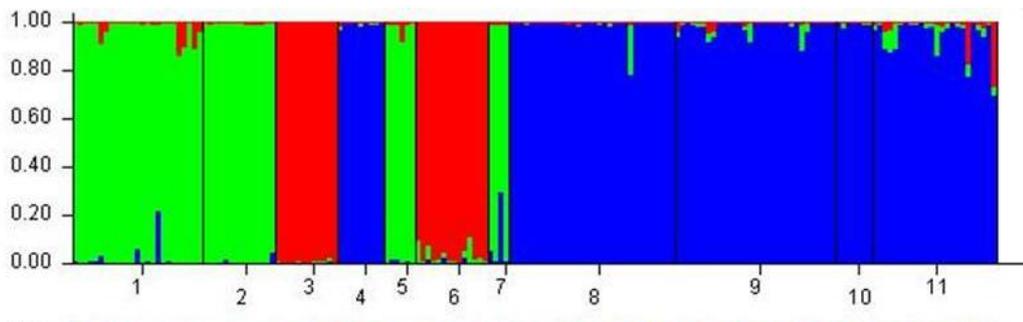


Рисунок 3. Анализ генетической структуры 8 пород собак:

1 – среднеазиатская овчарка, 2 – кавказская овчарка, 3 – русский черный терьер, 4 – немецкая овчарка (р-л), 5 – южнорусская овчарка, 6 – московская сторожевая, 7 – оленегонная лайка, 8 – немецкая овчарка (ш-л) зонарных окрасов, 9 – немецкая овчарка черного окраса, 10 – восточноевропейская овчарка зонарных окрасов, 11 – восточноевропейская овчарка черного окраса.

Традиционные программы разведения достаточно были и остаются достаточно успешными при решении ряда селекционных задач. Но в ситуациях, когда сложно оценить экономическую значимость признака, признак характеризуется низкой наследуемостью или величину признака сложно измерить или оценить (например, устойчивость к болезням), тогда решение может быть найдено путем использования геномной селекции.

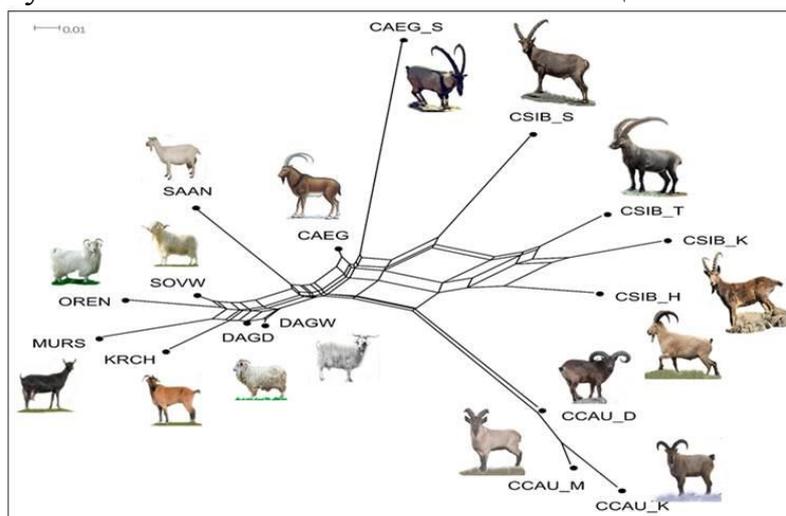


Рисунок 4. Генетическая дифференциация домашних и диких видов коз на основе STR-маркеров [7].

Геномная селекция – это метод селекции с помощью маркеров (MAS), основанный на неравновесии сцепления (LD) между маркерами и локусами количественных признаков (QTL). Как правило, успех применения геномной селекции зависит от уровня наследуемости признака, LD и объема подконтрольного поголовья.

В этой связи становится актуальным поиск достоверных SNP в хромосомах, ассоциированных с определенными селекционными признаками. В качестве такой работы может быть представлено исследование проведенное сотрудниками кафедры РГАУ-МСХА совместно с коллегами из ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста по определению числа и распределению достоверных

SNP, ассоциированных с живой массой и промерами у мясо-шерстных пород коз [8].

Таким образом, активное внедрение в программы племенной работы современных технологий геномной селекции в сочетании с традиционными зоотехническими методами будут способствовать увеличению темпов селекционной работы в разных отраслях животноводства..

Библиографический список

1. Гладких М.Ю. Динамика генетической структуры российского поголовья собак породы московская сторожевая / М.Ю. Гладких, М.И. Селионова, Д.Н. Зорин [и др.] // Journal of Agriculture and Environment. — 2023. — №12 (40) . — URL: <https://jae.cifra.science/archive/12-40-2023-december/> 10.23649 /JAE.2023.40.27 (дата обращения: 03.12.2024). — DOI: 10.23649/JAE.2023.40.27

2. Зиновьева Н.А. Генетические технологии в животноводстве: от развития компетенций до внедрения // Всероссийский семинар-совещание деканов зооинженерных факультетов, организованный ФУМО в системе высшего образования по УГСН 36.00.00 «Ветеринария и зоотехния», ОрелГАУ, г. Орел, 17 ноября 2022 г.

3. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2023623579 Российская Федерация. «Генотипы пород собак отечественной селекции» : № 2023623432 : заявл. 18.10.2023 : опубли. 23.10.2023 / М. Ю. Гладких, М. И. Селионова, Д. Н. Зорин, М. А. Максименко ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет - МСХА имени К.А. Тимирязева». – EDN JTKUYJ.

4. Avise JC. Molecular markers natural history and evolution. 2nd. Georgia: University of Georgia. 2004.

5. Dodgson JB, Cheng HH, Okimoto R. DNA marker technology: A revolution in animal genetics. Poult Sci. 1997; 76:1108-1114.

6. Kharrati-koopae, Hamed & Esmailzadeh, Ali. (2014). SNPs Genotyping Technologies and Their Applications in Farm Animals Breeding Programs: Review. Brazilian Archives of Biology and Technology. 57. 87-95. 10.1590/S1516-89132014000100013.

7. Selionova, Marina & Aibazov, A. & Mamontova, T & Stolpovsky, Iu & Be- ketov, S & Petrov, Sergey & V., Kharzinova & Dotsev, Arsen & Zinovieva, N.A.. (2021). Characteristics of the Allele Pool and the Genetic Differentiation of Goats of Different Breeds and their Wild Relatives by Str-Markers. Archives of Razi Institute. 76. 1351-1362. 10.22092/ari.2021.355684.1709

8. Selionova, Marina & Aibazov, Magomet & Sermyagin, Alexander & Bel- ous, Anna & Deniskova, Tatiana & Mamontova, Tatiana & Zharkova, Ekaterina & Zinovieva, N.A.. (2023). Genome-Wide Association and Pathway Analysis of Car- cass and Meat Quality Traits in Karachai Young Goats. Animals. 13. 3237. 10.3390/ani13203237