

Динамика аллелофондов и генетическое разнообразие

УДК 636.2:575.174.015.3

**ХАРАКТЕРИСТИКА АЛЛЕЛОФОНДА ЯКУТСКОГО СКОТА
ПО МИКРОСАТЕЛЛИТАМ***

**Е.А. ГЛАДЫРЬ¹, Я.Л. ШАДРИНА², П.В. ГОРЕЛОВ¹, Л. ДАВААХУУ³,
Р.Г. ПОПОВ², В.С. МАТЮКОВ⁴, А.К. АГЫШОВА⁵, Н.А. ЗИНОВЬЕВА¹**

Для выполнения исследований создан банк (461 проба) ДНК крупного рогатого скота якутской породы. По 10 микросателлитам проведено тестирование животных этой породы в сравнении с холмогорской и монгольской породами. Показано существенно более низкое число эффективных аллелей на локус (3,46±0,28) у якутского скота, что, вероятно, стало следствием ограниченного числа производителей, используемых при его разведении. Выявлена 100 % генетическая консолидированность изученных пород. Установлено, что у проанализированной выборки якутского скота генетическая общность с холмогорским скотом выше, чем с монгольским.

Ключевые слова: микросателлиты, аллелофонд, полиморфизм, крупный рогатый скот, якутский скот.

Keywords: microsatellites, allele pool, polymorphism, cattle, Yakutskaja breed.

К актуальным задачам современной биологической науки относится характеристика генофонда и сохранение разнообразия одомашненных видов (1-2). Решению проблемы поддержания генетического разнообразия пород сельскохозяйственных животных отводится ключевая роль и в современной концепции ФАО (Food and Agriculture Organization — ФАО) по генетическим ресурсам (3).

Якутский скот обитает на огромной территории Республики Саха (Якутия) и представляет собой уникальную породу домашнего скота (4). Известно, что крупный рогатый скот в Сибири — от Якутии до Памира, от Дальнего Востока до Урала, в районах северной Индии, в китайских степях существовал за 2500 лет до н.э. (5). Общим предком этой большой группы скота считали *Bos taurus primegenius nomadicus*. По краниологической классификации Е.Ф. Лискуна (5) в группу *Bos taurus primegenius* входят исконные отечественные породы: ярославская, холмогорская, истобенская, тагильская, сибирский скот. Якутский скот — последний представитель нативного аборигенного скота Восточной Азии, относящегося по современной классификации к турано-монгольскому корню *Bos taurus* (6). Подвид *Bos taurus turano-mongolicus* представлен калмыцким, киргизским, якутским, сибирским, сойотским, монгольским и маньчжурским скотом (7).

Ранее группой J. Kantanen с использованием микросателлитов было детально изучено генетическое разнообразие как чистопородных особей, так и двух гибридных популяций якутского скота (8) и выполнено сравнение результатов этих молекулярно-генетических исследований с данными по породам скота Евразии, обитающим на территории государств Западной Европы и постсоветского пространства (9, 10). Продолжением послужила работа J. Kantanen с соавт. (11), посвященная сравнительному изучению митохондриальной ДНК, в частности секвенированию D-петли, и исследованию полиморфизма Y-хромосомных маркеров для определения генетической дивергенции пород *Bos taurus*. Известно, что расхождение европейских пород произошло 10 000 лет назад, после чего современный европейский и северо-азиатский скот развивался как отдельная группа.

* Исследования выполнены при финансовой поддержке Минобрнауки РФ, проекты № 16.512.11.2212 и № 14.740.12.0821.

Кроме того, просторы Евроазиатского континента, его климатические особенности способствовали формированию скота в типе *Bos taurus turano-mongolicus*, краниологически несколько отличающегося от *Bos taurus primegenius* (11-12).

История скотоводства в Якутии насчитывает тысячелетия. Местный якутский скот на всей ее территории разводился «в чистоте» до 1929 года. Позднее началось массовое скрещивание с быками-производителями холмогорской породы (2), а с 1937 года — с симментальскими быками, преимущественно помесью III и IV поколения из линий, ведущих свое происхождение из Швейцарии и Германии и поступивших в республику из Сычевского госплемрассадника (13). В настоящее время в чистоте сохранилось лишь чуть более 1000-1200 особей якутского аборигенного скота (2, 14).

Целью нашей работы стала молекулярно-генетическая характеристика аллелофонда у якутского скота в сравнении с монгольской и холмогорской породами.

Методика. Материалом для анализа были образцы ткани (ушной выщип) крупного рогатого скота. При создании банка ДНК их отбирали у животных якутской породы ($n = 461$) (ГУ ГП «Бытантай», с. Саккырыр, с. Кустур, с. Таастаах, ф. Додор, ф. Кылыс и Олом кель, Республика Якутия). В сравнительных молекулярно-генетических исследованиях использовали пробы ДНК 23 коров якутской породы, а также коров двух других пород крупного рогатого скота, отнесенных по краниологической классификации к *Bos taurus primegenius*, в том числе холмогорской (печорский тип, $n = 39$) и монгольского местного скота ($n = 39$).

ДНК выделяли с помощью соответствующего набора реагентов DiatomTM DNA Prep100 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия). Крупный рогатый скот генотипировали по 10 локусам микросателлитов (TG1A126, TG1A122, TG1A227, ILST005, ILST006, ETH185, ETH10, ETH225, BM1818 и BM2113), используя методические разработки Центра биотехнологии и молекулярной диагностики Всероссийского НИИ животноводства (ВИЖ). Анализ ДНК и постановку ПЦР выполняли согласно рекомендациям (15). Фрагменты амплификации идентифицировали на генетическом анализаторе ABI Prism 3130xl («Applied Biosystems», США) с применением капиллярного электрофореза и лазерной детекции.

При статистической обработке данных использовали программное обеспечение GenAlEx (v. 6.4) (16). Принадлежность к собственной популяции оценивали по D. Paetkau с соавт. (17). Анализ результатов осуществляли в соответствии с методическими подходами, разработанными ранее (18-24).

Результаты. Анализ ДНК-профилей изучаемых пород выявил существенно меньшее генетическое разнообразие якутского скота (рис. 1). Среднее число аллелей на локус составило $5,60 \pm 0,50$, в то время как у двух других изучаемых пород *Bos taurus primegenius* оно равнялось $7,10 \pm 0,94$ и $8,90 \pm 1,17$ (соответственно у холмогорского и монгольского скота).

Меньшее генетическое разнообразие якутского скота выражалось в наименьшем среди изучаемых пород числе информативных и эффективных аллелей, которое составило соответственно $3,70 \pm 0,34$ и $3,46 \pm 0,28$ против $4,60-5,80$ и $4,37-4,90$ у холмогорской породы и монгольского скота.

У якутского скота было выявлено достоверное отклонение от генетического равновесия по 3 из 10 локусов микросателлитов, у холмогорского скота — по 8 из 10 локусов, в то время как в монгольской породе, напротив, достоверного смещения равновесия в локусах не обнаружили. Отклонение от равновесия следует рассматривать как указание на инбридированность популяции, обусловленную, по всей видимости, использованием ограниченного числа производителей и групповой технологией разведения.

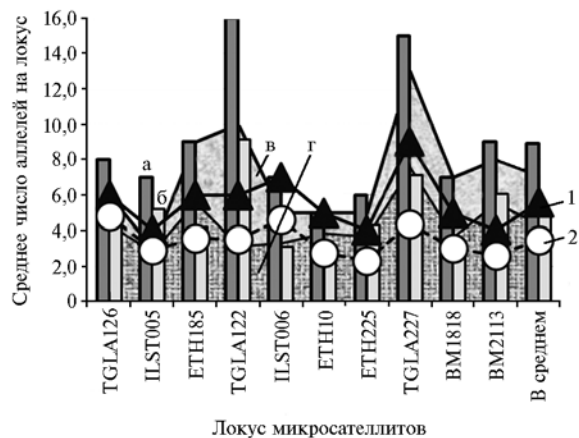


Рис. 1. Аллельные паттерны по 10 микросателлитным локусам у изучаемых пород крупного рогатого скота: а, б — соответственно среднее число аллелей (N_a) и число эффективных аллелей на локус ($N_e = 4,92 \pm 0,65$) у монгольского скота; в, г — то же у холмогорской породы ($N_e = 4,37 \pm 0,46$); 1 и 2 — то же у якутской породы ($N_e = 3,46 \pm 0,28$).

Результаты расчета наблюдаемой и ожидаемой степени гетерозиготности показали, что во всех изучаемых породах скота отмечался дефицит гетерозигот (рис. 2).

Минимальным дефицитом гетерозигот характеризовалась монгольская порода крупного рогатого скота (1,0 %), максимальным — холмогорская (11,9 %). У якутского скота дефицит гетерозигот составил 8,7 %.

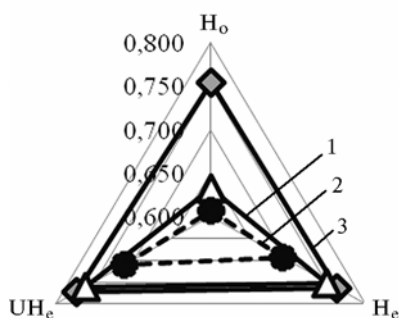


Рис. 2. Наблюдаемая (H_o), ожидаемая (H_e) и объективно ожидаемая (U_{H_e}) степень гетерозиготности у пород крупного рогатого скота — холмогорской (1), якутской (2) и монгольского скота (3).

О дефиците гетерозигот свидетельствуют также положительные значения индекса фиксации F_{is} , которые варьировали от 1,4 % в популяции монгольского скота до 16,0 % в холмогорской породе (печорский тип).

На основании анализа генетической консолидированности животных (17) все особи в изучаемых группах скота были генетически отнесены к собственной породе (рис. 3).

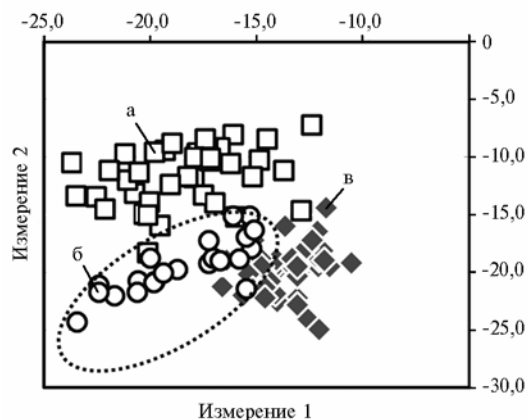


Рис. 3. Популяционное сравнение изучаемых пород крупного рогатого скота по D. Paetkau с соавт. (17): а — холмогорская порода, б — якутская порода, в — монгольский скот. Пунктирной линией ограничена область, занимаемая якутской породой.

При анализе значений F_{st} , рассчитанных с использованием функции молекулярной дисперсии (AMOVA), показано, что на изменчивость между индивидуумами приходится 74 %, на межпопуляционную и внутрииндивидуальную — по 13 %.

Сравнивая данные, которые получили, применяя в качестве критерия величину R_{st} , стоит отметить, что в общую вариабельность 75 % вносит межиндивидуальная изменчивость, 24 % — межпопуляционная и лишь 1 % —

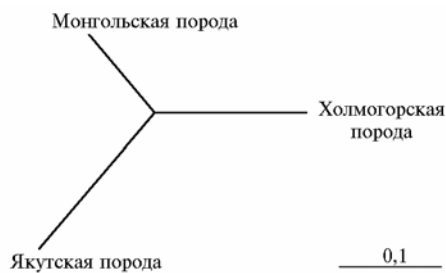


Рис. 4. Генеалогическое дерево трех аборигенных пород крупного рогатого скота, построенное по М. Nei с соавт. (25). Генетические дистанции между холмогорской и якутской породами 0,378, холмогорской и монгольской — 0,283, якутской и монгольской — 0,360.

Генетические особенности свидетельствуют, что аборигенные породы крупного рогатого скота являются носителями уникального аллелофонда и могут быть невосполнимым источником ценных генетических ресурсов, нуждающимся в защите и сохранении.

внутрииндивидуальная. Наблюдаемые различия нашли отражение в структуре генеалогического дерева (рис. 4).

Анализ генетических дистанций (см. рис. 4) выявил, что якутская порода генетически все-таки несколько ближе к холмогорскому скоту, чем к монгольской породе, что может быть обусловлено использованием в 1930-х годах быков-производителей холмогорской породы при разведении якутского скота.

Таким образом, у трех изученных пород крупного рогатого скота обнаружена 100 % генетическая консолидированность. Выявленные генетические особенности свидетельствуют, что аборигенные породы крупного рогатого скота являются носителями уникального аллелофонда и могут быть невосполнимым источником ценных генетических ресурсов, нуждающимся в защите и сохранении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Динамика популяционных генофондов при антропогенных воздействиях /Под ред. Ю.П. Алтухова. М., 2004.
2. Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства России /Под ред. И.А. Захаров. М., 2006.
3. FAO Guidelines for the in vivo conservation of animal genetic resources (draft). In: Regional Workshop «In vivo conservation of European livestock — Challenges applying guidelines into practice». Wageningen, The Netherlands, 2011 (<http://www.cgn.wur.nl/UK/CGN+General+Information/Education+and+information/Seminars/>).
4. Granberg L., Soini K., Kantanen J. Sakha Ynaga — cattle of the Yakuts. *Annales Academiae Scientiarum Fennicae (Helsinki, Finnish Academy of Science and Letters)*, 2009, *Humaniora* 355 (https://helda.helsinki.fi/bitstream/handle/10138/15166/sakha_ynaga_johdanto_2009.pdf?sequence=1).
5. Лискун Е.Ф. Крупный рогатый скот. М., 1951.
6. Tapio I., Tapio M., Li M.-H., Popov R., Ivanova Z., Kantanen J. Estimation of relatedness among non-pedigreed Yakutian cryo-bank bulls using molecular data: implications for conservation and breed management. *Genet. Sel. Evol.*, 2010, 42: 28-37.
7. Колесник Н.Н. Эволюция крупного рогатого скота. Сталинабад, 1949.
8. Li M.-H., Nogovitsina E., Ivanova Z., Erhardt G., Vilkki J., Popov R., Ammosov I., Kiselyova T., Kantanen J. Genetic contribution of indigenous Yakutian cattle to two hybrid populations, revealed by microsatellite variation. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.*, 2005, 18: 613-619.
9. Bennewitz J., Kantanen J., Tapio I., Li M.-H., Kalm E., Vilkki J., Ammosov I., Ivanova Z., Kiselyova T., Popov R., Meuwissen T.H.E. Estimation of breed contributions to present and future genetic diversity of 44 North Eurasian cattle breeds using core set diversity measures. *Genet. Sel. Evol.*, 2006, 38: 201-220.
10. Li M.-H., Tapio I., Vilkki J., Ivanova Z., Kiselyova T., Marzhanov N., Ćinkulov M., Stojanović S., Ammosov I., Popov R., Kantanen J. The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. *Mol. Ecol.*, 2007, 16: 3839-3853.
11. Kantanen J., Edwards C.J., Bradley D.G., Viinalass H., Thessler S., Ivanova Z., Kiselyova T., Ćinkulov M., Popov R., Stojanović S., Ammosov I., Vilkki J. Maternal and paternal genealogy of Eurasian taurine cattle (*Bos taurus*). *Heredity*, 2009, 103: 404-415.
12. Felius M. Cattle breeds — an Encyclopedia. Doetinchem, The Netherlands, 1995.
13. Чугунов А.В. Симментализированный скот Якутии. Якутск, 1981.
14. Kantanen J., Granberg L., Koroteva I., Partanen U., Pääkkönen E., Soini K. Genetic uniqueness and socio-cultural conservation values of the endangered Yakutian cattle (www.nordgen.org/ngdoc/husdyr/.../2010-WCGALPposter-kantanen.pdf).
15. Зиновьева Н.А., Попов А.Н., Эрнст Л.К., Марзанов Н.С., Боч-

- кареВ В.В., Стрeкoзoв Н.И., Брeм Г. Метoдичeские рeкoмeндaции пo иcпoльзoвaнию мeтoдa пoлимeрaзнoй цeпнoй рeакции в живoтнoвoдствe. Дубрoвицы, 1998.
16. Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes*, 2006, 6: 288-295 (V. GENALEX 6.4 UTR: http://appliedpopulationgenetics2010.wikispaces.com/file/view/GENALEX6.4_documentation.pdf (дaтa oбрaщeния 19.12.2010).
 17. Paetkau D., Slade R., Burden M., Estoup A. Direct, real-time estimation of migration rate using assignment methods: a simulation-based exploration of accuracy and power. *Mol. Ecol.*, 2004, 13: 55-65.
 18. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А. Биологические проблемы животноводства в XXI веке. М., 2008.
 19. Багиров В.А., Гладырь Е.А., Эрнст Л.К., Кленовицкий П.М., Зиновьева Н.А., Насибов Ш.Н. Сохранение и рациональное использование генетических ресурсов яка (*Bos mutus*). С.-х. биол., 2009, 2: 37-42.
 20. Аль-Кейси Т.В., Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Даваахуу Л., Горелов П.В. Оценка интродукции генофонда исходных видов у гибридов *Bos taurus* и *Poephagus grunniens* Монголии с использованием микросателлитов. *Проблемы биологии продуктивных животных*, 2011, 1: 6-8.
 21. Гузеев Ю.В., Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Эрнст Л.К., Демчук Н.П., Горелов П.В. Генетический мониторинг популяции серого украинского скота с использованием ДНК-маркеров. *Проблемы биологии продуктивных животных*, 2011, 1: 17-19.
 22. Траспов А.А., Зиновьева Н.А., Долматова И.Ю., Гладырь Е.А. Аллелофонд башкирской популяции черно-пестрого скота по микросателлитам в связи с показателями молочной продуктивности коров. *Проблемы биологии продуктивных животных*, 2011, 1: 65-68.
 23. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Аль-Кейси Т.В., Лучихина Е.М., Даваахуу Л., Горелов П.В., Жунушов А.Т. Сравнительный анализ пород крупного рогатого скота *Bos taurus* и домашнего яка *Bos (Poephagus) grunniens* по микросателлитам. *Зоотехния*, 2009, 8: 5-7.
 24. Гладырь Е.А., Горелов П.В., Маурчева В.Н., Шахин А.В., Чинаров Ю.И., Зиновьева Н.А. Оценка результативности тест-системы на основе микросателлитов в проведении ДНК-экспертизы крупного рогатого скота. *Достижения науки и техники АПК*, 2011, 8: 51-54.
 25. Nei M., Tajima F., Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. *J. Mol. Evol.*, 1983, 19: 153-170.

¹ГНУ Всероссийский НИИ животноводства
Россельхозакадемии,

142132 Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы,
e-mail: elenagladyr@mail.ru;

²ГНУ Якутский НИИ сельского хозяйства Сибирского
отделения Россельхозакадемии,

677001 Республика Саха (Якутия), г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23/1;

³Монгольский институт животноводства
им. Ж. Самбуу,

210153 Монголия, г. Улан-Батор, Зайсан-53;

⁴ГНУ НИИ сельского хозяйства Республики Коми
Россельхозакадемии,

167003 Республика Коми, г. Сыктывкар, ул. Ручейная, 27,

⁵Институт биотехнологии НАН Кыргызской Республики,
720071 Кыргызская Республика, г. Бишкек, просп. Чуй, 265

Поступила в редакцию
10 октября 2011 года

THE CHARACTERISTICS OF ALLELE POOL OF YAKUT CATTLE USING MICROSATELLITES

*E.A. Gladyr*¹, *Ya.L. Shadrina*², *P.V. Gorelov*¹, *L. Davaahuu*³, *R.G. Popov*²,
*V.S. Matyukov*⁴, *A.K. Agyshova*⁵, *N.A. Zinovieva*¹

S u m m a r y

The DNA bank of Yakut cattle consisting of 461 samples was created. The study of Yakut cattle population comparing to Holmogor and Mongolia cattle using ten microsatellites was carried out. Essentially lower number of effective alleles per loci (3.46 ± 0.28) in Yakut cattle population was observed that is probably due to limited number of bulls used for breeding. 100 per cent individuals of cattle breeds analyzed were assigned to own populations. The closer relation of Yakut cattle population to Holmogor cattle as to Mongolia cattle was determined.