

ИЗМЕНЧИВОСТЬ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ В ПОРОДАХ ОВЕЦ, РАЗВОДИМЫХ В РОССИИ*

Т.Е. ДЕНИСКОВА¹, М.И. СЕЛИОНОВА², Е.А. ГЛАДЫРЬ¹, А.В. ДОЦЕВ¹,
Г.Т. БОБРЫШОВА², О.В. КОСТЮНИНА¹, Г. БРЕМ³, Н.А. ЗИНОВЬЕВА¹

На современном этапе развития предварительное исследование по ДНК-маркерам — обязательный этап разработки программ по сохранению и описанию генетических ресурсов. Российское овцеводство представлено многообразием пород, включающим все известные направления продуктивности и типы шерстного покрова. Однако до настоящего времени лишь некоторые породы, объединенные регионом разведения или типом хозяйственного использования, были исследованы по ДНК-маркерам, в том числе микросателлитам. В представленной работе мы изучили 25 пород овец ($n = 751$), разводимых на территории России: тонкорунных — дагестанскую горную (DAG), грозненскую (GRZ), кулундинскую (KUL), маньчжского мериноса (MNM), сальскую (SAL), ставропольскую (STA), советского мериноса (SVM), волгоградскую (VOL), забайкальскую (ZBL); полутонкорунных — горноалтайскую полутонкорунную (ALT), куйбышевскую (KU), северокавказскую мясошерстную (NC), русскую длинношерстную (RLH), цыгайскую (TSIG); грубошерстных — андийскую (AND), буубэй (BUB), эдильбаевскую (EDL), карачаевскую (KAR), кучугуровскую (KCH), калмыцкую (KLM), каракульскую (KPK), лезгинскую (LEZ), романовскую (ROM), тушинскую (TSH), тувинскую короткожирнохвостую (TUV). Исследование проводилось по 11 локусам микросателлитов (OarCP49, INRA063, HSC, OarAE129, MAF214, OarFCB11, INRA005, SPS113, INRA23, MAF65, McM527). Для обработки данных использовали программное обеспечение GenAEx 6.5 и PAST. В целом изучаемые породы характеризовались умеренно высоким аллельным разнообразием. Среднее число аллелей на локус (N_a) варьировало от $7,20 \pm 0,98$ у KUL до $10,30 \pm 0,99$ у TSIG. Значения N_a 10,0 были выявлены в породах TSIG, TUV, BUB и KPK, N_a 8,0 — у KUL, RLH и SVM. Эффективное число аллелей (N_e) оказалось максимальным в породах KPK и TUV (N_e 5,7), минимальным — у KCH, ALT, RLH и NC (N_e 4,3). Наблюдаемая гетерозиготность (H_o) в 21 из 25 исследованных пород варьировала от $0,489 \pm 0,095$ у TUV до $0,651 \pm 0,050$ у ROM и $0,651 \pm 0,060$ у SVM, в четырех остальных породах (BUB, TSIG, ZBL и TUV) — от $0,798 \pm 0,023$ у BUB до $0,977 \pm 0,017$ у TUV. В 21 из 25 пород был выявлен существенный дефицит гетерозигот (значение F_{IS} варьировало от 0,13 у ROM до 0,36 у KAR и SAL), в четырех остальных (BUB, TSIG, ZBL и TUV) отмечали избыток гетерозигот (значение F_{IS} варьировало от $-0,04$ до $-0,22$). Проведенный анализ молекулярной вариации (AMOVA) показал, что в генетической изменчивости пород 5,02 % приходилось на различия между породами, 94,98 % — на внутривидовую составляющую. При построении филогенетического дерева на основе матрицы попарных генетических дистанций М. Nei (1972) методом UMPGA было установлено, что характер выявленных связей главным образом обусловлен типом шерстного покрова, направлением продуктивности и регионом разведения пород. Таким образом, выявленный полиморфизм в 11 микросателлитных локусах достаточно информативен для дифференциации овец различных пород. Для более глубокого изучения популяционной структуры и получения новой информации о генетическом разнообразии на геномном уровне необходимо использовать ДНК-микроматрицы на основе множественных SNP-маркеров.

Ключевые слова: породы овец, микросателлиты, генетическое разнообразие.

С развитием ДНК-технологий связано открытие и применение разнообразных генетических маркеров, включая микросателлиты, которые стали значимым источником информации о текущем состоянии генетических ресурсов животных (1, 2). Выбор микросателлитов в качестве генетических маркеров обусловлен их уникальными особенностями: широким распространением и равномерным распределением в геноме, аллельным разнообразием, высокой информативностью, кодоминантным наследованием по менделевскому типу, высокой воспроизводимостью, а также легкостью автоматизации анализа (3-5). В мировой и отечественной практике овцеводства микросателлитный анализ используется для оценки генетического разнообразия пород и изучения филогенетических связей между ни-

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, проект № 14-36-00039.

ми (6-8), подтверждения происхождения (9) и породной принадлежности особей (10), исследования структуры популяции и дрейфа генов (11, 12), установления степени инбридинга в определенных группах и стадах (13).

В настоящее время все большее применение находят высокопроизводительные методы генотипирования, такие как полногеномное SNP (single nucleotide polymorphism) сканирование с помощью ДНК-матриц разной плотности (14-17) и генотипирование посредством секвенирования (genotyping-by-sequencing, GBS) (18). Несмотря на это, микросателлиты остаются актуальными в качестве высокоинформативных ДНК-маркеров при проведении популяционно-генетических исследований (5). Анализ на их основе до сих пор служит незаменимым инструментом для рутинного тестирования животных на достоверность происхождения и принадлежность к породе. Прежде всего это обусловлено тем фактом, что панели диагностики происхождения на основе высокоинформативных SNP-маркеров весьма дорогостоящи, а группы крови сильно уступают в точности анализа микросателлитам (19).

В России разводят овец 37 пород, в том числе 13 тонкорунных, 10 полутонкорунных, 12 грубошерстных и 2 полугрубошерстных (20). Они также представлены всеми известными типами по направлению продуктивности (шерстные, мясошерстные, шерстно-мясные, смушковые, мясосальные, мясошерстно-молочные, шубно-мясные). Такое разнообразие обусловлено особенностями климатических, кормовых и социальных факторов тех регионов, где были созданы породы.

В последние годы были выполнены генетические исследования некоторых российских пород овец по микросателлитным маркерам (21-23). В рамках программ по изучению генетического разнообразия и установлению популяционной структуры пород овец Северной Евразии проводилось сравнение российских пород с породами из Норвегии, Дании, Швеции и Эстонии (24). Для генетической категоризации полутонкорунных пород были задействованы овцы куйбышевской, русской длинношерстной и северокавказской мясошерстной пород (25). Однако до сих пор генетические исследования овец по микросателлитным маркерам в России затрагивали лишь отдельные породные группы, объединенные продуктивным типом или регионом разведения.

В настоящей работе мы впервые сравнили 25 российских пород овец, представляющих все известные типы, по микросателлитным маркерам. В целом полиморфизм в 11 микросателлитных локусах оказался достаточно информативным для межпородной дифференциации. Полученные нами данные наиболее полно отражают состояние аллелофонда и генетическое разнообразие большинства основных пород овец, распространенных в России.

Целью работы стало исследование изменчивости микросателлитов, оценка разнообразия и степени генетической дифференциации у различных пород овец, разводимых в России.

Методика. Пробы ткани были отобраны у овец 25 российских пород — тонкорунных, полутонкорунных, грубошерстных, с разным типом по мясной, шерстной и молочной продуктивности ($n = 751$).

Для выделения ДНК применяли колонки Nexttec («Nexttec Biotechnologie GmbH», Германия), набор ДНК-Экстран (ЗАО «Синтол», Россия) и метод экстракции с использованием перхлората натрия (26). Для генетического исследования были выбраны 11 микросателлитов, объединенных в две мультиплексные панели, включающие локусы OarCP49, INRA063, HSC, OarAE129, MAF214, OarFCB11, INRA005 и локусы SPS113,

INRA23, MAF65, Mcm527. Реакции проводили в конечном объеме 10 мкл в ПЦР буфере с 2 мМ dNTPs, 1,0 мМ MgCl₂, 0,5 мМ смеси праймеров, 1 ед. Taq-полимеразы («Диалат Лтд», Россия) и 50-100 нг геномной ДНК. Состав ПЦР буфера: 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 67,7 мМ Трис-НСl (рН = 8,8), 0,1 объема Tween 20. После начальной денатурации (95 °С, 4 мин) проводили 41 (панель 1) и 35 (панель 2) циклов амплификации в следующем температурно-временном режиме: 95 °С, 20 с; 63 °С (панель 1) и 55 °С (панель 2), 30 с; 72 °С, 1 мин. Фрагменты исследовали на генетическом анализаторе ABI3130xl («Applied Biosystems», США) с использованием программного обеспечения GeneMapper 4 («Applied Biosystems», США).

Программа GenAlEx 6.5 (27) была использована для расчета следующих статистических показателей: среднее число аллелей на локус (N_a), эффективное число аллелей (N_e), число информативных аллелей или аллелей с частотой встречаемости более 5 % (N_a 5 %), ожидаемая (H_e) и наблюдаемая (H_o) гетерозиготность, коэффициент инбридинга (F_{IS}). Степень генетической дифференциации пород оценивали по показателю F_{ST} (28) и генетическим дистанциям по М. Nei (D_N) (29) при парном сравнении. Значения F_{ST} визуализировали посредством анализа главных координат (Principal Coordinates Analysis, PCoA) в программе GenAlEx 6.5. На основе матрицы генетических дистанций М. Nei (29) в программе PAST (30) строили филогенетическое дерево по методу невзвешенного попарного среднего (UPGMA, Unweighted Pair-Group Method Using Arithmetic Averages).

Результаты. В таблице 1 представлено краткое описание выборки овец, вовлеченных в исследование.

1. Характеристика 25 пород овец (*Ovis aries*), наиболее распространенных в России и изученных по 11 микросателлитным локусам (n = 751)

Порода	Код	n	Регион
Тонкорунные			
<i>Шерстные</i>			
Грозненская	GRZ	30	Республика Калмыкия
Ставропольская	STA	32	Ставропольский край, Калмыкия
Маньчский меринос	MNM	30	Ставропольский край
Советский меринос	SVM	23	Ставропольский край
Сальская	SAL	30	Ростовская обл.
<i>Мясошерстные</i>			
Волгоградская	VLG	30	Волгоградская обл.
Дагестанская горная	DAG	30	Республика Дагестан
<i>Шерстно-мясные</i>			
Забайкальская тонкорунная	ZBL	30	Республика Саха (Якутия)
Кулундинская	KUL	30	Алтайский край
Полутонкорунные			
<i>Мясошерстные</i>			
Русская длинношерстная	RLH	30	Воронежская обл.
Куйбышевская	KUI	30	Самарская обл.
Северокавказская мясошерстная	NC	30	Ставропольский край
<i>Шерстно-мясные</i>			
Цигайская	TSIG	30	Саратовская обл., Ростовская обл.
Горноалтайская полутонкорунная	ALT	30	Алтайский край
Грубшерстные			
<i>Шубно-мясные</i>			
Романовская	ROM	30	Ярославская обл., Рязанская обл., Московская обл.
<i>Смушковые</i>			
Каракульская	KRK	32	Республика Калмыкия, Астраханская обл.
<i>Мясосальные</i>			
Эдильбаевская	EDL	30	Волгоградская обл.
Калмыцкая курдючная	KLM	30	Республика Калмыкия
<i>Мясошерстные</i>			
Буубэй	BUB	30	Республика Саха (Якутия)
Тувинская короткожирнохвостая	TUV	30	Республика Тыва
Кучугуровская	KCH	34	Воронежская обл.
<i>Мясо-шерстно-молочные</i>			
Карачаевская	KAR	30	Карачаево-Черкесия

Лезгинская	LEZ	30	Республика Дагестан
Андийская	AND	30	Республика Дагестан
Тушинская	TSH	30	Республика Дагестан

Среднее число аллелей на локус варьировало от $7,20 \pm 0,98$ у KUL до $10,30 \pm 0,99$ у TSIG (табл. 2). Наибольшими значениями этого показателя характеризовались четыре породы (TSIG, TUV, BUB, KRK с Na 10,0), наименьшими — три породы (KUL, RLH, SVM с Na 8,0). Эффективное число аллелей было максимальным в породах KRK и TUV (Ne 5,7), минимальным — в породах KCH, ALT, RLH и NC (Ne 4,3). Размах изменчивости по числу информативных аллелей на локус (Na 5 %) варьировал от 4,70 у STA до 6,40 у TSIG.

2. Характеристика аллелофонда и параметры генетического разнообразия российских пород овец (*Ovis aries*) по 11 микросателлитным локусам

Порода	Na	Ne	Na 5 %	H _o	H _e	F _{IS}
EDL	9,30±1,21	4,66±0,71	5,30±0,72	0,557±0,073	0,730±0,043	0,27±0,07
VLG	8,90±1,22	5,08±0,70	5,80±0,63	0,525±0,082	0,751±0,047	0,33±0,08
SAL	8,50±0,92	5,05±0,63	5,90±0,64	0,512±0,089	0,764±0,036	0,36±0,09
KAR	9,20±1,10	5,25±0,72	5,70±0,63	0,516±0,087	0,764±0,040	0,36±0,09
KLM	9,50±0,96	5,07±0,63	5,90±0,50	0,577±0,071	0,771±0,030	0,27±0,08
GRZ	9,00±1,14	4,92±0,62	5,40±0,67	0,540±0,089	0,761±0,033	0,33±0,09
DAG	9,00±1,07	5,45±0,82	5,40±0,86	0,560±0,079	0,774±0,032	0,30±0,08
TSH	9,60±1,13	5,02±0,79	5,70±0,60	0,507±0,081	0,748±0,042	0,35±0,08
AND	8,70±0,98	4,80±0,58	5,40±0,65	0,550±0,074	0,757±0,033	0,29±0,08
LEZ	8,60±0,72	4,74±0,74	5,80±0,71	0,510±0,070	0,730±0,044	0,33±0,06
ALT	8,50±0,99	4,28±0,70	4,80±0,61	0,509±0,084	0,678±0,065	0,26±0,09
KUL	7,20±0,98	4,42±0,72	5,30±0,70	0,489±0,095	0,701±0,053	0,33±0,12
KRK	10,00±0,91	5,75±0,86	5,40±0,76	0,634±0,047	0,785±0,033	0,20±0,04
KUI	8,50±1,06	5,32±0,80	5,90±0,69	0,646±0,052	0,767±0,036	0,16±0,05
KCH	9,20±1,15	4,24±0,53	4,80±0,39	0,574±0,059	0,729±0,032	0,22±0,08
RLH	8,00±0,79	4,28±0,51	4,90±0,41	0,555±0,066	0,726±0,041	0,26±0,07
NC	8,50±0,90	4,32±0,59	5,00±0,42	0,586±0,053	0,726±0,041	0,20±0,04
STA	9,20±0,92	4,88±0,63	4,70±0,45	0,575±0,061	0,765±0,027	0,26±0,06
MNM	8,20±0,90	4,54±0,51	5,00±0,45	0,647±0,055	0,752±0,029	0,15±0,05
TSIG	10,30±0,99	5,53±0,42	6,40±0,48	0,873±0,014	0,807±0,019	-0,09±0,03
TUV	10,10±1,16	5,74±0,58	6,30±0,52	0,977±0,017	0,808±0,020	-0,22±0,04
BUB	10,00±1,13	5,11±0,69	6,30±0,76	0,798±0,023	0,774±0,026	-0,04±0,04
ZBL	8,90±0,77	5,32±0,53	6,00±0,45	0,891±0,018	0,794±0,021	-0,13±0,03
ROM	9,80±1,04	5,27±0,81	5,20±0,57	0,651±0,050	0,758±0,043	0,13±0,06
SVM	8,00±0,75	4,95±0,44	5,20±0,42	0,651±0,060	0,782±0,020	0,17±0,07
В среднем	8,99±0,20	4,96±0,13	5,50±0,59	0,616±0,015	0,756±0,007	0,20±0,02

Примечание. Na — среднее число аллелей на локус, Ne — число эффективных аллелей на локус, Na 5 % — число информативных аллелей на локус (с частотой встречаемости от 5 %), H_o — наблюдаемая гетерозиготность, H_e — ожидаемая гетерозиготность, F_{IS} — коэффициент инбридинга. Расшифровку аббревиатур для пород овец см. в таблице 1.

Наблюдаемая гетерозиготность в 21 из 25 исследованных пород варьировала от $0,489 \pm 0,095$ у TUV до $0,651 \pm 0,050$ у ROM и $0,651 \pm 0,060$ у SVM. В четырех породах (BUB, TSIG, ZBL, TUV) гетерозиготность оказалась существенно выше — от $0,798 \pm 0,023$ у BUB до $0,977 \pm 0,017$ у TUV. Сравнение наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности выявило значительный дефицит гетерозигот в 21 из 25 исследованных пород: от 10,5 % (ROM) до 24,9 и 25,1 % (соответственно KAR и SAL). Наличие дефицита гетерозигот подтверждали положительные значения коэффициента инбридинга F_{IS}, которые колебались от 0,13 у ROM до 0,36 у KAR и SAL. Незначительный (от 2,5 до 16,8 %) избыток гетерозигот был выявлен у BUB, TSIG, ZBL и TUV. Значения F_{IS} для этих четырех пород варьировали от -0,04 до -0,22.

Анализ молекулярной вариации (AMOVA) показал, что в генетической изменчивости пород 5,02 % приходилось на различия между породами, 94,98 % — на внутривидовую составляющую.

Генетические связи изучаемых пород на основании индекса F_{ST} в форме PCoA-плота представлены на рисунке 1. Минимальные значения индекса были отмечены для пар GRZ-STA ($F_{ST} = 0,013$), MNM-SVM ($F_{ST} = 0,014$), STA-SVM ($F_{ST} = 0,014$), ZBL-SVM ($F_{ST} = 0,014$), максимальные — для пар KUL-EDL ($F_{ST} = 0,071$) и ALT-ROM ($F_{ST} = 0,070$).

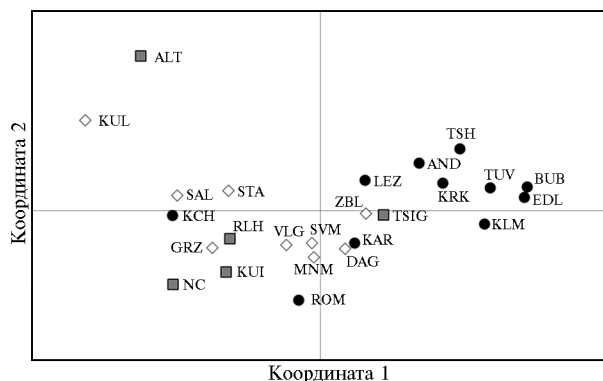


Рис. 1. Генетическая дифференциация 25 российских пород овец (*Ovis aries*), принадлежащих к различным классам по типу шерстного покрова и направлению продуктивности, в пространстве первых двух главных координат, рассчитанных по показателю F_{ST} на основании PCoA-анализа при парном сравнении для 11 локусов микросателлитов: ● — грубошерстные, ■ — полутонкорунные, ◇ — тонкорунные породы овец. Расшифровку аббревиатур для пород овец см. в таблице 1.

Согласно D.L. Hartl и A.G. Clark (31), значения F_{ST} менее 0,05 свидетельствуют о незначительной, 0,05-0,15 — об умеренной, 0,15-0,25 — о значительной генетической дифференциации. Большинство изученных нами российских пород характеризовались незначительной или умеренной генетической дифференциацией. Следует отметить, что породы KUL и ALT находились на некотором генетическом удалении от большинства других. Это подтверждалось величиной $F_{ST} = 0,05$. М.Ю. Озеров с соавт. (25) установили, что значения F_{ST} между российскими полутонкорунными породами овец составляют в среднем 0,03. В целом это согласуется с полученными нами данными: значения F_{ST} между парами TSIG-KUI и TSIG-NC были равны соответственно 0,026 и 0,031, и только для пары NC-KUI этот показатель оказался ниже — 0,015.

Анализ генетических дистанций (29) показал наибольшую удаленность пород KCH-BUB, ROM-TUV, KCH-TUV, ALT-ROM и KUL-TUV, для которых D_N составили соответственно 0,490, 0,457, 0,448, 0,431 и 0,430. Это могло быть следствием географической удаленности регионов разведения, что препятствовало обмену генетическим материалом. Минимальные генетические дистанции выявлялись главным образом между породами, относящимися к одному направлению продуктивности: GRZ-STA ($D_N = 0,087$), MNM-SVM ($D_N = 0,099$), STA-SVM ($D_N = 0,102$). В целом можно отметить, что генетические связи между изученными породами, оцененные по показателям D_N и F_{ST} , носили сходный характер.

На филогенетическом дереве (рис. 2), построенном на основании генетических дистанций D_N , выделялись самостоятельные ветви, сформированные кучугуровской и романовской породами, что, вероятно, стало следствием их генетической уникальности. Остальные породы образовывали два кластера, первый из которых был представлен исключительно тонкорунными и полутонкорунными, второй — всеми грубошерстными породами, а также цыгайской и забайкальской тонкорунной.

В первом кластере выделялись четыре подкластера, каждый из которых объединял несколько пород. Так, общий подкластер (1-1) формировали тонкорунные породы — грозненская, ставропольская, манычский меринос и советский меринос, что объясняется одним направлением продуктивности, ареалом разведения и длительным (более 25 лет) использованием генофонда австралийского мериноса при их совершенствовании

(32). Самостоятельный подкластер (1-2) сформировали полутонкорунные породы — куйбышевская, северокавказская мясошерстная и русская длинношерстная. Известно, что для улучшения первых двух пород использовались бараны английской породы ромни-марш (33, 34), а при выведении русской длинношерстной (на начальном этапе) и северокавказской мясошерстной (на завершающем этапе пороодообразования) были привлечены овцы породы линкольн (35). Объединение пород мясошерстного направления продуктивности (дагестанской горной и волгоградской) в отдельный кластер (1-3) могло быть обусловлено использованием на начальном этапе их выведения местных беспородных грубошерстных курдючных и жирнохвостых овец (в качестве материнской основы), а на завершающем — мериносовых пород кавказской и грозненской (36). В четвертый подкластер (1-4) входили сальская, кулундинская и горноалтайская полутонкорунные породы.

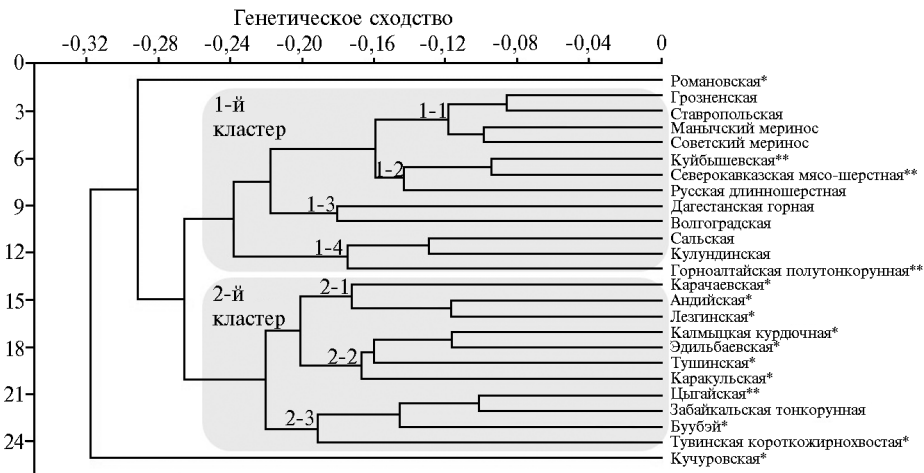


Рис. 2. Филогенетическое дерево, построенное на основе матрицы попарных генетических дистанций между изученными российскими породами овец (*Ovis aries*) по М. Неи (29): 1-1, 1-2, 1-3 и 1-4 — подкластеры 1-го кластера, 2-1, 2-2 и 2-3 — подкластеры 2-го кластера. Одной звездочкой отмечены грубошерстные, двумя — полутонкорунные породы; остальные — тонкорунные породы. Для построения дендрограммы использовался метод UMPGA.

Во втором кластере выделялось три подкластера. Первый (2-1) был сформирован овцами карачаевской, андийской и лезгинской пород, созданных в разных горных зонах Северного Кавказа посредством длительной народной селекции местных грубошерстных овец. Отличительная особенность этих пород — равнозначное сочетание мясной, шерстной и молочной продуктивности, а также исключительная приспособленность к содержанию на высокогорных и низинных пастбищах (37, 38), что, по-видимому, определило их генетическую близость.

Во второй подкластер (2-2) вошли эдильбаевская, калмыцкая курдючная, тушинская и каракульская породы, характеризующиеся повышенным отложением жира в области хвоста. Первые две породы представляют мясосальное направление продуктивности, хорошо приспособлены к пастьбе на больших расстояниях в условиях полупустынь и пустынь, имеют курдюк. Кроме того, известно, что эдильбаевская порода была улучшающей на начальном этапе выведения калмыцкой породы (36). Тушинская и каракульская породы по морфологической классификации относятся к жирнохвостым овцам и также склонны к накоплению жира. Учитывая зоологическую классификацию, направление продуктивности, ареал распространения, историю выведения и фенотипическую схожесть

пород, можно считать вполне логичным обособление двух подкластеров во втором кластере.

В третий подкластер вошли цигайская, забайкальская тонкорунная, буубэй и тувинская короткожирнохвостая породы разного направления продуктивности и исторического происхождения. Нахождение в одном подкластере пород забайкальской тонкорунной, буубэй и тувинской, возможно, связано с тем, что в их генеалогии присутствуют аборигенные грубошерстные бурят-монгольские овцы. Так, порода буубэй создана посредством многолетнего совершенствования аборигенных бурятских овец, забайкальская тонкорунная — длительным преобразованием беспородных грубошерстных бурят-монгольских овец с использованием генофонда тонкорунных пород Северного Кавказа (39). Ранее уже указывалось на генетическое сходство тувинской аборигенной породы овец, выведенной местными племенами Республики Тыва, с монгольскими овцами (40). Объяснением единой кластеризации указанных пород может быть и тот факт, что все они выводились и разводятся до настоящего времени в экстремальных климатических условиях Забайкалья и Западной Сибири. Возможно, выработанные в течение сотен лет приспособительные механизмы затронули многие локусы, в том числе микросателлитные, и привели к схожести генетического профиля. Однако это предположение требует дальнейших исследований и подтверждения.

Таким образом, полученные нами данные представляют наиболее полные сведения о состоянии аллелофонда и генетическом разнообразии большинства самых распространенных в России пород овец. В целом полиморфизм в 11 микросателлитных локусах оказался достаточно информативным для дифференциации овец различных пород, при этом характер выявленных связей был главным образом обусловлен типом шерстного покрова, направлением продуктивности и регионом разведения. Для более глубокого изучения популяционной структуры и получения дополнительной информации о генетическом разнообразии на геномном уровне планируется исследование российских пород овец с помощью ДНК-микроматриц на основе множественных SNP-маркеров.

Благодарим д-ра Р.В. Иванова (Якутский НИИСХ) за помощь в получении образцов биоматериала.

ЛИТЕРАТУРА

1. Crispim B., Seno L., Egito A., Vargas Junior F., Grisolia A. Application of microsatellite markers for breeding and genetic conservation of herds of Pantaneiro sheep. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2014, 17: 317-321 (doi: 10.1016/j.ejbt.2014.09.007).
2. Столповский Ю.А. Концепция и принципы генетического мониторинга для сохранения *in situ* пород domestизированных животных. *Сельскохозяйственная биология*, 2010, 6: 3-8.
3. Tautz D., Renz M. Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucl. Acids Res.*, 1984, 12: 4127-4138.
4. Litt M., Luty J.M. A hypervariable microsatellite revealed by *in vitro* amplification of a dinucleotide repeat within the cardiac muscle actin gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 1989, 44: 397-401.
5. Putman A.I., Carbone I. Challenges in analysis and interpretation of microsatellite data for population genetic studies. *Ecology and Evolution*, 2014, 4(22): 4399-4428 (doi: 10.1002/ece3.1305).
6. Dalvit C., Sacca E., Cassandro M., Gervaso M., Pastore E., Piasentier E. Genetic diversity and variability in Alpine sheep breeds. *Small Ruminant Res.*, 2008, 80: 45-51 (doi: 10.1016/j.smallrumres.2008.09.005).
7. Kusza S., Dimov D., Nagy I., Bösze Z., Jávör A., Kukovics S. Microsatellite analysis to estimate genetic relationships among five bulgarian sheep breeds. *Genet. Mol. Biol.*, 2010, 33(1): 51-56 (doi: 10.1590/S1415-47572010005000003).

8. Ferrando A., Goyache F., Parés P.-M., Carriyn C., Miry J., Jordana J. Genetic relationships between six eastern Pyrenean sheep breeds assessed using microsatellites. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2014, 12(4): 1029-1037 (doi: 10.5424/sjar/2014124-6173).
9. Yilmaz O. Power of different microsatellite panels for paternity analysis in sheep. *Animal Science Papers and Reports*, 2016, 34(2): 155-164.
10. Baumung R., Cubric-Curik V., Schwend K., Achmann R., Sölkner J. Genetic characterization and breed assignment in Austrian sheep breeds using microsatellite marker information. *J. Anim. Breed. Genet.*, 2006, 123: 265-271 (doi: 10.1111/j.1439-0388.2006.00583.x).
11. Tapio I., Tapio M., Grisliis Z., Holm L.-E., Jeppsson S., Kantanen J., Miceikiene I., Olsaker I., Viinalass H., Eythorsdottir E. Unfolding of population structure in Baltic sheep breeds using microsatellite analysis. *Heredity*, 2005, 94: 448-456 (doi: 10.1038/sj.hdy.6800640).
12. Neubauer V., Vogl C., Seregi J., Sáfár L., Brem G. Genetic diversity and population structure of Zackel sheep and other Hungarian sheep breeds. *Archives Animal Breeding*, 2015, 58: 343-350 (doi: 10.5194/aab-58-343-2015).
13. Pariset L., Savarese M.C., Cappuccio I., Valentini A. Use of microsatellites for genetic variation and inbreeding analysis in Sarda sheep flocks of central Italy. *J. Anim. Breed. Genet.*, 2003, 120(6): 425-432 (doi: 10.1046/j.0931-2668.2003.00411.x).
14. Kijas J.W., Lenstra J.A., Hayes B., Boitard S., Porto Neto L.R., San Cristobal M., Servin B., McCulloch R., Whan V., Gietzen K., Paiva S., Barendse W., Ciani E., Raadsma H., McEwan J., Dalrymple B. Genome wide analysis of the world's sheep breeds reveals high levels of historic mixture and strong recent selection. *PLoS ONE*, 2012, 10: e1001258 (doi: 10.1371/journal.pbio.1001258).
15. Heaton M.P., Leymaster K.A., Kalbfleisch T.S., Kijas J.W., Clarke S.M., McEwan J., Maddox J.F., Basnayake V., Petrik D.T., Simpson B., Smith T.P.L., Chitko-McKown C.G., the International Sheep Genomics Consortium. SNPs for parentage testing and traceability in globally diverse breeds of sheep. *PLoS ONE*, 2014, 9(4): e94851 (doi: 10.1371/journal.pone.0094851).
16. Clarke S.M., Henry H.M., Dodds K.G., Jowett T.W.D., Manley T.R., Anderson R.M., McEwan J.C. A high throughput single nucleotide polymorphism multiplex assay for parentage assignment in New Zealand sheep. *PLoS ONE*, 2014, 9(4): e93392 (doi: 10.1371/journal.pone.0093392).
17. Deniskova T.E., Sermyagin A.A., Bagirov V.A., Okhlopkov I.M., Gladyr E.A., Ivanov R.V., Brem G., Zinovieva N.A. Comparative analysis of the effectiveness of STR and SNP markers for intraspecific and interspecific differentiation of the genus *Ovis*. *Russian Journal of Genetics*, 2016, 52(1): 79-84 (doi: 10.1134/S1022795416010026).
18. Elshire R.J., Glaubitz J.C., Sun Q., Poland J.A., Kawamoto K., Buckler E.S., Mitchell S.E. A Robust, simple genotyping-by-sequencing (GBS) approach for high diversity species. *PLoS ONE*, 2011, 6(5): e19379 (doi: 10.1371/journal.pone.0019379).
19. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А. Биологические проблемы животноводства в XXI веке. М., 2008.
20. Амерханов Х.А. Овцеводство и козоводство Российской Федерации в цифрах. Ставрополь, 2015.
21. Гладырь Е.А., Зиновьева Н.А., Бурьлова С.С., Селионова М.И., Моисейкина Л.Г., Эрнст Л.К., Брем Г. Характеристика аллелофонда овец юга России. *Достижения науки и техники АПК*, 2012, 11: 34-37.
22. Zinovieva N.A., Selionova M.I., Gladyr E.A., Petrovic M.P., Caro Petrovic V., Ruzic Muslic D., Petrovic M.M. Investigation of gene pool and genealogical links between sheep breeds of southern Russia by blood groups and DNA microsatellites. *Genetika*, 2015, 47(2): 395-404 (doi: 10.2298/GENSR1502395Z).
23. Денискова Т.Е., Канева Л.А., Гладырь Е.А., Селионова М.И., Зиновьева Н.А. Генетическая характеристика печорских овец с помощью микросателлитных маркеров. *Достижения науки и техники АПК*, 2016, 30(8): 75-78.
24. Tapio M., Ozerov M., Tapio I., Kantanen J., Toro M.A., Marzanov N., Ćinkulov M., Goncharenko G., Kiselyova T., Murawski M. Microsatellite-based genetic diversity and population structure of domestic sheep in northern Eurasia. *BMC Genetics*, 2010, 11: 76 (doi: 10.1186/1471-2156-11-76).
25. Озеров М.Ю., Тапио М., Кантанен Ю., Марзанова С.Н., Бузеров В.В., Андриянов А.П., Шарлапаев Б.Н., Петров С.Н., Марзанов Н.С. Генетическая категоризация полукоронных пород овец: приоритеты по их сохранению. *Проблемы биологии продуктивных животных*, 2013, 3: 16-24.
26. Зиновьева Н.А., Попов А.Н., Эрнст Л.К., Марзанов Н.С., Бочкарев В.В., Стрекозов Н.И., Брем Г. Методические рекомендации по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве. Дубровицы, 1998.

27. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537-2539 (doi: 10.1093/bioinformatics/bts460).
28. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating F-Statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1984, 38(6): 1358-1370 (doi: 10.2307/2408641).
29. Nei M. Genetic distance between populations. *Am. Nat.*, 1972, 106(949): 283-292 (doi: 10.1086/282771).
30. Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontologia Electronica*, 2001, 4(1): 4-9.
31. Hartl D.L., Clark A.G. Principles of population genetics. Sunderland, United Kingdom, 1997.
32. Мороз В.А. Повышение эффективности использования генетического потенциала мериносов России. Овцы, козы, шерстяное дело, 2015, 2: 45-48.
33. Селькин И.И., Соколов А.Н. Создание и совершенствование полутонкорунных пород овец. Овцы, козы, шерстяное дело, 2002, 3: 10-12.
34. Медведев М.В., Ерохин А.И. Откормочные и убойные качества овец куйбышевской породы и ее помесей с мясошерстными баранами. Овцы, козы, шерстяное дело, 2004, 1: 29-30.
35. Селькин И.И. Северокавказская мясошерстная порода. Ставрополь, 2007.
36. Ерохин А.И., Котарев В.И., Ерохин С.А. Овцеводство. Воронеж, 2014.
37. Гаджиев З.К. Грубошерстные овцы Дагестана. Махачкала, 2010.
38. Мурзина Т.В., Вершинина В.А. Становление тонкорунного овцеводства и современное состояние овец в Забайкальском крае. Информационный бюллетень, 2016, 1(11): 35-41.
39. Билтуев С.И. Современное состояние полугрубошерстного и грубошерстного овцеводства в Республике Бурятия. Мат. Межд. науч.-практ. конф. «Значение и перспективы развития овцеводства в аграрной экономике Сибири и Дальнего Востока». Чита, 2016: 52-57.
40. Столповский Ю.А., Шимиит Л.В., Кол Н.В., Евсюков А.Н., Рузина М.П., Чургуй оол О.И., Сулимова Г.Е. Анализ генетической изменчивости и филогенетических связей у популяций тувинской короткожирнохвостой овцы с использованием ISSR-маркеров. *Сельскохозяйственная биология*, 2009, 6: 34-43.

¹ФГБНУ Всероссийский НИИ животноводства

им. академика Л.К. Эрнста,

142132 Россия, Московская обл., г.о. Подольск, пос. Дубровицы, 60,

e-mail: tandeniss@rambler.ru;

²ФГБНУ Всероссийский НИИ овцеводства и козоводства,

355017 Россия, г. Ставрополь, пер. Зоотехнический, 15;

³Institut für Tierzucht und Genetik,

University of Veterinary Medicine (VMU),

Veterinärplatz, A-1210, Vienna, Austria,

e-mail: gottfried.brem@agrobiogen.de

Поступила в редакцию

26 сентября 2016 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2016, V. 51, № 6, pp. 801-810

VARIABILITY OF MICROSATELLITES IN SHEEP BREEDS RACED IN RUSSIA

T.E. Deniskova¹, M.I. Selionova², E.A. Gladyr¹, A.V. Dotsev¹, G.T. Bobryshova²,
O.V. Kostyunina¹, G. Brem³, N.A. Zinovieva¹

¹L.K. Ernst All-Russian Research Institute of Animal Husbandry, Federal Agency of Scientific Organizations, pos. Dubrovitsy, Podolsk District, Moscow Province, 142132 Russia, e-mail tandeniss@rambler.ru;

²All-Russian Research Institute of Sheep and Goat Breeding, Federal Agency of Scientific Organizations, 15, per. Zootehnicheskii, Stavropol, 355017 Russia;

³Institut für Tierzucht und Genetik, University of Veterinary Medicine (VMU), Veterinärplatz, A-1210, Vienna, Austria, e-mail gottfried.brem@agrobiogen.de

Acknowledgements:

We thank Dr R.V. Ivanov (Yakut Research Institute of Agriculture) for assistance in collecting samples

Supported by Russian Science Foundation (project № 14-36-00039)

Received September 26, 2016

doi: 10.15389/agrobiology.2016.6.801eng

Abstract

At the current stage of biological development is impossible to establish conservation programs and to monitor genetic resources of sheep without a preliminary study by DNA markers. The Russian sheep breeding is represented by wide variety of breeds, including all productivity and wool types. However, until recently only some sheep breeds, which belong to the same breeding zone or productivity type, were investigated by DNA markers including microsatellites. We studied 25 Russian sheep breeds ($n = 751$), including fine-fleeced — Dagestan Mountain (DAG), Grozny (GRZ),

Kulunda (KUL), Manyx Merino (MNM), Salskaya (SAL), Stavropol (STA), Soviet Merino (SVM), Volgograd (VOL), Baikal's fine-fleeced (ZBL); semi fine-fleeced — Altay Mountain (ALT), Kuibyshev (KUI), North Caucasian (NC), Russian long-haired (RLH), Tsigai (TSIG); coarse-wooled — Andean (AND), Buubey (BUB), Edilbai (EDL), Karachaev (KAR), Kuchugur (KCH), Kalmyk (KLM), Karakul (KRK), Lezgin (LEZ), Romanov (ROM), Tushin (TSH), Tuvan short fat-tailed (TUV). The research was conducted using 11 microsatellite loci (OarCP49, INRA063, HSC, OarAE129, MAF214, OarFCB11, INRA005, SPS113, INRA23, MAF65 и McM527). The data were processed using GenAIEx 6.5 and PAST software. In general, the studied breeds were characterized by moderately high allelic diversity. The average number of alleles per locus is varied from 7.20 ± 0.98 in KUL and 10.30 ± 0.99 in TSIG. The values of N_a 10.0 were found in TSIG, TUV, BUB and KRK, values of N_a 8.0 were identified in KUL, RLH and SVM. The effective allele number was the highest in the KRK and TUV (N_e 5.7) and the minimum was detected in KCH, ALT, RLH and NC (N_e 4.3). The level of the observed heterozygosity in 21 of the 25 studied breeds ranged from 0.489 ± 0.095 in TUV to 0.651 ± 0.050 in ROM and 0.651 ± 0.060 in SVM, and four other breeds (BUB, TSIG, ZBL and TUV) it varied from 0.798 ± 0.023 in BUB up 0.977 ± 0.017 in TUV. There was a substantial deficit of heterozygotes in 21 of the 25 studied breeds (F_{IS} values ranged from 0.13 in ROM to 0.36 in KAR and SAL), in the other four (BUB, TSIG, ZBL and TUV) an excess of heterozygotes (F_{IS} values ranged from -0.04 to -0.22) was detected. The analysis of molecular variance (AMOVA) showed that 5.02 % of genetic variation is composed of differences among breeds and 94.98 % is explained by within breeds' component. Analysis of the structure of the UMPGA phylogenetic tree, based on the matrix of pairwise genetic distances by M. Nei (1972), showed that the nature of the identified relationships is mainly related with the wool type, productivity type and breeding region. Thus, the identified polymorphism of eleven microsatellite loci is quite powerful for differentiating sheep of various breeds. For a better understanding population structure and obtaining new information on the genetic diversity at the genomic level the application of DNA microarrays, based on the multiple SNPs-markers, is required.

Keywords: sheep breeds, microsatellites, genetic diversity.

Научные собрания



FIRST BASEL SUSTAINABILITY FORUM

(October 14, 2016 года, Kollegienhaus, Hürsaal 118, Petersplatz 1, University of Basel, Switzerland)

The Basel Sustainability Forum is a mini-symposium of the World Sustainability Forum. This event is public and free of charge.

Colloquially speaking, we need more, cleaner, and cheaper energy. Energy is the power of a body or system to perform work. Because energy is finite, it is neither generated nor consumed, but transformed from different sources, such as crude oil and electromagnetic radiation of the sun into different forms, such as physical movement, heat, and light. The main problems associated with our energy management relate to the transformation and storage of energy, the efficiency and byproducts of the energy transfer, production methods and consumption patterns, and costs associated with all of the above.

Contacts: <http://sciforum.net/conference/bsf-1>

Information: <http://www.globaleventslist.elsevier.com/events/2017/01/wsf2017-the-6th-world-sustainability-forum/>

Адрес сайта журнала в Интернете — www.agrobiology.ru
Статьи, события, информация — 10000 просмотров за месяц

