



<https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-6-11>

УДК: 636.082.12

Тип статьи: оригинальная

Type of article: original

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКИХ РАЗЛИЧИЙ У ЖИВОТНЫХ НА ПРИМЕРЕ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РОДА *CAMELUS*

Тыщенко В.И., (✉) Терлецкий В.П.

*Всероссийский научно-исследовательский институт генетики
и разведения сельскохозяйственных животных – филиал Всероссийского института
животноводства им. академика Л.К. Эрнста*

Санкт-Петербург, п. Тярлево, Россия

(✉) e-mail: valeriter@mail.ru

Представлены данные о генетической изменчивости геномной ДНК двух видов верблюдов (дромедар и бактриан). Отмечено, что указанные виды имеют большое значение в ряде южных стран – используются как сельскохозяйственные, тягловые, верховые и спортивные животные. В настоящее время изучению верблюдов уделяется большое внимание с целью выявления их генетических особенностей, которые можно использовать в селекционной работе. Одним из методов исследования является мультилокусный анализ с применением меченых олигонуклеотидных зондов. Последние избирательно гибридизуются в отдельных участках геномной ДНК, приводя к формированию специфических генетических профилей, характерных для каждой особи. Мечение зонда дезоксигенином позволяет детектировать результаты гибридизации на фильтре. После проведения реакции молекулярной гибридизации зонда с геномной ДНК верблюдов было выявлено от 3 до 15 фрагментов ДНК, при этом картина гибридизации сильно отличалась у дромедаров и бактрианов, что свидетельствует о значительной генетической разнице в организации их геномов. Коэффициент сходства особей внутри популяции у бактрианов был существенно выше, чем у дромедаров (0,48 против 0,39), коэффициент межвидового сходства по этому параметру составил всего 0,13. Расчет генетического расстояния между популяциями дал довольно высокое значение – 0,305, что намного выше, чем ранее полученные данные по крупному рогатому скоту (от 0,05 до 0,10). Внутрипопуляционное генетическое разнообразие оценивали по критерию средней гетерозиготности. Расчеты показали большее генетическое разнообразие в популяции дромедаров ($H = 0,72$), что косвенно подтверждалось и более низким значением коэффициента сходства в этой группе животных.

Ключевые слова: бактриан, дромедар, генетическое разнообразие, олигонуклеотидный зонд

ASSESSMENT OF GENETIC DIFFERENCES IN ANIMALS AS EXEMPLIFIED BY REPRESENTATIVES OF THE GENUS *CAMELUS*

Tyshchenko V.I., (✉) Terletskiy V.P.

*Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding -
Branch of the L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry*

Tyarlevo, Saint Petersburg, Russia

(✉) e-mail: valeriter@mail.ru

Data on the genetic variability of genomic DNA from two species of camels (Dromedary and Bactrian) are presented. It is noted that these animal species are of great importance in a number of southern countries, they are used as farm animals (milk, meat, wool), as draft, riding and sports animals. At present, much attention is paid to the study of camels in order to identify their genetic characteristics that can be used in breeding work. One of the research methods is multilocus analysis using labeled oligonucleotide probes. The latter selectively hybridize in separate regions of genomic

DNA, leading to the appearance of specific genetic profiles characteristic of each individual. Labeling the probe with digoxigenin makes it possible to detect the results of hybridization on the filter. After the reaction of molecular hybridization of the probe with genomic DNA of camels, from 3 to 15 DNA fragments were detected, while the pattern of hybridization was very different in Dromedaries and Bactrians, which indicates a significant genetic difference in the organization of genomes. The coefficient of similarity of individuals in Bactrians was significantly higher than in Dromedaries (0.48 versus 0.39); interspecific similarity coefficient in this parameter was only 0.13. The calculation of the genetic distance between populations gave a rather high value of 0.305, which is significantly higher than the previously obtained data on cattle (from 0.05 to 0.10). Intrapopulation genetic diversity was assessed by the criterion of average heterozygosity. Calculations showed greater genetic diversity in the dromedary population ($H = 0.72$), which was indirectly confirmed by a lower similarity coefficient in this group of animals.

Keywords: Bactrian camel, Dromedary camel, genetic diversity, oligonucleotide probe

Для цитирования: Тыщенко В.И., Терлецкий В.П. Оценка генетических различий у животных на примере представителей рода *Camelus* // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2023. Т. 53. № 6. С. 92–97. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-6-11>

For citation: Tyshchenko V.I., Terletskiy V.P. Assessment of genetic differences in animals as exemplified by representatives of the genus *Camelus*. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2023, vol. 53, no. 6, pp. 92–97. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2023-6-11>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Благодарность

Работа выполнена в рамках государственного задания (тема № 0445-2021-0010). Авторы выражают благодарность сотрудникам кафедры акушерства, хирургии и биотехнологии воспроизводства животных Казахского национального аграрного исследовательского университета (Республика Казахстан), в особенности заведующему кафедрой Е.С. Усенбекову, за предоставление биоматериала животных.

Acknowledgements

The work was accomplished with the support of the state task 0445-2021-0010. The authors express their gratitude to the staff of the Department of Obstetrics, Surgery and Biotechnology of Animal Reproduction of KazNARU (Republic of Kazakhstan), in particular to the Head of the Department Ussenbekov E.S., for taking biomaterial from animals.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время считается, что в природе существуют три вида верблюдов – одногорбый (дромедар), двугорбый (бактриан) и дикий верблюд. Первые два вида широко используются во многих южных государствах, особенно в странах арабского мира, для получения сельскохозяйственной продукции (молока, мяса, шерсти) и имеют большое социальное значение для населения [1, 2]. Из верблюжьего молока изготавливают шубат (кисломолочный напиток, обладающий многими ценными свойствами). Шубат, в отличие от кумыса, является более густым и имеет белый цвет. Молочная продуктивность верблюдов, несмотря на скудный рацион их питания, может достигать 2000 л за сезон [3].

В мире растет интерес к верблюжьему молоку и продуктам, которые можно получить из него¹.

В современном животноводстве активно применяются достижения молекулярной генетики. В частности, геномная селекция стала использоваться во многих странах. На данном этапе в отношении верблюдов до сих пор не установлены фенотипические стандарты пород [4]. Указанный факт еще раз подчеркивает важность реализации генетических подходов при изучении этих животных с целью создания основ для дальнейшей геномной селекции. Ведутся исследования, посвященные влиянию полиморфных вариантов отдельных генов на различные хозяйственно полезные признаки, для применения полученных данных в селекции. К числу таких генов относят

¹Rahman N., Xiaohong C., Meiqin F., Mingsheng D. Characterization of the dominant microflora in naturally fermented camel milk shubat // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2009. Vol. 25. P. 1941–1946.

гены каппа-казеина, диацилглицерол-ацил-трансферазы 1 (DGAT1), лактоглобулина, миостатина и т.д.² Например, установлено, что у верблюдов ген *CSN2* каппа-казеина является самым полиморфным из всего семейства казеиновых генов и имеет 91 вариант [5]. В ряде случаев удается выявить ассоциации между генетическим полиморфизмом в отдельных генах и хозяйственно полезными признаками. Такие работы есть по вариантам гена каппа-казеина и гена *FGF5*, связанного с формированием длины волосяного покрова у верблюдов. Установлено, что единственная миссенс-мутация (замена С > Т) привела к статистически достоверному изменению длины шерстного покрова [6].

В животноводстве особое внимание уделяется изучению популяционно-генетических параметров с целью уточнения истории создания пород и популяций, реконструирования исчезнувших пород, определения направления текущей селекционной работы и генетического разнообразия в популяциях, использования в программах по сохранению генофонда [7, 8]. Иногда обнаруживается четкая генетическая обособленность популяций верблюдов в зависимости от страны разведения. Так, М.А. Nomas et al. [9] в рамках мультилокусного подхода была выявлена дифференциация популяций верблюдов в Саудовской Аравии по отношению к животным из других стран.

Геномная ДНК исследуется различными методами, включающими секвенирование (полногеномное либо отдельных участков) [10], использование полиморфизма в микросателлитной ДНК³ [11] и чиповых технологий скринирования генома по множеству локусов одновременно (SNPs). Хорошо изучен полиморфизм на уровне ДНК, выявляемый как точечные мутации в каких-либо генах. Гораздо более полезными в плане исследования полиморфизма последовательностей ДНК на популяционном уровне оказались гипервариабельные участки генома. Их отли-

чают наличие разных аллельных вариантов (высокая частота встречаемости) у разных особей в популяции и значительная скорость мутирования (см. сноску 3).

Проводятся работы по изучению полиморфизма в митохондриальной ДНК. В индийской популяции верблюдов выявлен высокий уровень разнообразия участков митохондриального генома, который превышал показатели других популяций [12].

Существование разных видов верблюдов поставило вопрос об их генетической близости. Эта проблема может быть решена методами генетики. Известно, что двугорбого верблюда (бактриана) и одногорбого (дромедара) относят к разным видам, несмотря на то, что они способны скрещиваться друг с другом. Поэтому некоторые исследователи считают их представителями одного вида, но разных пород.

Цель исследования – сравнительная оценка генетического разнообразия двух видов верблюдов.

Задачи:

- 1) взятие биоматериала (крови) у верблюдов обоих видов;
- 2) выделение высокомолекулярной геномной ДНК из имеющихся образцов;
- 3) проведение мультилокусного генетического анализа с целью расчета основных популяционно-генетических параметров, характеризующих экспериментальные выборки животных;
- 4) оценка полученных результатов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объект исследования – одногорбые и двугорбые верблюды (по 18 особей в каждой группе), разводимые в фермерском хозяйстве «Даулет-Бекет», расположенном в Илийском районе Алма-Атинской области Республики Казахстан. ДНК выделяли из венозной крови животных общепринятыми методами, включающими осаждение фракции лейкоцитов, лизис клеток с помощью детергента

²Pauciullo A., Giambra I.J., Iannuzzi L., Erhardt G. The β -casein in camels: molecular characterization of the *CSN2* gene, promoter analysis and genetic variability // Gene. 2014. Vol. 547. N 1. P. 159–168.

³Киселева Т.Ю., Кантанен Дж., Воробьев Н.И., Подоба Б.Е., Терлецкий В.П. Неравновесие по сцеплению микросателлитных локусов у шести локальных популяций крупного рогатого скота // Генетика. 2014. Т. 50. № 4. С. 406–414.

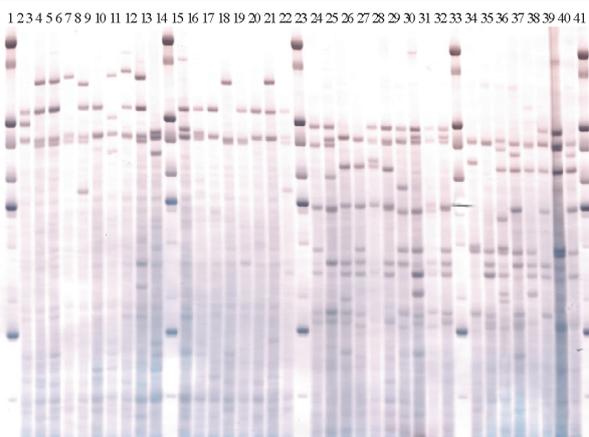
(додецилсульфата натрия), фенольную депротенизацию. Осаждение ДНК проводили этанолом. Выпавший осадок еще раз промывали в 70%-м этаноле, подсушивали и растворяли в 400 мкл буфера TE (10 mM трис + 1 mM ЭДТА, pH 8,0). Количество и качество ДНК оценивали с помощью спектрофотометра NanoDrop2000.

В качестве молекулярного зонда использовали олигонуклеотид (GTG)₅, который содержал метку дезоксигенина. Геномную ДНК расщепляли эндонуклеазой рестрикции *Hae*III, электрофорез проводили в триацетатном буфере, разделенные по размеру фрагменты ДНК переносили на нейлоновый фильтр. После фиксации ДНК на фильтре последний помещали в ванночку для проведения реакции молекулярной гибридизации. ДНК-зонд комплементарно связывался с соответствующими участками геномной ДНК на фильтре. После отмывки от невключившейся метки в ванночку вносили раствор для иммунохимической детекции дезоксигенина. Проявившиеся фрагменты ДНК с меткой в виде темных полос визуализировали, подсчитывали количество общих и различающихся полос (попарно на всех электрофоретических дорожках). Далее, используя компьютерную программу GelStats, рассчитывали популяционно-генетические параметры (гетерозиготность, генетическое расстояние, частоты аллелей).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе эксперимента после проведения реакции молекулярной гибридизации на фильтре детектировали от 5 до 12 фрагментов ДНК, число и распределение которых являются характерными для каждой особи (см. рисунок). Дорожки 2–11 и 13–20 – результат анализа верблюдов дромедар; 22–31 и 33–40 – верблюдов бактриан. На 1, 12, 21, 32 и 41-й дорожках показан маркер длин фрагментов ДНК. Диапазон длин фрагментов маркерной ДНК составлял от 500 до 23 000 пар оснований ДНК. Установлено, что в группе бактрианов выявилось существенно большее число фрагментов ДНК.

Попарное сравнение количества общих фрагментов ДНК между популяциями пока-



ДНК-фингерпринтинг геномной ДНК верблюдов обеих групп

DNA fingerprinting of the genomic DNA of camels of two groups

зало крайне низкое значение коэффициента межпопуляционного сходства (0,13), в то время как коэффициент внутривидового сходства достигал 0,39 для дромедаров и 0,48 для бактрианов (см. табл. 1). Расчет генетического расстояния между популяциями дал довольно высокое значение – 0,305, что намного выше, чем ранее полученные показатели при сравнении разных пород крупного рогатого скота.

Расчет средней гетерозиготности показал большее генетическое разнообразие в популяции дромедаров ($H = 0,72$), что косвенно подтверждалось и низким значением коэффициента сходства в этой группе животных (см. табл. 2). Бактрианы отличались большей

Табл. 1. Популяционно-генетические параметры исследуемых популяций верблюдов по данным ДНК-фингерпринтинга

Table 1. Population and genetic parameters of the studied camel populations according to DNA fingerprinting data

Вид	<i>n</i>	Число полос на одну дорожку ($X \pm m$)	P	BS ¹	BS ²	D
Дромедар	18	3,44 ± 0,27	3,81 × 10 ⁻²	0,39		
Бактриан	18	7,61 ± 0,34	3,55 × 10 ⁻³	0,48	0,13	0,305

Примечание. P – вероятность встречаемости идентичного набора всех фрагментов ДНК в сравниваемых парах особей; BS¹ – коэффициент внутривидового сходства; BS² – коэффициент межпопуляционного сходства; D – генетическое расстояние между популяциями.

Табл. 2. Характеристика внутрипопуляционного генетического разнообразия верблюдов

Table 2. Characteristics of intra-population genetic diversity in camels

Вид	<i>n</i>	Число локусов	Число аллелей	Число полиморфных локусов	Средняя гетерозиготность
Дромедар	18	2,01	9,46	1,00	0,72
Бактриан	18	4,55	5,49	1,00	0,67

однородностью по генетическим параметрам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные данные показывают, что две сравниваемые популяции верблюдов характеризуются значительным генетическим различием. При этом однопородные верблюды имеют большее разнообразие по генетическим критериям внутри своей популяции. Как видим, ДНК-фингерпринтинг с меченым ДНК-зондом может применяться для оценки генетического разнообразия у верблюдов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баймуханов Д.А., Юлдашбаев Ю.А., Исхан К.Ж., Демин В.А. Концепция развития продуктивного и племенного верблюдоводства Республики Казахстан на 2021–2030 гг. // *Аграрная наука*. 2020. № 7–8. С. 52–60. DOI: 10.32634/0869-8155-2020-340-7-52-60.
2. Eltanany M., Elfaroug S.O., Distl O. Assessment of genetic diversity and differentiation of two major camel ecotypes (*Camelus dromedarius*) in Sudan using microsatellite markers // *Archives Animal Breeding*. 2015. Vol. 58. N 2. P. 269–275. DOI: 10.5194/aab-58-269-2015.
3. Баймуханов Д.А. Селекционно-генетические параметры продуктивности верблюдоматок казахского дромедара // *Аграрная наука*. 2017. № 11–12. С. 47–49.
4. Al Askar H., Alhajeri B.H., Almatheren F., Alhadad H. Genetic diversity and population structure of Dromedary camel types // *Journal of Heredity*. 2020. Vol. 111. N 4. P. 405–413. DOI: 10.1093/jhered/esaa016.
5. Mutery A.A., Rais N., Mohamed W.K., Abdelaziz T. Genetic diversity in casein gene cluster in a Dromedary camel (*C. dromedarius*) Population from the United Arab Emirates // *Genes* (Basel). 2021. Vol. 12. N 9. P. 1417. DOI: 10.3390/genes12091417.

6. Maraqa T., Alhajeri B.H., Alhaddad H. *FGF5* missense mutation is associated with Dromedary hair length variation // *Animal Genetics*. 2021. Vol. 52. N 6. P. 848–856. DOI: 10.1111/age.13132.
7. Burger P.A., Ciani E., Faye B. Old World camels in a modern world – a balancing act between conservation and genetic improvement // *Animal Genetics*. 2019. Vol. 50. N 6. P. 598–612. DOI: 10.1111/age.12858.
8. Sharma R., Ahlawat S., Sharma H., Prakash V., Khatak S., Sawal R.K., Tantia M.S. Identification of a new Indian camel germplasm by microsatellite markers based genetic diversity and population structure of three camel populations // *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020. Vol. 27. N 7. P. 1699–1709. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.04.046.
9. Hossam M.A., Mohammed A.-T.F., Alshaik M., Aljumaah R., Saleh A. Genetic diversity and population structure of six Dromedary camel (*Camelus dromedarius*) populations in Saudi Arabia // *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2020. Vol. 27. N 5. P. 1384–1389. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.11.041.
10. Sabahat S., Brauning R., Clarke S.M., Nadeem A., Thomson P.C., Khatkar M.S. SNP discovery and population structure analysis in Lassi and Marecha camel breeds using a genotyping by sequencing method // *Animal Genetics*. 2020. Vol. 51. N 4. P. 620–623. DOI: 10.1111/age.12953.
11. Piro M., Mabsoute F.E., El Khattaby N., Laghouaouta H., Boujenane I. Genetic variability of Dromedary camel populations based on microsatellite markers // *Animal*. 2020. Vol. 14. N 12. P. 2452–2462. DOI: 10.1017/S1751731120001573.
12. Sai Satyanarayana D., Ahlawat S., Sharma R., Arora R., Sharma A., Tantia M.S., Vijh R.K. Mitochondrial DNA diversity divulges high levels of haplotype diversity and lack of genetic structure in the Indian camels // *Gene*. 2022. Vol. 820. P. 146279. DOI: 10.1016/j.gene.2022.146279.

REFERENCES

1. Baimukanov D.A., Yuldashbaev Yu.A., Iskhan K.Zh., Demin V.A. The concept of development of productive and breeding camel breeding in the Republic of Kazakhstan for 2021–2030. *Agrarnaya nauka = Agrarian Science*, 2020, no. 7–8, pp. 52–60. (In Russian). DOI: 10.32634/0869-8155-2020-340-7-52-60.

2. Eltanany M., Elfaroug S.O., Distl O. Assessment of genetic diversity and differentiation of two major camel ecotypes (*Camelus dromedarius*) in Sudan using microsatellite markers. *Archives Animal Breeding*, 2015, vol. 58, no. 2, pp. 269–275. DOI: 10.5194/aab-58-269-2015.
3. Baimukanov D.A. Selection and genetic parameters of productivity of Kazakh dromedary. *Agrarnaya nauka = Agrarian Science*, 2017, no. 11–12, pp. 47–49. (In Russian).
4. Al Askar H., Alhajeri B.H., Almathen F., Alhaddad H. Genetic diversity and population structure of Dromedary camel types. *Journal of Heredity*, 2020, vol. 111, no. 4, pp. 405–413. DOI: 10.1093/jhered/esaa016.
5. Mutery A.A., Rais N., Mohamed W.K., Abdelaziz T. Genetic diversity in casein gene cluster in a Dromedary camel (*C. dromedarius*) Population from the United Arab Emirates. *Genes (Basel)*, 2021, vol. 12, no. 9, pp. 1417. DOI: 10.3390/genes12091417.
6. Maraqa T., Alhajeri B.H., Alhaddad H. *FGF5* missense mutation is associated with Dromedary hair length variation. *Animal Genetics*, 2021, vol. 52, no. 6, pp. 848–856. DOI: 10.1111/age.13132.
7. Burger P.A., Ciani E., Faye B. Old World camels in a modern world – a balancing act between conservation and genetic improvement. *Animal Genetics*, 2019, vol. 50, no. 6, pp. 598–612. DOI: 10.1111/age.12858.
8. Sharma R., Ahlawat S., Sharma H., Prakash V., Khatak S., Sawal R.K., Tantia M.S. Identification of a new Indian camel germplasm by microsatellite markers based genetic diversity and population structure of three camel populations. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, vol. 27, no. 7, pp. 1699–1709. DOI: 10.1016/j.sjbs.2020.04.046.
9. Hossam M.A., Mohammed A.-T.F., Alshaik M., Aljumaah R., Saleh A. Genetic diversity and population genetic structure of six Dromedary camel (*Camelus dromedarius*) populations in Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 2020, vol. 27, no. 5, pp. 1384–1389. DOI: 10.1016/j.sjbs.2019.11.041.
10. Sabahat S., Brauning R., Clarke S.M., Nadeem A., Thomson P.C., Khatkar M.S. SNP discovery and population structure analysis in Lassi and Marecha camel breeds using a genotyping by sequencing method. *Animal Genetics*, 2020, vol. 51, no. 4, pp. 620–623. DOI: 10.1111/age.12953.
11. Piro M., Mabsoute F.E., El Khattaby N., Laghouaouta H., Boujenane I. Genetic variability of Dromedary camel populations based on microsatellite markers. *Animal*, 2020, vol. 14, no. 12, pp. 2452–2462. DOI: 10.1017/S1751731120001573.
12. Sai Satyanarayana D., Ahlawat S., Sharma R., Arora R., Sharma A., Tantia M.S., Viji R.K. Mitochondrial DNA diversity divulges high levels of haplotype diversity and lack of genetic structure in the Indian camels. *Gene*, 2022, vol. 820, pp. 146279. DOI: 10.1016/j.gene.2022.146279.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Тыщенко В.И., кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

✉ **Терлецкий В.П.**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник; **адрес для переписки:** Россия, 196625, г. Санкт-Петербург, п. Тярлево, Московское шоссе, 55-а; e-mail: valeriter@mail.ru

AUTHOR INFORMATION

Valentina I. Tyshchenko, Candidate of Science in Biology, Senior Researcher

✉ **Valery P. Terletskiy**, Doctor of Science in Biology, Senior Researcher; **address:** 55-a, Moskovskoe shosse, St. Petersburg, Tyarlevo, 196625, Russia; e-mail: valeriter@mail.ru

Дата поступления статьи / Received by the editors 28.02.2023
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 31.03.2023
Дата публикации / Published 20.07.2023