

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ГОЛШТИНСКИХ БЫКОВ
ОАО «КРАСНОЯРСКАГРОПЛЕМ» НА ОСНОВЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ ДНК

Ya. A. Khabibrakhmanova, L.A. Kalashnikova, A.A. Golubkov,
T.F. Lefler, A.I. Golubkov, F.S. Mirvaliev

GENETIC POLYMORPHISM OF HOLSTEIN BULLS OF
JVC 'KRASNOYARSKAGROPLEM' BASED ON MICROSATELLITE DNA MARKERS

Хабибрахманова Я.А. – канд. биол. наук, ст. науч. сотр. лаб. ДНК-технологий Всероссийского НИИ племенного животноводства, Московская обл., Пушкинский р-н, п. Лесные Поляны.
E-mail: Ehyazilya@bk.ru

Калашникова Л.А. – д-р биол. наук, проф., зав. лаб. ДНК-технологий Всероссийского НИИ племенного животноводства, Московская обл., Пушкинский р-н, п. Лесные Поляны.
E-mail: lakalashnikova@mail.ru

Голубков А.И. – д-р с.-х. наук, проф., зав. Красноярской лаб. разведения крупного рогатого скота Всероссийского НИИ племенного животноводства, Красноярский край, Емельяновский р-н, п. Солонцы.
E-mail: alex_sib_24@mail.ru

Лефлер Т.Ф. – д-р с.-х. наук, проф., зав. каф. зоотехнии и технологии переработки продуктов животноводства Красноярского государственного аграрного университета, г. Красноярск.
E-mail: lefletam@yandex.ru

Голубков А.А. – науч. сотр. Красноярской лаб. разведения крупного рогатого скота Всероссийского НИИ племенного животноводства, Красноярский край, Емельяновский р-н, п. Солонцы.
E-mail: alex_sib_24@mail.ru

Мирвалиев Ф.С. – асп. каф. разведения, генетики, биологии и водных биоресурсов Красноярского государственного аграрного университета, г. Красноярск; науч. сотр. лаб. животноводства Всероссийского НИИ племенного животноводства, Иркутская обл., Иркутский р-н, с. Пивовариха.
E-mail: alex_sib_24@mail.ru

Khabibrakhmanova Ya.A. – Cand. Biol. Sci., Senior Staff Scientist, Lab. of DNA Technologies, All-Russia Research and Development Institute of Breeding Animal Husbandry, Moscow Region, Pushkin District, V. Lesnye Polyany.
E-mail: Ehyazilya@bk.ru

Kalashnikova L.A. – Dr. Biol. Sci., Prof., Head, Lab. of DNA Technologies, All-Russia Research and Development Institute of Breeding Animal Husbandry, Moscow Region, Pushkin District, V. Lesnye Polyany.
E-mail: lakalashnikova@mail.ru

Golubkov A.I. – Dr. Agr. Sci., Prof., Head, Krasnoyarsk Laboratory of Cattle Breeding, All-Russia Research and Development Institute of Breeding Animal Husbandry, Krasnoyarsk Region, Emelyanovo District, V. Solontsy.
E-mail: alex_sib_24@mail.ru

Lefler T.F. – Dr. Agr. Sci., Prof., Head, Chair of Animal Breeding and Technology of Livestock Products Processing, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk.
E-mail: lefletam@yandex.ru

Golubkov A.A. – Staff Scientist, Krasnoyarsk Laboratory of Cattle Breeding, All-Russia Research and Development Institute of Breeding Animal Husbandry, Krasnoyarsk Region, Emelyanovo District, V. Solontsy.
E-mail: alex_sib_24@mail.ru

Mirvaliev F.S. – Post-Graduate Student, Chair of Breeding, Geneticists, Biology and Water Bioresources, Krasnoyarsk State Agrarian University, Krasnoyarsk; Staff Scientist, Lab. of Cattle Breeding, All-Russia Research and Development Institute of Breeding Animal Husbandry, Irkutsk Region, Irkutsk District, V. Pivovarikha.
E-mail: alex_sib_24@mail.ru

Проанализированы данные исследований 12 микросателлитных локусов (согласно Международной номенклатуре ISAG) у 24 импортных

быков-производителей голштинской породы, принадлежащих ОАО «Красноярскагроплем». У быков 5 аллелей из 67 имели частоту встре-

чаемости более 55 %: BM1818²⁶⁶ (56 %), BM1824¹⁸⁸ (60 %), ETH10²¹⁹ (60 %), SPS115²⁴⁸ (77 %), TGLA126¹¹⁷ (70 %). Также выявлены 7 аллелей, которые встречаются у 30–40 % животных: BM2113¹²⁵ (33 %), ETH3¹¹⁷ (42 %), ETH3¹²⁹ (38 %), ETH225¹⁴⁸ (33 %), ETH225¹⁵⁰ (31 %), INRA23²¹⁰ (44 %), TGLA122¹⁴³ (38 %); 2 % быков обладали следующими аллелями: BM2113¹³⁷, ETH10²¹³, ETH225¹⁴⁶, SPS115²⁶⁰, TGLA53^{162, 178, 184}, TGLA122^{159, 161, 171}, TGLA227⁸¹. Количество аллелей (Na) в изученных локусах варьировало от 3 в локусе TGLA126 до 9 в локусе TGLA53, в среднем на локус приходилось 5,58 аллелей. Количественно степень полиморфизма оценивается с помощью двух показателей – уровня гетерозиготности (H) и индекса информационного полиморфизма (PIC). По данным изученных 12 микросателлитных локусов у 24 быков-производителей значения гетерозиготности наблюдаемой (Ho) и ожидаемой (He) варьировали в пределах 0,417–0,875 и 0,397–0,852 соответственно. В данном исследовании показатель PIC в среднем на локус составил 0,608 и варьировал от 0,369 (SPS115) до 0,812 (TGLA53). Из 12 маркеров 10 оказались высокополиморфными, их значения PIC были выше 0,5, что является благоприятным показателем генетической изменчивости. Наибольший показатель PIC был в локусе TGLA53 – 0,812, наименьший в локусе TGLA126 – 0,369. Наибольшее значение степени наблюдаемой гетерозиготности (Ho) в голштинской породе было выявлено в локусах ETH225, TGLA53, TGLA227 – 0,875.

Ключевые слова: голштинская порода, микросателлиты, локусы, аллели, генетический полиморфизм.

The data on Holstein bulls ($n = 24$) were analyzed by 12 microsatellite loci (according to International ISAG Nomenclature) owned by JVC 'Krasnoyarskagroplem'. 5 alleles of 67 had a frequency of more than 55 %: BM1 818266 (56 %), BM1824188 (60 %), ETH10219 (60 %), SPS115248 (77 %), TGLA126117 (70 %) in bulls. 7 alleles were also identified to be found in 30–40 % of animals: BM2113125 (33 %), ETH3¹¹⁷ (42 %), ETH3¹²⁹ (38 %), ETH225¹⁴⁸ (33 %), ETH225¹⁵⁰ (31 %), INRA23²¹⁰ (44 %), TGLA122¹⁴³ (38 %). 2% of the bulls possessed the following alleles:

BM2113¹³⁷, ETH10²¹³, ETH225¹⁴⁶, SPS115²⁶⁰, TGLA53^{162, 178, 184}, TGLA122^{159, 161, 171}, TGLA227⁸¹. The number of alleles (Na) in the TGLA 126 locus was an average of 5.58 alleles per locus. Quantitatively the degree of polymorphism was identified using two indicators – the level of heterozygosity (H) and the information of polymorphism index (PIC). According to the data of 12 microsatellite loci studied in 24 manufacturing bulls, the heterozygosity values of the observed (Ho) and expected (He) varied between 0.417–0.875 and 0.397–0.852, respectively. In the study, the average PIC per locus was 0.608 and ranged from 0.369 (SPS 115) to 0.812 (TGLA53). From 12 markers 10 were highly polymorphic; their PIC values were higher than 0.5 that was a favorable indicator of genetic variability. The greatest indicator of PIC was in TGLA53 locus – 0.812, the smallest was in the locus TGLA126 – 0.369. The greatest value of degree of observed heterozygosity (Ho) in Holstein breed was revealed in loci of ETH225, TGLA53, TGLA227 – 0.875.

Keywords: Holstein breed, microsatellites, loci, alleles.

Введение. В ОАО «Красноярскагроплем» для увеличения молочной продуктивности животных в условиях Восточной Сибири была начата планомерная селекционная работа с привлечением лучших мировых генетических ресурсов, для этого были закуплены чистопородные племенные быки голштинской породы с геномной оценкой.

Микросателлитные маркеры являются идеальными молекулярными маркерами для различных генетических исследований, поскольку они высоко полиморфны, кодоминантны по типу наследования и легко генотипируются с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР). В основном их применяют в генетической экспертизе сельскохозяйственных животных для контроля родства, генетической идентификации пород, типов, линий, для определения генетической структуры и оценки генетических расстояний между группами животных, для оценки величины и направления генного потока между популяциями. В настоящее время микросателлиты широко используют для оценки генетического разнообразия, филогенетических отношений и структуры популяции внутри и между породами скота [1].

Голштинская порода имеет широкое распространение и считается самой продуктивной молочной породой в мире, поэтому во многих исследованиях она является одним из объектов анализа и сравнения между породами. В исследовании по 23 микросателлитам пород крупного рогатого скота, распространенных во Франции, было показано, что французские альпийские породы с малым размером популяции имели более высокую генетическую изменчивость, чем голштинская порода. Анализ данных также показал, что альпийские породы имеют тенденцию объединяться, в то время как голштинская порода значительно отличалась от всех проанализированных пород [2]. При сопоставлении с данными микросателлитного анализа местных пород скота, разводимых в Африке, голштинская порода также продемонстрировала существенные генетические отличия [3]. Голштинская порода в Корее показала четкое разделение от местных пород скота [4].

Высокий уровень изменчивости микросателлитных маркеров может способствовать их применению для генетического мониторинга селекционных процессов в молочном скотоводстве Красноярского края с использованием импортных голштинских быков-производителей.

Цель исследования: изучение генетического полиморфизма по микросателлитным маркерам быков голштинской породы ОАО «Красноярскагроплем».

Задачи исследования: дать оценку частоты встречаемости аллелей микросателлитных локусов у быков-производителей голштинской породы, принадлежащих ОАО «Красноярскагроплем»; определить показатели гетерозиготности (H) и содержания информационного полиморфизма (PIC – polymorphism information content) у быков голштинской породы по микросателлитным локусам ДНК.

Материал и методы исследования. Для исследования были использованы данные анализа ДНК по 12 микросателлитным локусам, приведенные в генетических сертификатах импортных быков-производителей (24 головы). Племенные животные голштинской породы были импортированы из Голландии и Канады в раннем возрасте, принадлежат ОАО «Краснояр-

скагроплем» и активно используются в селекционно-племенной работе.

Все использованные в анализе микросателлитные локусы принадлежат к перечню, рекомендованному международным обществом генетики животных (ISAG). Для статистической обработки данных применялась программа Microsatellite Toolkit [5].

Результаты исследования и их обсуждение. Микросателлитные маркеры являются эффективным инструментом для выявления генетических различий между животными вплоть до индивидуальных. Они используются в генетической экспертизе для определения достоверности происхождения по ДНК, выделенной из спермы, крови, ткани и другого биоматериала.

Характеристика генома 24 быков-производителей голштинской породы по 12 микросателлитным локусам приведена в таблице 1.

В целом у 24 быков-производителей было обнаружено 67 аллелей микросателлитных локусов. Число аллелей (Na) в изученных локусах варьировало от 3 до 9 при среднем значении (Na) 5,58. Среднее число аллелей на локус является индикатором генетического полиморфизма [6, 7]. Большее количество аллелей подразумевает большее количество генетических вариаций и более высокую степень генетического разнообразия [8].

Частота встречаемости аллелей была различной. Более 55 % быков-производителей голштинской породы, принадлежащих ОАО «Красноярскагроплем», оказались носителями следующих 5 аллелей: BM1818²⁶⁶ (56 %), BM1824¹⁸⁸ (60 %), ETH10²¹⁹ (60 %), SPS115²⁴⁸ (77 %), TGLA126¹¹⁷ (70 %). Также выявлены 7 аллелей, которые встречаются у 30–40 % животных: BM2113¹²⁵ (33 %), ETH3¹¹⁷ (42 %), ETH3¹²⁹ (38 %), ETH225¹⁴⁸ (33 %), ETH225¹⁵⁰ (31 %), INRA23²¹⁰ (44 %), TGLA122¹⁴³ (38 %). Только 2 % быков обладали следующими аллелями: BM2113¹³⁷, ETH10²¹³, ETH225¹⁴⁶, SPS115²⁶⁰, TGLA53^{162,178,184}, TGLA122^{159,161,171}, TGLA227⁸¹.

В целом среди импортных быков-производителей голштинской породы (24 гол.) частота аллелей варьировала от 0,0208 до 0,7708.

**Полиморфизм микросателлитных локусов у быков-производителей голштинской породы
ОАО «Красноярскагроплем»**

Локус	Алели микросателлитных локусов (п.н.)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Bm1818	260	262	264	266	268				
Частота	0,0625	0,2708	0,0625	0,5625	0,0417				
Bm1824	178	180	182	188					
Частота	0,2292	0,0417	0,1250	0,6042					
Bm2113	125	127	135	137	139				
Частота	0,3333	0,2500	0,2083	0,0208	0,1875				
Eth3	117	125	127	129					
Частота	0,4167	0,0417	0,1667	0,3750					
Eth10	209	213	217	219	225				
Частота	0,0417	0,0208	0,1042	0,6042	0,2292				
Eth225	140	144	146	148	150	152			
Частота	0,2083	0,0833	0,0208	0,3333	0,3125	0,0417			
Inra23	202	206	208	210	214				
Частота	0,0625	0,1875	0,0417	0,4375	0,2708				
Sps115	248	252	254	256	260				
Частота	0,7708	0,1042	0,0625	0,0417	0,0208				
Tgla53	154	158	160	162	166	168	176	178	184
Частота	0,2083	0,1667	0,1875	0,0208	0,0417	0,1875	0,1458	0,0208	0,0208
Tgla122	143	149	151	159	161	163	171	183	
Частота	0,3750	0,1458	0,0417	0,0208	0,0208	0,1250	0,0208	0,2500	
Tgla126	115	117	121						
Частота	0,2083	0,7083	0,0833						
Tgla227	81	83	87	89	91	93	97	103	
Частота	0,0208	0,0417	0,1250	0,2292	0,1458	0,1042	0,2917	0,0417	

Степень полиморфизма количественно оценивается с помощью двух показателей – уровня гетерозиготности (H) и индекса информационного полиморфизма (PIC), который представляет собой отношение числа скрещиваний, в которых хотя бы у одного из родителей исследуемый полиморфный маркер находится в гетерозиготном состоянии, ко всем скрещиваниям.

Исходя из общепринятых представлений о том, что микросателлитные локусы являются в целом нейтральными в отношении селекционных процессов и не связаны с признаками продуктивности, по каждому локусу исследованная группа животных находится в состоянии, соответствующем равновесию Харди-Вайнберга. В таком случае величина показателя PIC характеризует уровень гетерозиготности локусов – продуктов амплификации [9].

В данном исследовании показатель PIC в среднем на локус составил 0,608 и варьировал от 0,369 (SPS 115) до 0,812 (TGLA 53). Из 12 маркеров 10 оказались высоко полиморфными, их значения PIC были выше 0,5 (табл. 2), что является благоприятным показателем генетической изменчивости и свидетельствует о высокой разрешающей способности метода для выявления различий и генетической идентификации животных, типов, линий и родственных групп.

Для оценки генетической дифференциации также используют средние данные ожидаемого и наблюдаемого значения гетерозиготности. По данным микросателлитного анализа, у 24 быков-производителей значения наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности варьировали в пределах 0,417–0,875 и 0,397–0,852 соответственно (табл. 2).

Показатели гетерозиготности (H) и информационного полиморфизма (PIC) у быков-производителей голштинской породы

Локус	Na	He	Ho	PIC
Bm1818	5	0,613	0,667	0,547
Bm1824	4	0,577	0,542	0,512
Bm2113	5	0,763	0,792	0,703
Eth3	4	0,670	0,708	0,589
Eth10	5	0,582	0,625	0,520
Eth225	6	0,754	0,875	0,694
Inra23	5	0,709	0,500	0,644
Sps115	5	0,397	0,417	0,369
Tgla53	9	0,852	0,875	0,812
Tgla122	8	0,773	0,708	0,722
Tgla126	3	0,457	0,417	0,397
Tgla227	8	0,828	0,875	0,786
В среднем	5,58	0,665	0,667	0,608

Выводы. Импортированные быки – производители голштинской породы (24 голов), используемые в ОАО «Красноярскагроплем», характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия, что является благоприятным фактором для разведения. Выявлено в среднем 5,58 аллелей на локус. Средние показатели ожидаемой и наблюдаемой гетерозиготности имели сходные значения (0,665 и 0,667). Индекс информативной ценности PIC составил в среднем 0,608.

Полученные данные свидетельствуют о возможности использования микросателлитного анализа ДНК для генетической экспертизы племенных животных по происхождению и анализа родословных с целью изучения передачи признаков по наследству.

Результаты микросателлитного анализа ДНК будут применяться для разработки планов селекционно-племенной работы, оценки генетической структуры пород, поддержания уровня гетерозиготности в стадах и генетического мониторинга селекционных процессов при использовании голштинских быков-производителей.

Литература

1. Groeneveld L.F., Lenstra J.A., Eding H. et al. Genetic diversity in farm animals—A review. *J Anim Genet.* – 2010. – 41:6–31.
2. Maudet C., Luikart G., Taberlet P. Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. *J Anim Sci.* – 2002. – 80:942–950.
3. Makina S. O., Muchadeyi F.C., Marle-Köster E. et al. Genetic diversity and population structure among six cattle breeds in South Africa using a whole genome SNP panel. *J Front Genet.* – 2014. – Sep 22:5:333.
4. Suh S., Kim Y.-S., Cho C.-Y. et al. Assessment of genetic diversity, relationships and structure among Korean native cattle breeds using microsatellite markers. *Asian Australas. J. Anim. Sci.* – 2014. – 27:1548-1553.
5. Park S. Microsatellite Toolkit For MS Excel 97 or 2000. – 2000.
6. Halima H., Lababidi S., Rischkowsky B. et al. Molecular characterization of Ethiopian indigenous goat populations. *J Tropical Animal Health Production.* – 2012, 44(6). – 1239–1246.
7. Qwabe S.O., Van Marle-Köster E., Visser C. J Genetic diversity and population structure of the endangered Namaqua Afrikaner sheep. *Trop. Anim. Health. Pro.* – 2013. – 45, 511–516.
8. Nei M. Molecular evolutionary genetics. – New York: Columbia University Press, 1987.
9. Botstein D., White R.L., Skolnick M. et al. Construction of a genetic linkage map in man us-

ing restriction fragment length polymorphisms. J American Journal of Human Genetics. – 1980. – 32: 314–331.

Literatura

1. *Groeneveld L.F., Lenstra J.A., Eding H.* et al. Genetic diversity in farm animals—A review. J Anim Genet. – 2010. – 41:6–31.
2. *Maudet C., Luikart G., Taberlet P.* Genetic diversity and assignment tests among seven French cattle breeds based on microsatellite DNA analysis. J Anim Sci. – 2002. – 80:942–950.
3. *Makina S. O., Muchadeyi F.C., Marle-Köster E.* [et al.]. Genetic diversity and population structure among six cattle breeds in South Africa using a whole genome SNP panel. J Front Genet. – 2014. – Sep 22;5:333.
4. *Suh S., Kim Y.-S., Cho C.-Y.* et al. Assessment of genetic diversity, relationships and structure among Korean native cattle breeds using microsatellite markers. Asian Australas. J. Anim. Sci. – 2014. – 27:1548-1553.
5. *Park S.* Microsatellite Toolkit For MS Excel 97 or 2000. – 2000.
6. *Halima H., Lababidi S., Rischkowsky B.* et al. Molecular characterization of Ethiopian indigenous goat populations. J Tropical Animal Health Production. – 2012, 44(6). – 1239–1246.
7. *Qwabe S.O., Van Marle-Köster E., Visser C. J* Genetic diversity and population structure of the endangered Namaqua Afrikaner sheep. Trop. Anim. Health. Pro. – 2013. – 45, 511–516.
8. *Nei M.* Molecular evolutionary genetics. – New York: Columbia University Press, 1987.
9. *Botstein D., White R.L., Skolnick M.* et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. J American Journal of Human Genetics. – 1980. – 32: 314–331.

