

АННОТАЦИЯ

к диссертационной работе на соискание ученой степени доктора философии (PhD) по специальности «6D070100 – Биотехнология»

Адилбекова Эльмира Калыбаевна «Генодиагностика верблюдов с использованием ДНК-технологии внедрение ее в сельскохозяйственное производство»

Общая характеристика работы. Настоящая работа посвящена исследованию полиморфизма микросателлитных локусов генофонда верблюдов разных зон Казахстана на базе ДНК-технологии и внедрению в производство генетического профиля высокомолочных генотипов.

Актуальность темы исследования. Верблюдоводство является традиционной сферой сельскохозяйственного производства и базируется на эффективном использовании пустынных и полупустынных зон для устойчивого и интенсивного развития агропромышленного комплекса в засушливых регионах.

В аридных зонах Казахстана, которые занимают 25% всей территории страны, где затруднено содержание других видов животных молочного направления, основной источник производства молока – молочное верблюдоводство.

В современных условиях развития верблюдоводства приоритетным направлением производства продукции является молочное, которое требует перехода с экстенсивного ведения на интенсивное.

Отраслевая продукция верблюдоводства – верблюжье молоко и продукты его переработки востребованы как на внутреннем рынке, так и на внешнем (Таможенный Союз, Евросоюз и Азиатско-Тихоокеанский регион). Молочное верблюдоводство в юго-западном регионе Казахстана имеет возможность занять нишу премиум класса, то есть брендовой продукции - верблюжьего молока и шубата, отличающихся диетичностью, лечебными свойствами и экологичностью.

В настоящее время отечественные сельхозпроизводители заинтересованы в разведении высокопродуктивных верблюдов и высокомолочные генотипы верблюдов пользуются неограниченным спросом как на внутреннем так и внешнем рынках для развития молочной индустрии.

В верблюдоводстве не разработаны вопросы мониторинга генетических ресурсов, т.е. генодиагностика верблюдов разных популяций с использованием современных биотехнологических методов ДНК-технологии с целью идентификации, систематизации и паспортизации высокоценных генотипов для эффективного внедрения в сельскохозяйственное производство.

В настоящее время в отечественном верблюдоводстве отсутствует генетическая характеристика верблюдов различных зон на основе ДНК-технологии.

В этой связи генотипирование генофонда верблюдов разных зон Казахстана с использованием ДНК-технологии и внедрение его в сельскохозяйственное производство для развития молочной индустрии в отрасли является актуальным направлением научно-исследовательских работ в биотехнологии сельскохозяйственных животных.

Цель и задачи исследования

Цель исследования – генетическая характеристика генофонда верблюдов молочного направления продуктивности в различных зонах юго-западного региона Казахстана с использованием ДНК-технологии и внедрение высокоценных генотипов в сельскохозяйственное производство.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- исследование молочной продуктивности генофонда верблюдов молочного направления продуктивности в разных зонах Казахстана;
- определение популяционно-генетических параметров верблюдов разных популяций по микросателлитным локусам;
- установление генетического профиля верблюдов молочного направления продуктивности с созданием базы данных;
- определение экономической эффективности исследований.

Объекты исследования. Объектами исследований явились популяции верблюдов в разных зонах дислокации продуктивного верблюдоводства Казахстана – Арыс-Туркестанская (к/х «Усенов Н.», ТОО «Сыздыкбеков А.»), Каратау-Мойынкумская (к/х «Багдат»), Прибалхашская (ТОО «Даулет-Бекет»), Прикаспийская (ТОО «Жана-Тан») и Мангыстауская (ТОО «Таушык»).

Материалы исследования: Материалом для исследования послужили верблюды пород арвана и казахский бактриан молочного направления продуктивности. В качестве источника ДНК использовали пробы ткани (ушной выщип)

Методы исследований: В процессе работы использовались биотехнологические методы исследований – ДНК-технология микросателлитов и зоотехнические методы.

Образцы ДНК, выделенные из гистологических образцов с использованием наборов Diatom DNA и Elxtra Gene DNA Prep, были получены в качестве материала для исследования. Для экстракции ДНК использовались коммерческие наборы от ведущих производителей: Gene Pak PCR Core; Qiagen; Литех; ДНК-технология; Diatom ДНК; Extra Gene DNA Prep.

На основе набора праймеров от Stock Marks выделенные образцы ДНК амплифицировали в амплификаторе 2720 Thermal Cycler. Все работы по разделению, амплификации и секвенированию выполнялись в соответствии с протоколами производителя, адаптированными к конкретному набору реагентов.

Выбор микросателлитных локусов производился в соответствии с рекомендациями Европейского общества генетиков (FAO / SAG).

Полиморфизм микросателлитов ДНК определяли с помощью секвенатора ABI-310. Панель типирования ДНК состоит из 7 и 8 микросателлитов, типичных для генетического анализа происхождения верблюдов. Интерпретация графических профилей результатов генотипирования образцов и определения генотипов верблюдов проводились с учетом рекомендаций Международного института верблюдоводства (International Camelid Institute) и Международного общества генетики животных (International Society for Animal Genetics).

Генетико-популяционный анализ проводили по общепринятым методикам с учетом частоты, уровня полиморфизма и степени гетерозиготности аллелей микросателлитных локусов. Статистические расчеты проводились индивидуально с использованием статистического пакета и алгоритмического программирования Fortran Power Station. База данных была создана с использованием пакета Microsoft Office Access 2007.

Научная новизна исследования: Впервые в Казахстане заложены научно-методические основы ДНК-технологии верблюдов молочного направления продуктивности, обеспечивающие достоверную оценку генетического профиля высокопродуктивных особей по микросателлитным локусам для развития молочной индустрии в разных регионах дислокации верблюдоводства.

В процессе исследований установлен аллелофонд верблюдов арвана и казахский бактриан по 7 и 8 микросателлитным локусам.

Определены уровень генетического разнообразия, гетерозиготности и степень инбредности для каждой популяции.

Доказано, что молочность верблюдов в разных регионах напрямую зависит от их генотипов. Корреляционный коэффициент между генотипом верблюдов и молочностью составил $0,218 \pm 0,060$ ($P < 0,001$), а связь с жирностью молока составила $0,508 \pm 0,047$, $t_r = 10,8$, $P < 0,001$. Влияние генотипа верблюдов на молочность и жирность было высоким ($\eta_x^2 = 0,370 \pm 0,041$, $F = 9,0$, $P < 0,001$ и $\eta_x^2 = 0,613 \pm 0,025$, $F = 24,5$, $P < 0,001$). Результаты дисперсионного анализа подтвердили, что влияние генотипов верблюдов в целом на показатели молочной продукции находится в пределах 30,0-65,6%.

На основе проведенного ДНК микросателлитов идентифицированы и паспортизованы 612 голов верблюдов молочного направления продуктивности в разных зонах верблюдоводства Казахстана, в том числе 300 голов верблюдиц, 300 голов верблюжат и 12 самцов-производителей.

Практическая ценность и внедрение результатов работы. Впервые генотипирование верблюдов молочного направления продуктивности по ДНК-микросателлитом позволило охарактеризовать генетические профили разных популяций и установить генетические различия между популяциями.

Доказана высокая эффективность ДНК-микросателлитов в идентификации и паспортизации верблюдов высокоценных генотипов.

Молочная продуктивность пород верблюдов арвана, разводимых в зонах Каспийской низменности и полуострова Мангистау, относительно

близка, а молочная продуктивность пород верблюдов арвана, разводимых в Арыс-Туркестанском и Балхашском регионах, относительно высока по сравнению с другими популяциями ($P < 0,001$). Установлено, что уровень молочности особей с однородной парой аллелей, встречающихся во всей популяции верблюдов, на 18,7% выше, чем у разнородных сверстников, чистый доход от 1 кг молока составляет 61,2 тенге при рентабельности производства молока выше на 24,2%.

Создана электронная база данных генетических ресурсов высокомолочных верблюдов на основе ДНК-технологии в количестве 612 голов.

Основные положения выносимые на защиту:

- молочная продуктивность у верблюдов разных зон Казахстана;
- популяционно-генетические параметры у верблюдов разных популяций по микросателлитным локусам;
- генетический профиль верблюдов и молочная продуктивность;
- экономическая эффективность исследований.

Основные результаты исследований и выводы:

По результатам работы сделаны следующие выводы:

- молочная продуктивность верблюдов в изученных популяциях зависит от их породной принадлежности и региональных особенностей. Средняя суточная молочность у верблюдов породы арвана составляет $9,3 \pm 0,06$ кг., а у породы бактриан – $6,5 \pm 0,04$ кг. Статическая разница между сравниваемыми группами верблюдов по молочности высокодостоверна ($P < 0,001$). Жирность молока у верблюдов породы бактриан была высокой ($P < 0,01$).

- между разными популяциями верблюдов по частоте аллелей достоверной разницы не обнаружено. При этом, 87 аллелей были идентифицированы в группе верблюдов арвана и 90 аллелей в популяции бактриан, т.е. $10,87 \pm 1,26$ и $11,25 \pm 1,30$ аллелей на локус соответственно.

- выявлено, что генетическое разнообразие аллельного профиля популяции верблюдов в Арыс-Туркестанской области ниже, чем в группе верблюдов других регионов. В популяциях верблюдов в этом регионе меньше количество аллелей в 1,7 раза ($P < 0,01$), информационных аллелей в 1,3 раза ($P < 0,05$), эффективных аллелей в 1,4 раза ($P < 0,05$) и частных аллелей в 7,5 раза ($P < 0,001$) по сравнению с группой верблюдов в других регионах,

- установлено, что в наблюдаемой гетерозиготности в межрегиональной популяции верблюдов не было существенной разницы. Фактический уровень гетерозиготности в популяции верблюдов Каспийско-Мангистауского региона составил $0,689 \pm 0,014\%$, в группе Балхаш-Каратау-Моинкум – $0,717 \pm 0,012\%$ и в популяциях Арыс-Туркестан – $0,691 \pm 0,015\%$. Однако, в группе верблюдов во всех регионах разница между фактическим и ожидаемым уровнем гетерозиготности была высокодостоверной ($P < 0,001$), что означает, генное равновесие в исследованных популяциях верблюдов нарушено.

- уровень гетерозиготности по локусам (индексы F_{IS} и F_{IT}) варьирует в пределах от 0,8 до 34,4%. Межпопуляционные генетические различия (индекс F_{ST}) по микросателлитным локусам составили в среднем 4,6%. То есть 95,4% генетических изменений в изученных популяциях верблюдов являются внутривидовыми, а 4,6% - межвидовыми. Это очень высокое внутривидовое разнообразие, поэтому необходимо восстановить полиморфизм в популяциях с помощью селекционной работы.

- наибольшее сходство микросателлитных аллелей наблюдалось в популяции «Таушык» - «Багдат», а генетические различия – в группе верблюдов «Таушык» - «Даулет-Бекет».

- доказано, что удои у верблюдов разных экотипов напрямую зависят от их генотипов. Коэффициент корреляции между генотипом верблюда и удоем составил $0,218 \pm 0,060$ ($P < 0,001$), а корреляция с содержанием жира в молоке составила $0,508 \pm 0,047$ ($t_r = 10,8$, $P < 0,001$). Влияние генотипа верблюда на удои и содержание жира было высоким = $0,370 \pm 0,041$, $F = 9,0$, $P < 0,001$ и = $0,613 \pm 0,025$, $F = 24,5$, $P < 0,001$). Результаты дисперсионного анализа подтвердили, что влияние общих генотипов верблюдов на молочные продукты находится в диапазоне 30,0-65,6%.

- молочная продуктивность у верблюдов породы арвана, выращенных в Каспийском регионе и на полуострове Мангистау, относительно близка, а у верблюдов породы арвана, выращенных в регионах Арыс-Туркестан и Балхаш, относительно высока по сравнению с другими популяциями ($P < 0,001$). Выявлено, что молочная продуктивность у особи с гомозиготными типами аллелей выше на 18,7%, чем у их сверстников. При этом, чистый доход с 1 кг молока составляет 61,2 тенге, а рентабельность производства молока выше на 24,2%.

- в результате генетического мониторинга популяций верблюдов, разводимых в разных регионах, были созданы генетическая информационная и компьютерная база, а также паспортизованы 300 голов высокопродуктивных дойных верблюдов.

Личный вклад автора. Все результаты диссертационной работы были получены в присутствии и личном участии автора. Автор самостоятельно провел анализ литературных данных по теме исследования, экспериментальные исследования, обработку и анализ результатов исследования, написание и оформление рукописи диссертации.

Связь с планом основных научных работ. Диссертационная работа выполнялась в рамках бюджетной научно-технической программы «Устойчивое управление селекционно-генетическим процессом в отраслях животноводства», проектов «Разработка системы управления генетическим процессом и его интенсификация в верблюдоводстве», «Идентификация, систематизация и паспортизация генетических ресурсов верблюдов молочного направления продуктивности» (№ государственной регистрации 0115PK02579).

Основные результаты диссертационной работы: Материалы диссертационной работы были обсуждены и доложены на следующих международных и республиканских конференциях:

- International scientific and practical conference “Fundamental and applied scientific research” (2018, Берлин, Германия);

- M. Auezov South Kazakhstan State University: Proceedings of V International Conference “Industrial Technologies and Engineering” (ICITE). – 2018 (2018, Шымкент, Казахстан);

- “International scientific discoveries 2018”, Сборник материалов XXXIII международной научно-практической конференции (2018, Москва);

- Сборник тезисов научных трудов. XXXI международная научно-практическая конференция: «Актуальные проблемы современной науки» (2018, Москва-Астана-Харьков-Вена);

- Материалы научно-теоретической международной конференции «Инновационные технологии и перспективы развития профессионального образования в условиях глобализации» (2018, Панчакент);

- Интернаука. Химия, физика, биология, математика: теоретические и прикладные исследования. Сборник статей по материалам XXIII международной научно-практической конференции (2019, Москва);

- International scientific practical conference: IX Global Science and Innovations 2020: Central Asia (2020, Нур-султан, Казахстан);

- Сборник статей по материалам LXX международной научно-практической конференции «Инновационные подходы в современной науке» (2020, Москва).

Публикации результатов работы. По основным научным результатам диссертации были опубликованы 16 работ, из них 5 в научных изданиях, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере образования и науки МОН РК, 2 статьи в научных изданиях, входящих в международные базы данных Scopus, Web of Science, 1 тезис и 7 статей в материалах международных и республиканских конференций, 1 статья в республиканском списке научных трудов.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из 112 страниц, включая нормативные ссылки, определения и сокращения, обзор литературы, объекты исследований, методы и результаты исследований и их анализ, заключение, список использованной литературы. Количество использованной литературы состоит из 171 наименований, 42 таблиц, 10 изображений и 8 приложений.