

## ИЗУЧЕНИЕ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ КРС БУРОЙ ШВИЦКОЙ ПОРОДЫ ПО STR-МАРКЕРАМ

**РОМАНЕНКОВА Ольга Сергеевна**, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

**ВОЛКОВА Валерия Владимировна**, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

**ЗИМИНА Анна Александровна**, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

Проведено исследование состояния аллелофонда и генетического разнообразия крупного рогатого скота бурой швицкой породы по STR-маркерам. В выборку входили животные ( $n = 347$ ) пяти пород: бурая швицкая российской (BSH1) и немецкой (BSH2) селекции, джерсейская (DJ), симментальская (SIM), костромская (KOS) и голштинская (HOLSH). Полиморфизм 11 STR-локусов оценивался на 16-канальном капиллярном генетическом анализаторе ABI3130xl. Было обнаружено 393 аллеля с минимальным значением в группе DJ (54) и максимальным – в группе SIM (84). Общее число аллелей на локус варьировало от 25 (BM1824) до 50 (TG1A122), а среднее число аллелей на локус – от 4,33 (TG1A126) до 8,33 (TG1A122), при среднем числе аллелей по всем локусам 5,95. Эффективное число аллелей на локус варьировало от 2,88 (DJ) до 3,76 (BSH2). Максимальное (4,64) и минимальное (3,73) число информативных аллелей идентифицировано для групп BSH2 и BSH1 соответственно. У всех исследуемых групп, за исключением DJ, уровень наблюдаемой гетерозиготности превышал 0,70. В общей сложности было выявлено 23 частных аллеля с частотами от 0,005 (SIM) до 0,385 (DJ). Анализ AMOVA показал, что 87 % генетической изменчивости приходится на внутрigrупповую изменчивость, а 13 % составляет межгрупповые различия. Анализ структуры популяций показал высокий уровень принадлежности всех групп к собственному кластеру. FCA анализ показал перекрытие мультилокусных генотипов особей групп BSH1, BSH2 и KOS. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что бурая швицкая порода в России характеризуется высоким уровнем генетического разнообразия.

**Введение.** Важной частью программы по сохранению породы является мониторинг ее генетической структуры, а также оценка степени внутривидовой дифференциации [5]. Знания о генетической дифференциации популяций могут быть полезными при выборе улучшающей породы или пород для скрещивания, при принятии решения по сохранению генофонда той или иной вытесняемой породы. В случае чистопородного разведения селекционерам необходимо знать генетические различия между линиями, племенными стадами (хозяйствами), при групповом подборе – для минимизации коэффициента инбридинга. Поэтому контроль над уровнем генетического разнообразия как внутри, так и между популяциями (породами, линиями, стадами, группами животных) продолжает оставаться актуальным.

В структуре молочного скотоводства России уже длительное время существует тенденция увеличения поголовья голштинской и чернопестрой голштинизированной пород, которые обладают наиболее высокими показателями удоя. При этом численность некоторых других, менее продуктивных, пород сокращается. В ре-

зультате этого происходит не только сокращение общего генетического разнообразия вида, но и безвозвратно утрачиваются генотипы, отвечающие за ценные хозяйственные признаки, как например устойчивость к ряду заболеваний. Одной из таких пород является бурая швицкая, которая имеет большую ценность как порода двойного молочно-мясного направления. Она была выведена в Швейцарии в кантоне Швиц с использованием местной бурой короткорогой породы скота. В Россию скот швицкой породы стал завозиться из Швейцарии и Германии во второй половине XIX века. В результате поглочительного скрещивания местных животных Смоленской, Костромской и Нижегородской областей были созданы отечественные популяции швицов.

В настоящее время к группе бурых пород принадлежат бурая швицкая, костромская, а также внутривидовые типы Караваевский К-1, Смоленский и Кавказский (до 1995 г. кавказская бурая порода) [3]. Во многих странах мира при исследовании генетического разнообразия популяций предпочтение отдают полиморфизму на уровне ДНК. Генотипирование





животных с использованием ДНК-маркеров стало неотъемлемой частью селекционного процесса, поскольку позволяет проводить оценку генотипа на любой стадии развития [4]. Наиболее удобными маркерами для популяционных исследований являются высокополиморфные микросателлитные, или STR-маркеры. В России микросателлиты успешно применяются для популяционных исследований как широко распространенных коммерческих пород, так и для исследования малочисленных локальных [6, 7].

Целью работы явилось изучение состояния аллелофонда и генетического разнообразия крупного рогатого скота бурой швицкой породы по STR-маркером.

**Методика исследований.** Работа выполнена в лаборатории генетики и геномики крупного рогатого скота ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста с использованием оборудования Центра коллективного пользования научным оборудованием «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФНЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. В исследованиях использованы образцы (ушной выщип, кровь) из коллекции ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста – Уникальной научной установки (УНУ) «Банк генетического материала животных и птиц».

В выборку были включены животные ( $n = 347$ ), принадлежащие пяти породам: бурая швицкая российской (BSH1,  $n = 55$ ) и немецкой (BSH2,  $n = 56$ ) селекции, джерсейская (DJ,  $n = 100$ ), симментальская (SIM,  $n = 95$ ), костромская (KOS,  $n = 16$ ) и голштинская (HOLSH,  $n = 25$ ). Выделение геномной ДНК производили с помощью коммерческих наборов «ДНК-Экстран-2» и «S-Сорб» (ЗАО «Синтол», Россия), согласно протоколу производителя. ПЦР-анализ выполняли согласно методическим рекомендациям [1]. Полиморфизм 11 STR-локусов, в том числе TGLA227, BM2113, TGLA53, ETH10, SPS115, TGLA122, INRA23, TGLA126, BM1818, ETH225 и BM1824, рекомендованных ISAG для проведения популяционно-генетических исследований крупного рогатого скота, оценивали на 16-канальном капиллярном

генетическом анализаторе ABI3130xl (Applied Biosystems, США).

Исходные данные о длине аллелей получены в программном обеспечении Gene Mapper v 4 (Applied Biosystems, США). Статистическую обработку и расчет показателей, характеризующих состояние аллелофонда и уровень генетического разнообразия, производили в программе GenAEx 6.503 [11]. Степень генетической дифференциации между породами оценивали по показателю  $F_{st}$  и значениям генетических дистанций по М. Нею ( $D_N$ ) при попарном сравнении [10]. Генетическую структуру популяций оценивали в программе Structure.2.3.4 [12]; использовали следующие параметры: burnin период 10000, число повторений цепей Маркова методом Монте-Карло (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) составляло 100 000 для каждого запуска. Для каждого  $K$  (от 1 до 15) проводили 10 симуляций. Программа CLUMPAK использовалась для визуализации результатов, полученных в Structure.2.3.4, и определения наиболее вероятного числа кластеров в исследованной выборке на основании значений DeltaK по методу, предложенному Evanno et al. [9]. Кроме того, при определении структуры популяции дополнительно учитывались полученные в CLUMPAK средние оценки сходства нескольких независимых запусков при одном значении  $K$ . Для анализа дифференциации между отдельными выборками использовали программу GENETIX версия 4.05 [8], которая осуществляет разновидность факторного анализа (FCA, factorial correspondence analysis).

**Результаты исследований.** Всего в исследуемых популяциях обнаружено 393 аллеля с минимальным значением в группе DJ (54) и максимальным – в группе SIM (84). Общее число аллелей на локус варьировало от 25 (BM1824) до 50 (TGLA122), а среднее число аллелей на локус – от 4,33 (TGLA126) до 8,33 (TGLA122), при среднем числе аллелей по всем локусам 5,95. Основные статистические показатели, позволяющие оценить состояние аллелофонда и уровень генетического разнообразия изучаемых популяций крупного рогатого скота, представлены в табл. 1.

Таблица 1

#### Характеристика аллелофонда и генетического разнообразия изучаемой выборки крупного рогатого скота

Порода	$n$	$N_a$	$N_e$	$N_{a \geq 5\%}$	$H_o$	$H_e$	Fis
BSH1	55	6,18±0,66	3,14±0,27	3,73±0,33	0,70±0,04	0,65±0,04	-0,066
BSH2	56	6,09±0,51	3,76±0,35	4,64±0,36	0,73±0,04	0,71±0,03	-0,030
DJ	100	4,91±0,31	2,88±0,19	3,82±0,18	0,65±0,04	0,63±0,03	-0,013
SIM	95	7,64±0,74	3,59±0,35	3,91±0,37	0,70±0,04	0,69±0,04	-0,017
KOS	16	5,27±0,57	3,42±0,34	4,18±0,40	0,77±0,04	0,68±0,03	-0,171
HOLSH	25	5,64±0,45	3,46±0,41	3,91±0,46	0,72±0,05	0,67±0,04	-0,076

Примечание:  $n$  – количество голов в выборке;  $N_a$  – среднее число аллелей на локус;  $N_e$  – эффективное число аллелей на локус;  $N_{a \geq 5\%}$  – число информативных аллелей, т.е. встречающихся с частотой от 5 % и выше;  $H_o$  – наблюдаемая гетерозиготность;  $H_e$  – ожидаемая гетерозиготность; Fis – индекс фиксации.



Наименьшим числом аллелей на локус характеризовалась группа DJ (4,91), а наибольшим – группа SIM (7,64). Эффективное число аллелей на локус варьировало от 2,88 (DJ) до 3,76 (BSH2). Максимальное (4,64) и минимальное (3,73) число информативных аллелей идентифицировано для групп BSH2 и BSH1 соответственно. Анализ параметров генетического разнообразия показал, что у всех исследуемых групп, за исключением группы DJ, уровень наблюдаемой гетерозиготности превышал 0,70. Группа DJ показала минимум по данному показателю ( $H_o = 0,65$ ), в то время как максимальное значение определено для группы KOS ( $H_o = 0,77$ ), несмотря на ее малочисленность. Все изучаемые группы характеризуются избытком гетерозигот, с максимальным значением в группе KOS – 17 %. В исследуемых популяциях в общей сложности выявлено 23 частных аллеля с частотой встречаемости от 0,005 (SIM) до 0,385 (DJ).

Анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) показал, что 87 % генетической изменчивости приходится на внутригрупповую изменчивость, а 13 % изменчивости составляют межгрупповые различия. С помощью программы Structure была проанализирована суммарная выборка всех особей при числе задаваемых кластеров (K) равном 15, т.к. выборка делилась по принципу принадлежности хозяйству. Рассчитанное в программе Structure Harvester значение DeltaK показало разделение изучаемых

групп на 2 и 3 крупных кластера (рис. 1). При таком разделении наблюдается лишь четкая кластеризация группы DJ от остальных изучаемых популяций (рис. 2).

Для дальнейшей дифференциации изучаемых популяций было выбрано оптимальное значение K, равное 8, по результатам обработки данных в программе CLUMPAK (рис. 3).

Анализ структуры популяций (рис. 4) показал высокий уровень принадлежности всех групп к собственному кластеру, а также дифференциацию внутри кластера, что, по всей видимости, является следствием принадлежности животных внутри популяции к разным линиям. В ходе исследования было выявлено, что группа BSH2 (см. рис. 4, № 4) четко дифференцируется на отдельный кластер, что обусловлено другим эколого-географическим происхождением.

Анализ попарной дифференциации по аллельным частотам микросателлитных локусов на основе стандартных генетических дистанций по Ней показал, что наибольшие значения  $F_{ST}$  были между группами DJ и HOLSН (0,635). Наименьшие же значения  $F_{ST}$  оказались между группами BSH1 и KOS (0,254), что напрямую определяется большим влиянием, оказанным швицким скотом на образование костромской породы. Все попарно рассчитанные значения  $F_{ST}$  были достоверными ( $P < 0,01$ ), что демонстрировало значительную дифференциацию между популяциями (табл. 2).

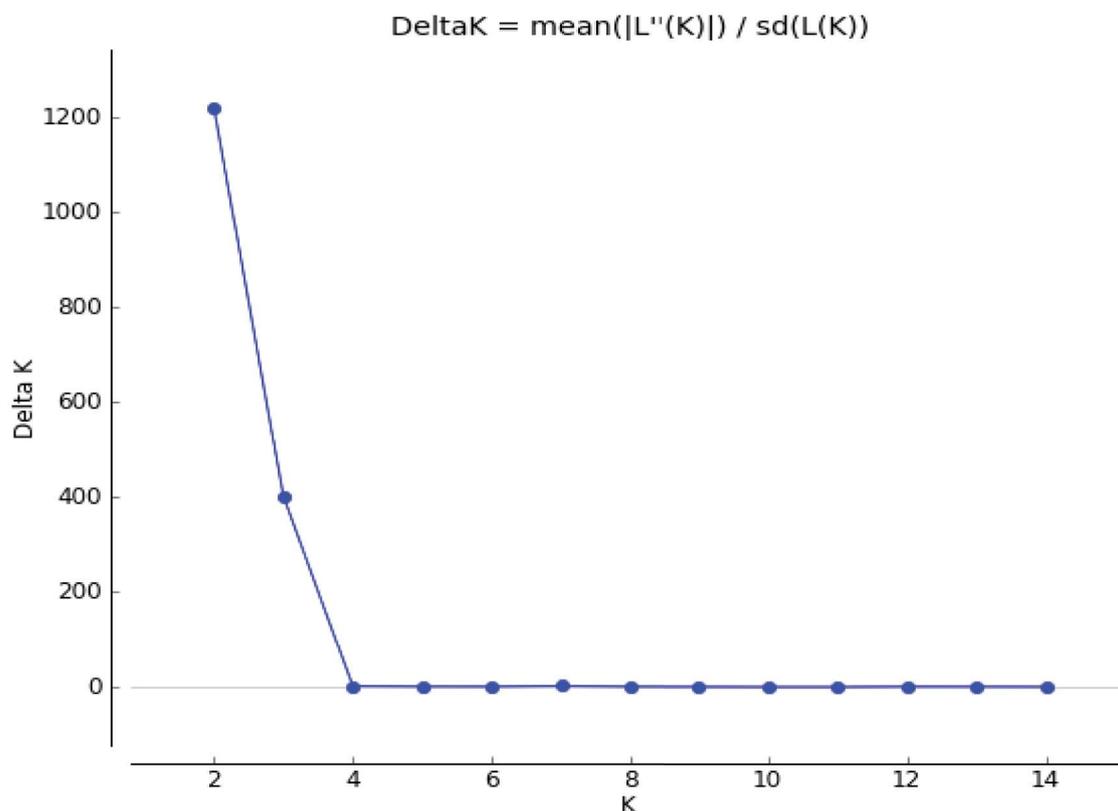
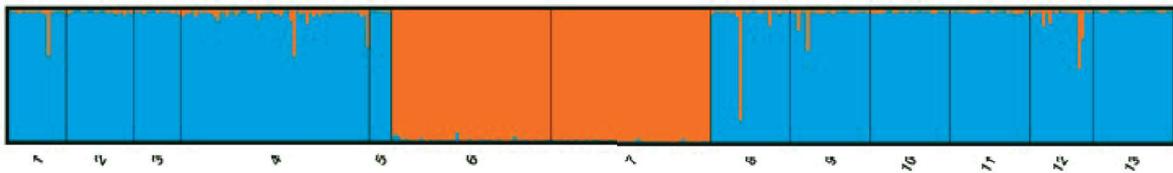


Рис. 1. Значения Delta K, по методу Evanno et al., рассчитанные в программе Structure Harvester

K=2



K=3

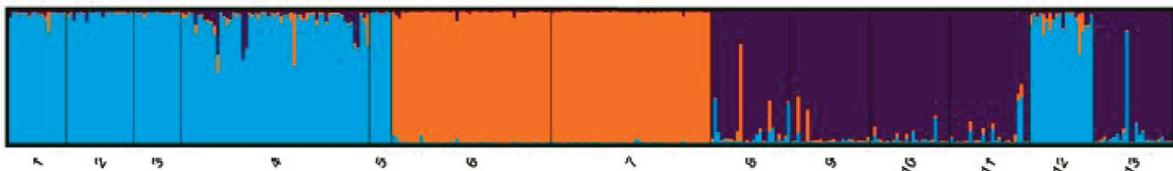


Рис. 2. Структура популяций исследуемых пород крупного рогатого скота:  
1-5 – группа BSH; 6-7 – группа DJ; 8-11 – группа SIM; 12 – группа KOS; 13 – группа HOLSH

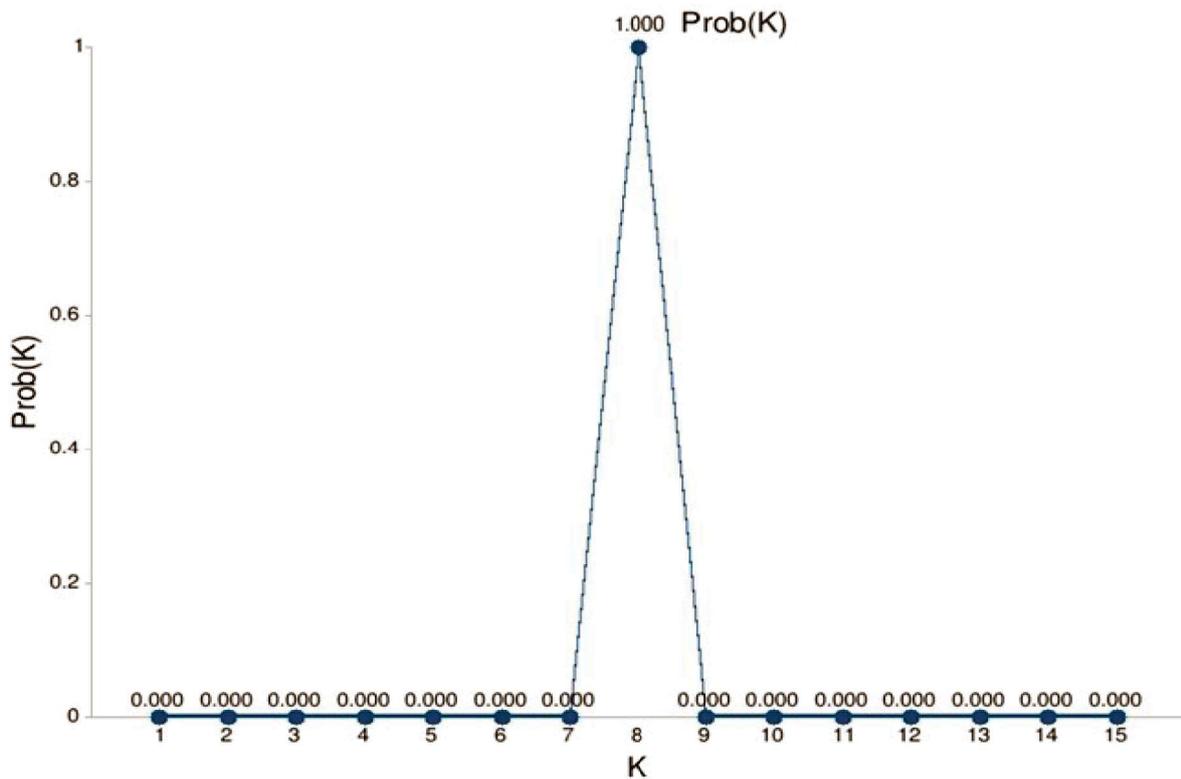


Рис. 3. Вероятность по K-графику

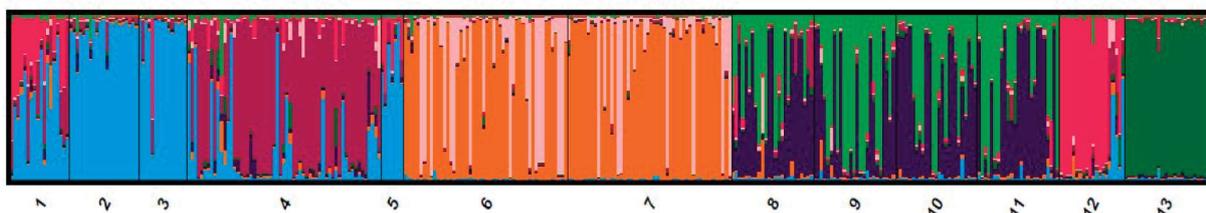


Рис. 4. Структура популяций исследуемых пород крупного рогатого скота с оптимальным числом популяций (K = 8): 1-5 – группа BSH; 6-7 – группа DJ; 8-11 – группа SIM; 12 – группа KOS; 13 – группа HOLSH



Значения генетических дистанций по Ней при парном сравнении

	BSH1	BSH2	DJ	SIM	KOS	HOLSH
BSH1	0,000					
BSH2	0,163	0,000				
DJ	0,543	0,351	0,000			
SIM	0,381	0,283	0,426	0,000		
KOS	0,254	0,347	0,485	0,384	0,000	
HOLSH	0,422	0,369	0,635	0,273	0,451	0,000

Факторный анализ (FCA) в программе GENETIX, определяющий по мультилокусным генотипам координаты каждой особи из выборки в многомерном пространстве и представляющий их графически, показал очень существенное перекрывание «облаков» мультилокусных генотипов особей групп BSH1, BSH2 и KOS. Группы DJ, SIM и HOLSH сформировали отдельные относительно обособленные группы (рис. 5).

Результаты нашего исследования, полученные с помощью STR-маркеров, обладающих высокой разрешающей способностью, дают основания говорить о том, что, несмотря на регистрируемое сокращение численности, бурая швицкая порода на территории РФ обладает генетической уникальностью. Показатели кластерного и факторного анализа указывают на то, что бурая швицкая порода в России мало подверглась влиянию улучшающей породы молочного направления – джерсейской, которая четко диф-

ференцировалась в отдельную группу. Значения генетических дистанций вместе с результатами FCA анализа дают основания утверждать, что между бурой швицкой и костромской породами существует тесная генетическая взаимосвязь, что отражено в истории создания породы. Поскольку в результате проведенного анализа не было обнаружено значимой разницы между поголовьем российской бурой швицкой породы и 15 животными, относящимися к Смоленскому типу, было решено объединить животных в общую выборку BSH1. Данный факт согласуется с результатами научных работ, посвященных иммуногенетическим исследованиям, в которых показаны незначительные наследственные различия между типом «Смоленский» и бурой швицкой породой в целом [2]. Однако следует отметить, что низкие показатели генетической дифференциации для бурой швицкой породы, полученные в данном исследовании, возможно, являются характерными только для представленной в работе популяции скота.

**Заключение.** Выполненное исследование позволило оценить состояние аллелофонда бурой швицкой породы на территории России с помощью STR-анализа. Полученные данные показали, что бурая швицкая порода характеризуется высоким уровнем генетического разнообразия и представляет собой довольно обособленный массив животных. Дифференциация животных бурой швицкой породы с животными немецкой селекции, а также с другими породами в целом

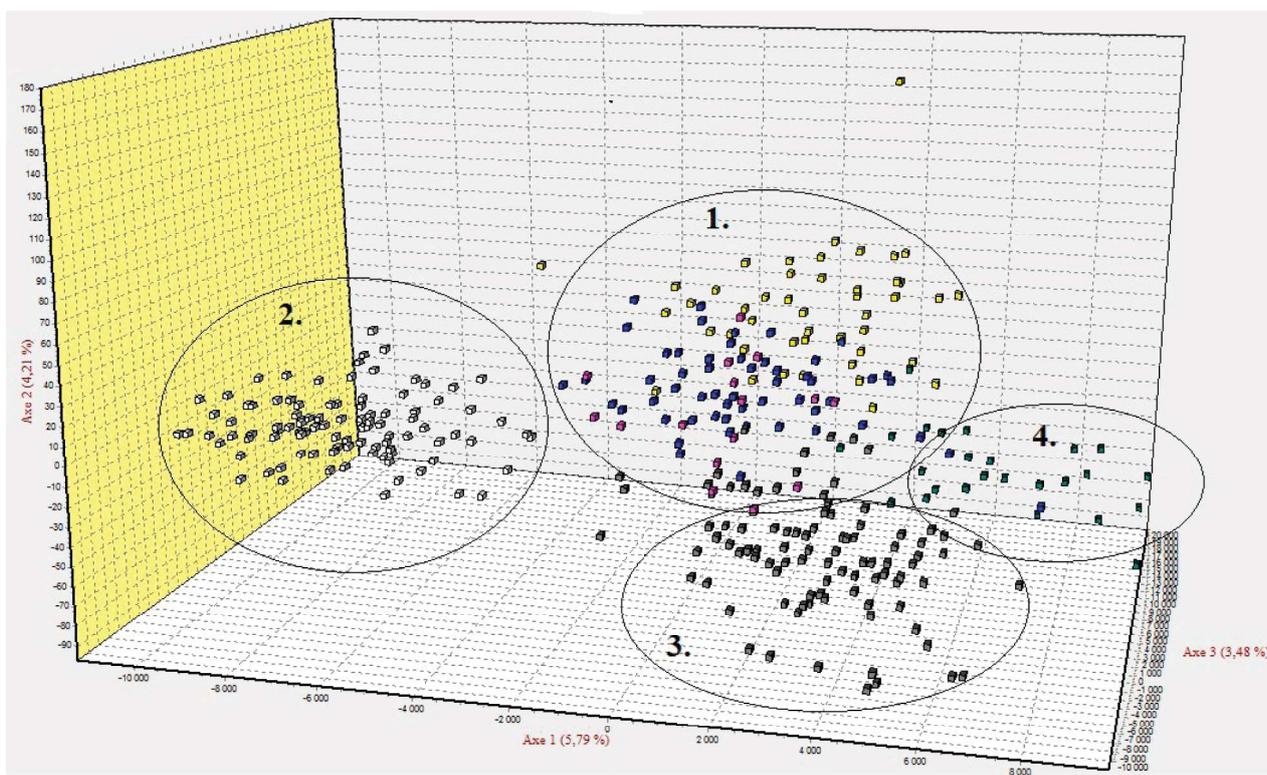


Рис. 5. Особи исследуемых выборок, представленные в координатах трех осей факторного анализа (FCA). 1. Бурая швицкая российской селекции (BSH1), бурая швицкая немецкой (BSH2) селекции и костромская (KOS) породы. 2. Джерсейская (DJ) порода. 3. Симментальская (SIM) порода. 4. Голштинская (HOLSH) порода



согласуется с данными о происхождении и селекционной истории породы.

*Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 20-016-00161.*

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зиновьева Н.А., Попов А.Н., Эрнст Л.К. Методические рекомендации по использованию метода полимеразной цепной реакции в животноводстве. – Дубровицы: ВИЖ, 1998. – 47 с.

2. Иммуногенетический мониторинг при выведении и совершенствовании типа «Смоленский» бурого швицкого скота в Смоленской области / М.Е. Гонтов [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2011. – № 3. – С. 54–56.

3. Породы крупного рогатого скота: справочник / сост. Н.В. Иванова, А.Г. Максимов. – Персиановский: Донской ГАУ, 2019. – 143 с.

4. Современные методы генетического контроля селекционных процессов и сертификация племенного материала в животноводстве / Н.А. Зиновьева [и др.]. – М.: учеб. пособие, 2008. – 329 с.

5. Спектры ISSR-PCR маркеров в оценках популяционно-генетической дифференциации карачаевской лошади в хозяйствах Карачаево-Черкесской Республики / Т.В. Голик [и др.] // Известия ТСХА. – 2018. – № 3. – С. 61–77.

6. Характеристика аллелофонда локальных пород крупного рогатого скота России по микросателлитным маркерам / В.В. Волкова [и др.] // Генетика и разведение животных. – 2018. – № 1. – С. 3–10.

7. Характеристика аллелофонда холмогорской породы крупного рогатого скота с использованием STR-маркеров // В.В. Волкова [и др.] // Молочное и мясное скотоводство. – 2019. – № 7. – С. 3–7.

8. *Belkhir K., Borsa P., Chikhi L., Raufaste N., Bonhomme F. GENETIX 4.05, Windows software for population genetics. University of Montpellier II, Montpellier, France, 2004.*

9. *Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study // Molecular Ecology, 2005, No. 14, P. 2611–2620.*

10. *Nei M. Genetic distance between populations // American Naturalist, 1972, No. 106, P. 283–392.*

11. *Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update // Bioinformatics, 2012, No. 28, P. 2537–2539.*

12. *Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data // Genetics, 2000, No. 155, P. 945–959.*

**Романенкова Ольга Сергеевна**, канд. биол. наук, научный сотрудник лаборатории генетики и геномики крупного рогатого скота, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста». Россия.

**Волкова Валерия Владимировна**, канд. биол. наук, зав. лабораторией генетики и геномики крупного рогатого скота, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста». Россия.

**Зими́на Анна Александровна**, канд. с.-х. наук, научный сотрудник лаборатории генетики и геномики крупного рогатого скота, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста». Россия.

142132, Московская обл., Городской округ Подольск, пос. Дубровицы, 60.

Тел.: (4967) 65-11-63.

**Ключевые слова:** крупный рогатый скот; бурая швицкая порода; микросателлиты; STR; аллелофонд; биоразнообразие.

#### THE STUDY OF GENETIC DISTINCTIONS OF BROWN SWISS CATTLE BREED WITH USING STR-MARKERS

**Romanenkova Olga Sergeevna**, Candidate of Biological Sciences, Researcher of the laboratory of genetic and genomic of cattle, L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Russia.

**Volkova Valeria Vladimirovna**, Candidate of Biological Sciences, Head of the laboratory of the laboratory of genetic and genomic of cattle, L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Russia.

**Zimina Anna Aleksandrovna**, Candidate of Agricultural Sciences, Researcher of the laboratory of the laboratory of genetic and genomic of cattle, L.K. Ernst Federal Research Center for Animal Husbandry, Russia.

**Keywords:** cattle; brown Swiss breed; microsatellites; STR; allele pool; biodiversity.

*The study of allele pool condition and genetic diversity of Brown Swiss cattle breed was conducted with using STR-markers. Sample collection included samples (n=347) of five breeds: Russian selection Brown Swiss (BSH1), German selection Brown Swiss (BSH2), Jersey (DJ), Simmental (SIM), Kostromskaya (KOS) and Hol-*

*stein (HOLSH). Polymorphism of 11 microsatellite loci was studied on 16-channell genetic analyzer ABI3130xl. A total of 393 alleles with minimal number in DJ group (54) and maximal in SIM group (84) were founded. The number of alleles per locus ranged from 25 (BM1824) to 50 (TGLA122) and average number of alleles per locus ranged from 4.33 (TGLA126) to 8.33 (TGLA122) with a mean of 5.95. Effective number of alleles per locus varied from 2.88 (DJ) to 3.76 (BSH2). Maximal (4.64) and minimal (3.73) numbers of informative alleles were found in BSH2 and BSH1 groups, respectively. Observed heterozygosity range exceeded 0.70 in all groups, except DJ. A total of 23 private alleles were detected ranged from 0,005 (SIM) to 0,385 (DJ). AMOVA analysis showed that 80.068% of variation was observed within populations while 5.186% of variability was intergroup differences. The population structure analysis showed a high level of belonging of all groups to their own cluster. The FCA method revealed an overlapping of multilocus genotypes of BSH1, BSH2 uKOS groups. The results we obtained reveal a high level of genetic diversity in Russian population of Brown Swiss cattle breed.*

