

**Биоинженерия и биоресурсы  
(исследования Всероссийского НИИ животноводства)**  
**ДНК-технологии в генетике и селекции**

УДК 636.2:575.174.015.3

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГРУПП КРОВИ И МИКРОСАТЕЛЛИТОВ  
В ХАРАКТЕРИСТИКЕ НОВЫХ ТИПОВ СКОТА БУРОЙ ШВИЦКОЙ И  
СЫЧЕВСКОЙ ПОРОД\***

**П.В. ГОРЕЛОВ<sup>1</sup>, Д.Н. КОЛЬЦОВ<sup>2</sup>, Н.А. ЗИНОВЬЕВА<sup>1</sup>, Е.А. ГЛАДЫРЬ<sup>1</sup>**

Изучен аллелофонд новых типов крупного рогатого скота бурой швицкой и сычевской пород с помощью двух типов генетических маркеров — групп крови и микросателлитов. Показано, что для получения более полных данных о состоянии и структуре популяций следует сочетать использование обоих типов генетических маркеров.

**Ключевые слова:** системы групп крови, микросателлиты, генетическое разнообразие, породы крупного рогатого скота.

**Keywords:** blood group systems, microsatellites, genetic diversity, cattle breeds.

В характеристикике аллелофонда пород и популяций сельскохозяйственных животных находят применение генетические маркеры разных типов. У крупного рогатого скота (КРС) наибольшее распространение получили два типа — эритроцитарные антигены групп крови и микросателлиты (1, 2). Генетические маркеры позволяют судить о степени гетерозиготности животных, степени консолидации наследственных качеств пород, типов, линий, о генетических различиях между ними. Вместе с тем популяционно-генетические параметры, получаемые с использованием маркеров разных типов, могут существенно различаться (3). Поэтому для интерпретации данных анализа генетических маркеров необходимо учитывать особенности используемых маркерных систем.

В Смоленской области созданы два новых типа скота — смоленский бурой швицкой породы (2003 год) и вазузский сычевской породы (2008 год). В литературе имеются данные об оценке их аллелофонда как по эритроцитарным антигенам (4, 5), так и по микросателлитам (6), однако сравнительные и комплексные исследования с применением обоих типов маркеров до настоящего времени не проводились.

Нашей целью было изучение популяционно-генетических параметров у этих типов крупного рогатого скота, рассчитанных с использованием двух маркерных систем — групп крови и микросателлитов.

**Методика.** Материалом для исследования служили пробы крови и ткани (ушной выщип) животных смоленского типа бурой швицкой породы ( $n = 123$ ) и вазузского — сычевской породы ( $n = 67$ ).

Группы крови 8 генетических систем (A, B, F-V, J, L, M, S, Z) определяли в гемолитических тестах по общепринятым методикам, используя моноспецифические реагенты производства Смоленского НИИ сельского хозяйства.

Выделение ДНК проводили с помощью колонок фирмы «Nexttес» (Германия) и набора реагентов Diatom™ DNA Prep100 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия). Исследование микросателлитов выполняли на ДНК-ана-

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

лизаторе ABI3130xl («Applied Biosystems», США) по методикам Центра биотехнологии и молекулярной диагностики Всероссийского НИИ животноводства. Набор маркеров для анализа включал следующие локусы: TGLA126, TGLA122, TGLA227, INRA023, ILST005, ILST006, ETH185, ETH10, ETH225, BM1818, BM1824, BM2113, SPS115.

Статистическую обработку данных осуществляли по стандартным методикам (7) с использованием программного обеспечения GenAIEx (версия 6.4). Для подтверждения индивидуального соответствия особи породе по методу J.K. Pritchard с соавт. (8) применяли программное обеспечение Structure (ver. 2.3.1). Анализ проводился без введения предварительной информации о принадлежности особи к породе с указанием наиболее вероятного числа популяций ( $k = 2$ ) при уровне исключения (критерий Q), равном 75 %.

**Результаты.** Проведенные исследования изучаемой выборки крупного рогатого скота выявили наличие 74 аллелей 8 систем групп крови и 106 аллелей 13 локусов микросателлитов, что в среднем на локус составило соответственно  $9,25 \pm 2,20$  и  $8,15 \pm 0,27$  аллелей. Большее разнообразие по группам крови было обусловлено наличием в ЕАВ-локусе аллелей, специфичных для каждого типа крупного рогатого скота, что подтверждается наличием приватных аллелей, число которых составило 28 у смоленского типа бурой швицкой породы (в том числе 27 в локусе ЕАВ) и 23 — у вазузского типа сычевской породы (в том числе 22 в локусе ЕАВ). В микросателлитных локусах у изучаемых типов скота идентифицировали соответственно 15 и 10 приватных аллелей. Следует отметить большее разнообразие смоленского типа КРС по сравнению с вазузским как по группам крови, так и по микросателлитам. Однако число эффективных аллелей (они вносят наибольший вклад в расчет степени гетерозиготности) было выше в локусах микросателлитов, что указывает на более равномерное распределение аллелей микросателлитов в популяции по сравнению с группами крови (табл. 1).

#### 1. Показатели полиморфизма групп крови и микросателлитов в популяциях изучаемых типов крупного рогатого скота

Группа животных	<i>n</i>	Число аллелей в среднем на локус			
		группы крови (8 локусов)		микросателлиты (13 локусов)	
		общее	эффективных	общее	эффективных
Смоленский тип бурой швицкой породы	123	$6,37 \pm 1,57$	$3,39 \pm 1,73$	$7,38 \pm 0,24$	$4,32 \pm 0,35$
Вазузский тип сычевской породы	67	$5,75 \pm 1,39$	$3,33 \pm 1,57$	$7,00 \pm 0,20$	$4,26 \pm 0,44$
Итого	190	$9,25 \pm 2,20^*$	$3,36 \pm 1,13^*$	$8,15 \pm 0,27^*$	$4,29 \pm 0,28^*$

Причина. Отмеченные звездочкой показатели выше соответствующих величин для каждой из изучаемых популяций, поскольку представляют собой не средневзвешенное значение среднего числа аллелей в каждой группе крупного рогатого скота и рассчитываются, как среднее число выявленных аллелей во всей изучаемой выборке в расчете на один диплоидный локус.

#### 2. Наблюдаемая ( $H_o$ ) и ожидаемая ( $H_e$ ) гетерозиготность в популяциях изучаемых типов скота при анализе по группам крови и микросателлитам

Группа животных	<i>n</i>	По группам крови (8 локусов)		По микросателлитам (13 локусов)	
		$H_o$	$H_e$	$H_o$	$H_e$
Смоленский тип бурой швицкой породы	123	$0,402 \pm 0,131$	$0,375 \pm 0,112$	$0,738 \pm 0,040$	$0,745 \pm 0,027$
Вазузский тип сычевской породы	67	$0,586 \pm 0,106$	$0,452 \pm 0,083$	$0,692 \pm 0,050$	$0,731 \pm 0,030$
Итого	190	$0,494 \pm 0,085$	$0,416 \pm 0,070$	$0,715 \pm 0,032$	$0,738 \pm 0,020$

Сравнительная оценка уровня гетерозиготности в популяциях при расчете с использованием двух маркерных систем выявила существенно меньшие абсолютные наблюдаемые и ожидаемые значения по группам кро-

ви, чем по микросателлитами. При этом изучаемые типы характеризовались избытком гетерозигот по группам крови (индекс фиксации  $F_{is}$  равняется соответственно  $-0,042$  и  $-0,297$ ) и, напротив, недостатком гетерозигот по микросателлитам ( $F_{is}$  составляет соответственно  $0,037$  и  $0,029$ ) (табл. 2). По всей видимости, это связано с тем, что некоторые аллели групп крови ассоциированы с показателями продуктивности, в то время как микросателлиты, как правило, селекционно нейтральны.

Расчет индекса фиксации  $F_{st}$  показал, что  $97,5\%$  всей изменчивости по группам крови было обусловлено внутрипородными различиями и  $2,5\%$  приходилось на межпородные различия, в то время как при использовании в качестве маркеров микросателлитов соответствующие значения равнялись  $97,8$  и  $2,2\%$ .

Среднее значение критерия  $Q$ , характеризующего степень членства в популяции, у смоленского типа бурого швицкого скота при использовании в качестве маркеров групп крови составило  $0,879 \pm 0,014$ , микросателлитов —  $0,849 \pm 0,017$ , обоих типов маркеров —  $0,948 \pm 0,012$ . У вазузского типа сычевского скота указанные значения были равны соответственно  $0,900 \pm 0,021$ ,  $0,897 \pm 0,017$  и  $0,967 \pm 0,014$ . На основании анализа полиморфизма групп крови  $90,2\%$  животных смоленского типа и  $88,1\%$  животных вазузского типа генетически относились к собственной породе ( $Q > 75\%$ ), при сравнении по микросателлитам — соответственно  $80,5$  и  $89,6\%$ , в то время как включение в оценку обоих типов маркеров увеличивало долю таких животных соответственно до  $94,3$  и  $98,5\%$ . Следовательно, комбинирование аллельных профилей КРС по двум системам маркеров повышало точность определения породной принадлежности особей. Сопоставляя сходство значений критерия  $Q$ , рассчитанных по группам крови и микросателлитам, следует отметить хотя и положительные, но относительно низкие коэффициенты корреляции:  $r = +0,22$  и  $r = +0,25$  у животных соответственно смоленского и вазузского типа. По-видимому, при выведении типов проводились подборы с учетом генотипов по группам крови, в то время как микросателлитные профили животных в качестве критерия не учитывались.

Таким образом, выполненные нами исследования групп крови и микросателлитов у двух новых типов крупного рогатого скота бурой швицкой и сычевской пород показали, что для получения более полных данных о состоянии и структуре популяций следует сочетать использование обоих типов генетических маркеров.

## Л И Т Е Р А Т У Р А

- Букаров Н.Г., Хрунова А.И., Новиков А.А., Мышина Н.С., Политкин Д.Ю. Оценка быков-производителей по генетическим маркерам групп крови. Зоотехния, 2010, 11: 2-3.
- Зиновьева Н.А., Стрецов Н.И., Молофееva Л.А. Оценка роли ДНК-микросателлитов в генетической характеристике популяции черно-пестрого скота. Зоотехния, 2009, 1: 2-4.
- Проскурина Н.В., Тихомирова Т.И., Гладырь Е.А., Ларинова П.В., Зиновьева Н.А. Сравнительный анализ информативности эритроцитарных антигенов и ДНК-микросателлитов в селекционно-племенной работе со свиньями канадской селекции. С.-х. биол., 2007, 6: 41-47.
- Гонтов М.Е., Кольцов Д.Н., Чернушенко В.К., Дмитриева В.И. Иммуногенетический мониторинг при выведении и совершенствовании типа «Смоленский» бурого швицкого скота в Смоленской области. Достижения науки и техники АПК, 2011, 3: 54-55.
- Кольцов Д.Н., Чернушенко В.К., Романов Ю.Д., Гонтов М.Е. Мониторинг аллелофонда групп крови в процессе селекции и создания нового типа сычевского скота. Достижения науки и техники АПК, 2011, 3: 56-58.

6. Стрецов Н.И., Зиновьева Н.А., Горелов П.В., Листратенкова В.И., Коновалова Е.Н., Чернушенко В.К., Эрнст Л.К. Генетическая характеристика созданных типов скота бурой швицкой и сывчевской пород с использованием полиморфизма микросателлитных локусов. С.-х. биол., 2009, 2: 10-15.
7. Вейр Б. Анализ генетических данных. М., 1995.
8. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 2000, 155: 945-959.

*1ГНУ Всероссийский НИИ животноводства  
Россельхозакадемии,  
142132 Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы,  
e-mail: n\_zinovieva@mail.ru;*  
*2ГНУ Смоленский НИИ сельского хозяйства  
Россельхозакадемии  
214025 г. Смоленск, ул. Нахимова, 21,  
e-mail: koltsodm@yandex.ru*

*Поступила в редакцию  
18 июля 2011 года*

## THE COMPARATIVE ANALYSIS OF BLOOD GROUPS AND MICROSATELLITES IN CHARACTERISTICS OF NEW CATTLE TYPES OF BROWN SWISS AND SYCHEVSKAJA BREEDS

*P.V. Gorelov<sup>1</sup>, D.N. Kol'tsov<sup>2</sup>, N.A. Zinovieva<sup>1</sup>, E.A. Gladyr<sup>1</sup>*

### S u m m a r y

The allele pool of new cattle types of Brown Swiss and Sychevskaja breeds using two types of genetic markers (blood groups and microsatellites) was studied. It was shown that the combined application of both marker types provides with more complete data about population statement and structure.

### Новые книги

**Основы частной гистологии:** Уч. пос. для вузов /Под ред. В.В. Яглова, Н.В. Ягловой. М.: изд-во «КолосС», 2011, 432 с.

Программированное учебное пособие предназначено для получения базисных знаний по основам частной гистологии и объективного контроля (самоконтроль, текущий, промежуточный, итоговый) процессов формирования, выживаемости и восстановления знаний в ходе подготовки специалистов — ветеринарных врачей. Рассмотрены нервная, сенсорная, сердечно-сосудистая, эндокринная системы, система органов кроветворения и иммунной защиты, пищеварительная, дыхательная, мочевыделительная системы, кожный покров, половые системы самца и самки.

**Бакай А.В., Коцииш И.И., Скрипникович Г.Г. и др. Практикум по генетике:** Уч. пос. для вузов. М.: изд-во «КолосС», 2010, 304 с.

Рассмотрены биометрические методы анализа количественных и качественных признаков, цитологические и молекулярные основы наследственности, закономерности наследования признаков. Темы практических занятий посвящены генетике пола, аномалий и болезней, генетике популяций, иммуногенетике, биотехнологии. Помещены контрольные вопросы и задания для самостоятельной работы. Для студентов вузов по специальности «Зоотехния».

**Жуленко В.Н., Таланов Г.А., Смирнова Л.А. Токсикология.** М.: изд-во «Ко-

лосС», 2010, 351 с.

В учебнике для вузов представлены материалы по общей и частной ветеринарной токсикологии, включающие сведения о химических и кормовых токсикозах, фитотоксикозах и микотоксикозах, поражениях животных отравляющими веществами и ядами и данные по токсической характеристике пилохлорированных бифенилов и хлордиоксинов. Приведены максимально допустимые уровни токсических элементов антибиотиков, пестицидов, нитрозаминов и других остатков препаратов в продукции животноводства. Для студентов по специальности «Ветеринария». Книга может быть полезна ветеринарным и ветеринарно-санитарным врачам животноводческих хозяйств, мясокомбинатам и токсикологам.

**Лысов В.Ф., Костина Т.Е., Максимов В.И. Этология животных.** М.: изд-во «КолосС», 2010, 296 с.

Учебник освещает систематизированную совокупность современных знаний по этиологии животных. Весь материал разделен на четыре части. Первая часть посвящена изложению общей этиологии, вторая — частной этиологии сельскохозяйственных животных, третья — частной этиологии домашних животных, четвертая — методике выполнения лабораторных и практических работ по этиологии. Материал второй и третьей частей разделен по видам животных: этиология крупного рогатого скота, овец, лошадей, свиней, кроликов, птиц, собак, кошек (как взрослых особей, так и детенышей).