

# ВЕТЕРИНАРИЯ И ЖИВОТНОВОДСТВО

---

---

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN  
SERIES OF AGRICULTURAL SCIENCES

ISSN 2224-526X

Volume 6, Number 36 (2016), 5 – 10

B. O. Bekmanov<sup>1,2</sup>, A. S. Mussayeva<sup>1,2</sup>, A. S. Amirgalieva<sup>1,2</sup>,  
Z. S. Orasimbetova<sup>1,2</sup>, K. Zh. Dossybaev<sup>1,2</sup>, U. I. Amanbaeva<sup>1,2</sup>, M. Tulekei<sup>1</sup>,  
R. Zhapbasov<sup>1,2</sup>, A. M. Zhomartov<sup>1,2</sup>, K. Zh. Moldasanov<sup>3</sup>

<sup>1</sup>«KazCytoGen», Limited Liability Partnership, Almaty, Kazakhstan,

<sup>2</sup>«Institute of General Genetics and Cytology» CS MES RK, Almaty, Kazakhstan,

<sup>3</sup>«Kumtekei» Limited Liability Partnership, Almaty, Kazakhstan

## CHARACTERISTICS OF THE SHEEP BREED KAZAKH ARHAROMERINOS USING ISSR-MARKERS

**Abstract.** This paper presents the results of molecular genetic analysis using ISSR-markers of two populations of sheep breeds "Kazakh arharomerinos" from the farms "Kumtekey" and "Abylai". Specific alleles for each population were determined. Several DNA fragments were presented in both populations, and some fragments have only one population. According to our data, two studied populations of sheep breeds "Kazakh arharomerinos" genetically different from each other.

**Keywords:** Kazakh sheep arharomerinos, DNA markers, ISSR-analysis, polymorphism.

ӘОЖ 575.174.015.3: 636.082.12

B. O. Бекманов<sup>1,2</sup>, A. С. Мұсаева<sup>1,2</sup>, A. С. Әмірғалиева<sup>1,2</sup>,  
3. С. Оразымбетова<sup>1,2</sup>, Қ. Ж. Досыбаев<sup>1,2</sup>, Ұ. И. Аманбаева<sup>1,2</sup>, М. Түлекеі<sup>1</sup>,  
Р. Жапбасов<sup>1,2</sup>, А. М. Жомартов<sup>1,2</sup>, К. Ж. Молдасанов<sup>3</sup>

<sup>1</sup>«KazCytoGen» жауапкершілігі шектеулі серікtestіk, Алматы, Қазақстан,

<sup>2</sup>КР БФМ ФК «Жалпы генетика және цитология институты» Алматы, Казақстан,

<sup>3</sup>«Құмтекей» жауапкершілігі шектеулі серікtestіk, Алматы облысы, Қазақстан

## ISSR-МАРКЕРЛЕРІ КӨМЕГІМЕН ҚАЗАҚТЫҢ АРҚАРМЕРИНОС ҚОЙ ТҮҚЫМЫН СИПАТТАУ

**Аннотация.** Жұмыста «Құмтекей» және «Абылай» шаруа қожалықтарында (ШҚ) өсірілетін казақтың арқармеринос қой тұқымдары үлгілеріне ISSR-маркерлері арқылы жүргізілген молекулалы-генетикалық зерттеулер нәтижелері берілген. Зерттеу арқылы әр популяцияға тән арнайы аллельдер анықталды. Бірнеше ДНК фрагменттері екі популяцияда да жоғары жиілікпен, ал кейбір фрагменттер тек бір ғана популяция өкілдерінде ғана кездесті. Осыған қарал зерттеуге алған екі популяциядағы казақтың арқармеринос қой тұқымдары генетикалық әртүрлілікпен сипатталады деп тұжырымдауға болады.

**Түйін сөздер:** қазақтың арқармеринос қой тұқымы, ДНҚ-маркерлер, ISSR-талдау, полиморфизм.

Қазактың арқармеринос қой тұқымы қой шаруашылығында тураалық будандастыру арқылы жабайы арқар мен биязы жүнді жаңа кавказдық меринос үй қойын қолдан ұрықтандыру тәсілімен және келесі ретте алынған гибридтер прекос және рамбулье тұқымына жататын саулықтармен шағылыстыру арқылы алынған [1]. Қазақстан жері биік таулы алқаптарға өте бай және қазақтың арқармеринос қойлары шыққанға дейін бұл алқаптарда құйрықты қойлар жайылған, бірақ-та биік тауға бейімделмеген құйрықты қойлардың сапасы мен өнімділігі әдеттегіден төмендей кеткен еді. Ал, биязы жүнді қойларды биік таулы аймаққа жерсіндіру шаралары сәтсіздікпен аяқталған. Қазақтың арқармеринос қой тұқымын шығарудың мақсаттарының бірі еліміздің миллиондаған гектар таулы жайылымдарын игеру болатын. Кеңес одағы кезінде бұл қойлар Шығыс-Қазақстан және Алматы облыстарының биік таулы аймақтарында жаппай өсірілген және бас саны миллионнан асатын еді. Қазіргі кезде Қазақстанда бұл тұқымның саны шамамен жиырма мыңға жуықтайды [2].

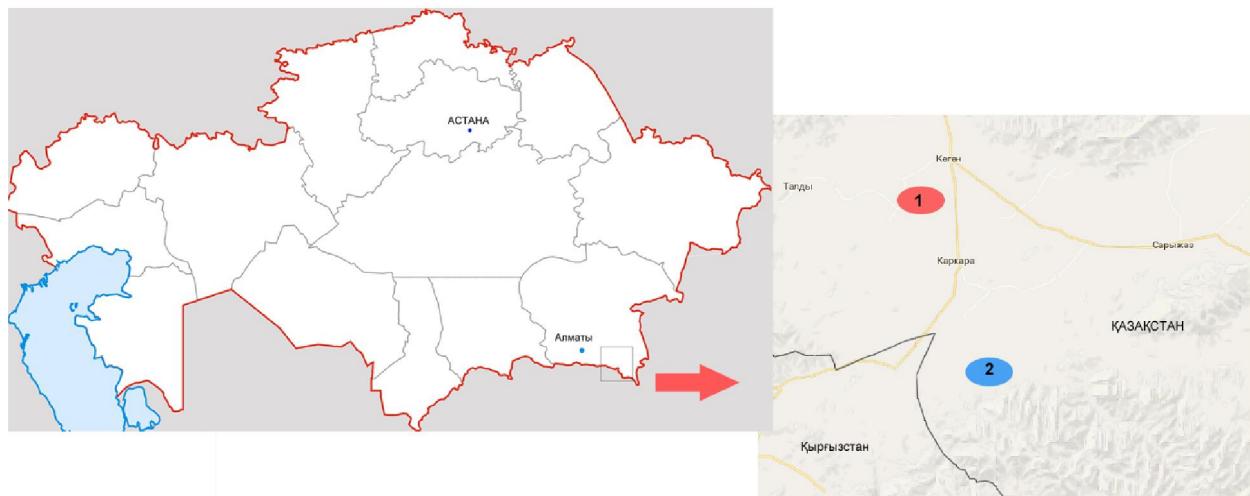
Қазақтың арқармеринос қойлары ірі, мықты денелі, сүйектері берік болып келеді. Биік таулы жайылымдарды жылдың барлық мезгілдерінде пайдалануға өте жақсы бейімделген, таулы жерлерде, жартастарда оңай секіріп журуге қабілетті, есту және ііс сезу қабілеті өте жақсы дамыған. Атальық қойлардың тірідей салмағы 90-110 кг, аналықтарының салмағы 55-65 кг, таза жұн түсімі атальктарда 7,0-8,0 кг, ал аналықтарда 3,2-3,5 кг-ға дейін жетеді. Жұнінің жінішкелігі бойынша 64 сапасына сәйкес келеді, яғни ұзындығы 7,0-10 см. Төлдеу бойынша 100 аналықтан 110-115 қозы алуға болады [3]. Қазақстандағы қой шаруашылығы саласындағы бағалы генетикалық ресурстардың бірі ретінде осы қой тұқымын таза сақтап қалу және генетикалық түрғыдан сипаттау қазіргі кездегі өте маңызды мәселеरдің біріне жатады.

Бұғынгі күні өсімдіктер мен жануарлардың жақын туысты генотиптерінде түрішілік және тұқымаралық полиморфизм деңгейін анықтауда молекулалық маркерлерді колданудың маңызы айтартылғатай [4-6]. Соның ішінде қазіргі таңда ISSR-маркерлері кеңінен қолданылуда [7]. ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) – геномда салыстырмалы түрде біркелкі тараптады 2 немесе 4 нуклеотидтің қайталанып орналасуымен сипатталатын нуклеотид тізбектері. Олар өзара бір-бірімен байланысы жоқ локустар тобында бір уақытта сол локустардың өзгергіштігін анықтауға мүмкіндік береді. Бұл өз кезегінде генетикалық ресурстарды сақтап қалу және ары қарай пайдалану үшін маңызы зор. Қазіргі кезде осындай әдістерді пайдаланып, ауыл шаруашылығы майдарының генетикалық сипаттамасын айқындау мақсатында қолданатын қарапайым тест-жүйелерді жасау үлкен маңызға ие. Сонымен қатар жануардың белгілі түрге, тұқымға тиістілігін бағалайтын, табиги және жасанды сұрыптау факторларының әсерінен болатын өзгеруін бақылауға мүмкіндік беретін, практикада колдануға ынғайлы және арзан тексеру жүйесі – осы аталған ISSR-маркерлері көмегімен талдау арқылы қол жеткізуге болады [8]. Осыған орай бұл жұмыс зерттеуге іріктелген қой тұқымның екі популяциясын ISSR-маркерлері арқылы бағалауға арналған.

**Зерттеу материалдары мен әдістері.** Зерттеу нысанасы ретінде Алматы облысы Кеген ауданына қарасты «Құмтекей» және «Абылай» шаруа қожалықтарында өсірілетін қазақтың арқармеринос қой тұқымына жататын 191 даралары алынды. 1 суретте «Құмтекей» және «Абылай» шаруа қожалықтарының орналасқан аймағы көрсетілген (1-сурет).

ДНҚ молекуласының фрагменттерінің полиморфизмін анықтау үшін ISSR-PCR әдісі (микросателлитаралық талдау – ISSR-фингерпринтинг) қолданылды. Бұл әдіс зерттеуге алынған майдарың түр ішіндегі тұқымдарға қатысты ДНҚ-н көплекусты полиморфты фрагменттердің кездесу жиілігін анықтау арқылы саралауға және тұқым ішіндегі полиморфизмді анықтайдын ДНҚ фрагменттерін алуға мүмкіндік береді.

Геномдық ДНҚ молекуласын бөліп алу үшін *QIAamp DNA MiniKit* (Qiagen, АҚШ) реагенттер жиынтығы қолданылды. Тәжірибе арқылы серіз ISSR-праймерлер тексеруден өткізілді және олардың ішінен тұрақты нәтижелі мәліметтер алуға мүмкіндік беретін екі праймер таңдалды. Біріншісі, (AG)<sub>n</sub>C (AG-ISSR), яғни 5'-AGA GAG AGA GAG AGA GAG C-3' тізбекте, ал екіншісі (GA)<sub>n</sub>C (GA-ISSR) - 5'-GAG AGA GAG AGA GAG AGA GAG C-3' тізбекті болды. Аталған праймерлер «Жалпы генетика және цитология институты» молекулалық генетика лабораториясында ASM-800 автоматты синтезаторында (Новосібір, Ресей) синтезделді. ПТР жүргізу үшін 10 мкл қоспа пайдаланылды (*PCR Master Mix* (Thermo Scientific, АҚШ)). ПТР мынадай жағдайда жүргізілді: «ыстық нүктеден басталу», 94<sup>0</sup>C - 2 мин, 40 цикл (денатурация – 94<sup>0</sup>C - 30 сек, праймердің жабысы (отжиг) – (55<sup>0</sup>C, 58<sup>0</sup>C) - 30 сек, синтез – 72<sup>0</sup>C - 2 мин және қосымша синтез – 72<sup>0</sup>C - 10 мин.



1-сурет – «Құмтекей» (1) және «Абылай» (2) шаруа қожалықтарының орналасқан аймағы  
(Алматы облысы, Кеген ауданы)

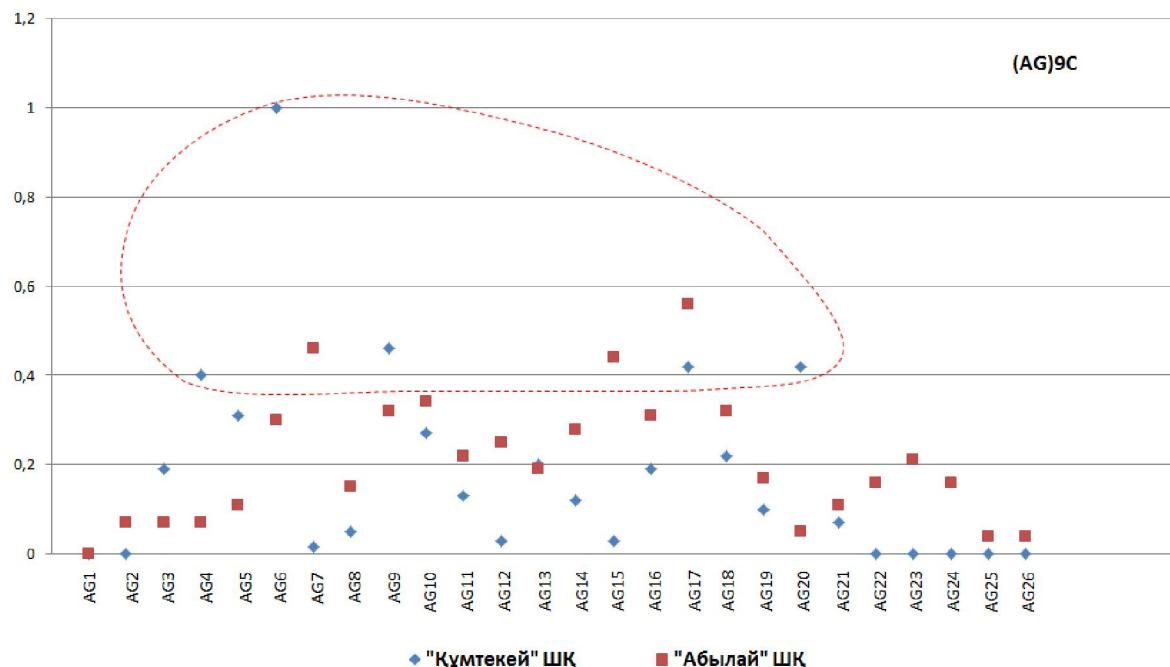
Амплификация өнімдері 2,0%-ды агарозды гельде электрофорез әдісі арқылы бөлінді. ДНҚ молекуласы бромды этидий ерітіндісімен боялды және *Quantum-ST5* (*VilberLourmat*, Франция) гельдүкшаттау жүйесінің көмегімен өндеуден өткізілді. ДНҚ фрагменттердің өлшемін анықтау үшін коммерциялық маркер (*GeneRuler 100 kb DNA Ladder, ThermoScientific*, АҚШ) қолданылды. Нәтижелерді статистикалық өндеу арнайы компьютерлік бағдарлама (*Statistica 7.0.*) арқылы жүзеге асырылды. Аллельдердің кездесу жиілігі, олардың маңызы және генетикалық тепе-тендік күйі әрбір локус үшін Харди-Вайнберг үлгісінде *Microsoft Excel 2010* және *GenePop 1.2* бағдарламаларының көмегімен жүргізілді.

**Зерттеу нәтижелері мен талқылаулар.** Алматы облысы Райымбек ауданының биік таулы аймағында орналасқан екі шаруашылықтан алынған қазактың арқармеринос қой тұқымының генофондын бағалау үшін полимеразды тізбекті реакция арқылы салыстырмалы геномдық талдау жүргізілді. Зерттеуге (AG)<sub>9</sub>C және (GA)<sub>9</sub>C маркерлері қолданылды. Нәтижесінде шамамен 38 полиморфты және (AG)<sub>9</sub>C маркері бойынша «Құмтекей» ШК даралардан бір мономорфты (500 ж.н.) ДНҚ-фрагменті анықталды. ДНҚ-фрагменттерінің спектрі мен жиілігі әр дараның көрсеткен фрагменттерінің орташа саны, полиморфты фрагменттердің үлесі, олардың гетерозиготалық деңгейі бойынша айырмашылықтар анықталды (2-сурет).

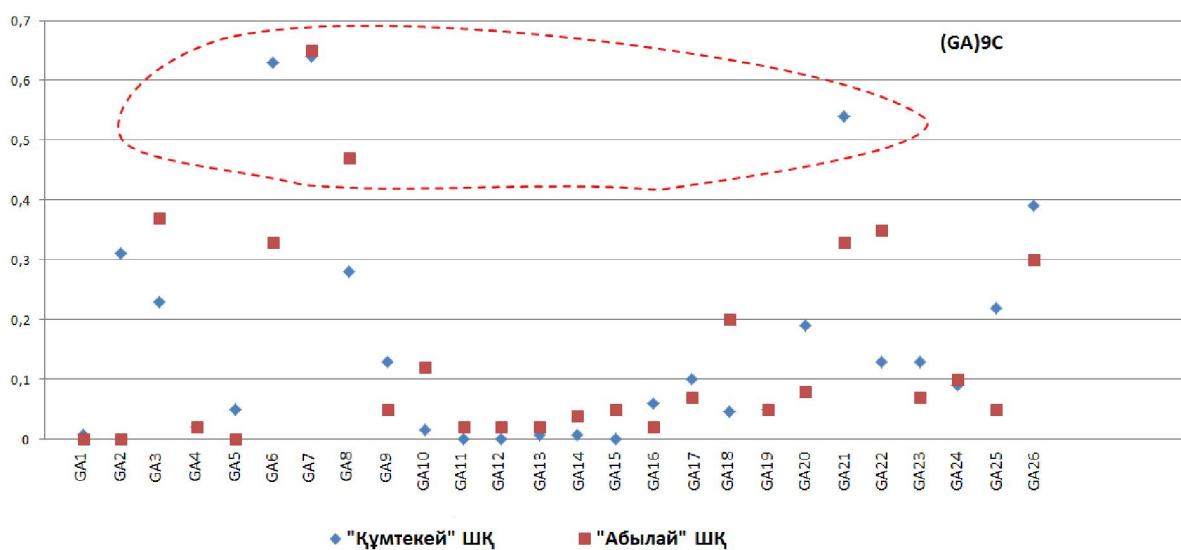
Бірнеше фрагменттер зерттелген екі популяцияда да жоғары жиілікпен кездесті, ал кейір фрагменттер тек бір ғана популяция өкілдерінде ғана болды. Мысалы, (AG)<sub>9</sub>C праймерін қолданып жүргізген ISSR-талдау арқылы «Құмтекей» ШК қойларына тән ДНҚ молекуласының полиморфты 4 фрагменті табылды: AG4 = 351-400 ж.н., AG6 = 451-500 ж.н., AG17 = 1001-1100 ж.н., AG20 = 1301-1400 ж.н. Ал молекулалық массасы 500 ж.н. болатын фрагмент осы популяцияда зерттелген барлық үлгілерінде кездесті. «Абылай» ШК қойларында ДНҚ молекуласының полиморфты 3 фрагменті 40%-дан жоғары жиілікпен кездесті: AG7 = 501-550 ж.н., AG15 = 901-950 ж.н., AG17 = 1001-1100 ж.н.

Келесі ретте (GA)<sub>9</sub>C маркерін қолдану арқылы алынған нәтижелер «Құмтекей» ШК қойлардың басым бөлігінде 40%-дан жоғары жиілікпен кездесетін ДНҚ молекуласының екі фрагменттері айқындалды (GA7=501-550 ж.н., GA8=551-600 ж.н.). Ал «Абылай» ШК қойларда жиірек кездесетін ДНҚ молекуласының үш фрагменттері анықталды (GA6=451-500 ж.н., GA7=501-550 ж.н. және GA21=1501-1600 ж.н.) (3-сурет).

Алынған зерттеу нәтижелері *GenePop 1.2* компьютерлік бағдарламасының көмегімен статистикалық өндеуден өтті (кесте).



2-сурет – (AG)<sub>9</sub>C праймерін қолдану арқылы жүргізілген ISSR-талдау



3-сурет – (GA)<sub>9</sub>C праймерін қолдану арқылы жүргізілген ISSR-талдау

Қазақтың арқармеринос қой тұқымына жүргізілген ISSR-талдау нәтижелерінің статистикалық өндөрүші

Шаруа қожалығы	Үлгілер саны	Nei бойынша гендік алұантурлілік (ортасша есептеп)	Шеннон индексі (ортасша есептеп)
(AG) <sub>9</sub> C			
«Күмтекей» ШК	60	0.3585	0.5916
«Абылай» ШК	131	0.2803	0.4642
(GA) <sub>9</sub> C			
«Күмтекей» ШК	60	0.2651	0.5083
«Абылай» ШК	131	0.2923	0.4962

Қазактың арқармеринос қой тұқымының екі шаруашылығынан алынған әрбір қойдың AG-ISSR және GA-ISSR маркерлерінің көмегімен зерттелген ДНК-профилі жеке-жеке талданып, салыстырылды. Осы маркерлер арқылы жалпы тұқымға тән, бір тұқымға жататын әр түрлі популяцияларға тән, популяция ішіндегі топтарды ажыратуға болатын және әрбір жеке жануардың генетикалық бейнесін сипаттайтын ДНК өнімдері алынды. Алынған нәтижелерге негізінде зерттелген екі мал шаруашылығы қойларының ДНК-профилі екі түрлі популяцияға тән ерешелітермен сипатталады деп тұжырымдауға болады. Сонымен қатар статистикалық талдаудан шыққан мәліметтерді салыстыру арқылы AG-ISSR-жүйесінің GA-ISSR-ге қарағанда қойлардың жеке өзгешелігін айқындастырын мәліметтерді көбірек беретіні, яғни популяцияның гетерогенді көрсеткіштерін анықтауға ынғайлы екендігін байқауға болады. Осыған орай келесі ретте жүргізілетін селекциялық жұмыстар барысында (есіреле аталақ қойларды іріктеу кезінде) AG-ISSR және GA-ISSR маркерлері арқылы қосымша зерттеулер жүргізуге ұсыныс беруге болады. Бұл талдаулар өз кезегінде популяциялардың ортақ ұқсастығын, біркелкілігін және өзгешелігін, сондай-ақ жеке даралардың сипатын анықтаумен қатар фенотиптік қасиеттерін де бағалауға мүмкіндік туады.

Сонымен, зерттеу жүргізілген екі шаруа қожалығындағы қой популяцияларын генетикалық зерттеу, аталаған популяцияларда гетерозиготалы дарабастардың орташа үлесін, әр локус бойынша кездескен аллельдер санын, екі популяцияның бір-бірінен ерекшелігін, әртүрлі аллельдердің кездесу жиілігі туралы мәліметтер алуға мүмкіндік берді. Зерттеу нәтижелерін талдай отырып «Құмтекей» популяциясы «Абылай» популяциясына қарағанда жоғары деңгейлі генетикалық алуантүрлілікпен ерекшеленді деп тұжырымдауға болады. Зерттеуде қолданылған маркерлердің және әдістерді жалпы қой популяцияларының генетикалық ерекшеліктерін сипаттауға, әртүрлі шаруашылықтарда өсірілетін бір тұқымға жататын популяцияларды генетикалық жағынан талдауға, әр аталақ қойды жеке «маркерлеуге», сонымен қатар отардың біркелкілік деңгейін және генеалогиялық байланысын бағалауда қолдануға болады.

\*Бұл ғылыми-зерттеу жұмысы Дүниежүзілік банкінің және Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің қаржылық қолдауымен «Технологияларды коммерцияландыру» жобасы аясында жүргізілді («Молекулярно-генетическая паспортизация и цитогенетическая аттестация Казахстанских пород овец – Едильбайская и Казахский архаромеринос», келісімшарт №541 27 қараша 2012 ж.).

## ӘДЕБИЕТ

- [1] Бутарин Н.С. Казахский архаромеринос // В кн.: Породы сельскохозяйственных животных, выведенные в Казахстане. – Алма-Ата, 1960.
- [2] [www.mgov.kz](http://www.mgov.kz)
- [3] «Қазақстан» Үлттық энциклопедия. – Алматы: Қазақ энциклопедиясы, 1998. – V том.
- [4] Нечаева Ю.С., Боронникова С.В., Юсупов Р.Р., Хайнце Б. Изучение полиморфизма ISSR-маркеров в природных и искусственных популяциях лиственницы // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 6. – С. 1426-1431.
- [5] Зиновьева Н.А., Костюнина О.В., Гладырь Е.А. и др. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных // Зоотехния. – 2010. – № 1. – С. 8-10.
- [6] Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Каплинская Л.И., Брем Г., Мюллер М. Методические рекомендации по молекулярно-генетическому анализу овец с использованием микросателлитных маркеров. – М.: РАСХН, 2004. – 31 с.
- [7] Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. – 1994. – Vol. 20(2). – P. 176-183.
- [8] Глазко В.И., Гладырь Е.А., Феофилов А.В. и др. ISSR-PCR маркеры и мобильные генетические элементы в геномах сельскохозяйственных видов млекопитающих // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 2. – С. 71-76.

## REFERENCES

- [1] Butarin NS (1960) Kazakh arharomerinos, in the book.: Breeds of farm animals bred in Kazakhstan [Kazahskij arharomerinos, v kn.: Porody sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh, vyvedennye v Kazahstane], Alma-Ata (In Russian).
- [2] [www.mgov.kz](http://www.mgov.kz)
- [3] «Kazakhstan» National Encyclopedia [Ulttik enciklopedia], Almaty: «Kazakh encyclopedia», (1998), vol. V (In Russian).
- [4] Nechayev Yu, Boronnikova SV, Yusupov RR, Heinze B (2013) The study of polymorphism ISSR-markers in natural and artificial populations of larch [Izuchenie polimorfizma ISSR-markerov v prirodnih i iskusstvennyh populjacijah listvennicy], Fundamental research, 6:1426-1431 (In Russian).
- [5] Zinovieva NA, Kostyunina OV, Gladyr EA et al. (2010) The role of DNA markers signs productivity of farm animals [Ro'l DNK-markerov priznakov produktivnosti sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh], Animal husbandry, 1:8-10 (In Russian)

[6] Gladyr EA, Zinovieva NA, Kaplinskaya LI, Brem G., Muller M. (2004) Guidelines for the molecular genetic analysis of sheep using microsatellite markers [Metodicheskie rekomendacii po molekuljarno-geneticheskому analizu ovec s ispol'zovaniem mikrosatellitnyh markerov] M.: 31 (In Russian).

[7] Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. (1994) Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification, Genomics, 20:176-183.

[8] Glazko VI, Gladyr EA, Feofilov AV et al. (2013) ISSR-PCR markers and mobile genetic elements in genomes of agricultural species of mammals [ISSR-PCR markery i mobil'nye geneticheskie jelementy v genomah sel'skohozjajstvennyh vidov mlekopitajushhih], Agricultural Biology, 2:71-76 (In Russian).

**Б. О. Бекманов<sup>1,2</sup>, А. С. Мусаева<sup>1,2</sup>, А. С. Амиргалиева<sup>1,2</sup>,  
З. С. Оразымбетова<sup>1,2</sup>, К. Ж. Досыбаев<sup>1,2</sup>, У. И. Аманбаева<sup>1,2</sup>,  
М. Тулекей<sup>1</sup>, Р. Жапбасов<sup>1,2</sup>, А. М. Жомартов<sup>1,2</sup>, К. Ж. Молдасанов<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>ТОО «KazCytoGen», Алматы, Казахстан,

<sup>2</sup>РГП «Институт общей генетики и цитологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан,

<sup>3</sup>ТОО «Кумтекей», Алматинская область, Казахстан

## **ХАРАКТЕРИСТИКА ПОРОД ОВЕЦ АРХАРОМЕРИНОС С ПОМОЩЬЮ ISSR-МАРКЕРОВ**

**Аннотация.** В работе представлены результаты молекулярно-генетического анализа с помощью ISSR-маркеров двух популяций овец породы «Казахский архаромеринос» из крестьянских хозяйств «Кумтекей» и «Абылай». Были определены специфические аллели для каждой популяции. Несколько фрагментов ДНК присутствовали в обеих популяциях, а некоторые фрагменты были только у одной популяции. Согласно нашим данным две исследуемые популяции овец породы «Казахский архаромеринос» генетические отличаются друг от друга.

**Ключевые слова:** овцы казахский архаромеринос, ДНК-маркеры, ISSR-анализ, полиморфизм.