

Н. В. Блохина, Л. А. Храброва, А. А. Николаева

Влияние методов селекции на молекулярно-генетическую структуру лошадей буденновской породы

Аннотация. Буденновская порода лошадей получена в результате скрещивания донских и местных черноморских кобыл с чистокровными верховыми жеребцами в течение 1920–1930 годов. Для улучшения спортивных качеств буденновских лошадей применяют регулярное прилитие крови чистокровной верховой породы, что неизбежно влияет на селекционируемые качества лошадей. В задачу проведенных исследований входило изучение генетических особенностей полиморфизма микросателлитных локусов у буденновских лошадей с учетом происхождения и кровности по чистокровной верховой породе. Протестированные по 17-ти локусам микросателлитов ДНК лошади буденновской породы ($n=155$) были подразделены на 5 групп, с учетом типа подбора и доли кровности. В экспериментальную группу включены лошади СПК «Победа», имеющие незарегистрированных предков в родословной. Сравнительный генетико-популяционный анализ разных групп лошадей проводили по ряду показателей, включая уровень полиморфности (A_e), наблюдаемую (H_o) и ожидаемую (H_e) гетерозиготность, а также индексы F -статистики Райта с использованием Microsoft Excel 2010. В результате проведенного тестирования у лошадей буденновской породы идентифицировано 127 аллелей STR локусов, что свидетельствует о достаточном резерве генетического разнообразия. Число аллелей в изученных локусах варьировало от 3 до 13, наиболее полиморфными были локусы ASB17 (13), VHL20 (9) ANT4 (9) и LEX3 (9). Лошади разных групп различались как по спектру аллелей, так и по степени гетерозиготности. Наиболее высокий уровень основных параметров (MNA , A_e , H_o и H_e) имели лошади с консолидированным происхождением и кровностью на уровне 5/8. Практикуемое скрещивание с жеребцами чистокровной верховой породы привело к повышению доли кровности и снижению уровня полиморфности A_e с 3,803 до 3,588, степени гетерозиготности H_o с 0,737 до 0,703. Результаты филогенетического анализа свидетельствуют, что четыре группы лошадей буденновской породы образуют общий кластер, в центре которого находятся лошади с консолидированным происхождением. Микросателлитные маркеры, используемые при контроле происхождения лошадей, могут быть дополнительно использованы и для генетического контроля селекционных процессов в популяциях и породах лошадей.

Ключевые слова: буденновская порода, генетическое разнообразие, лошади, межпородное скрещивание, микросателлиты ДНК.

Авторы:

Блохина Нина Васильевна — кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории генетики; e-mail: nbloh16@yandex.ru;

Храброва Людмила Александровна — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник; e-mail: l.khrabrova@yandex.ru;

Николаева Анна Александровна — кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник отдела селекции; e-mail: ernikan@yandex.ru.

ФГБНУ «ВНИИ коневодства»; Россия, 391105 Рязанская область, Рыбновский район, п. Дивово, д. 26.

Введение. В 20-х годах прошлого века в конных заводах Ростовской области была начата планомерная работа по созданию буденновской породы лошадей. В качестве основы этой породы были использованы кобылы донской и черноморской пород, которых улучшали жеребцами чистокровной верховой породы с последующим разведением помесей нужного типа. В настоящее время буденновская порода лошадей является одной из

лучших отечественных пород спортивного назначения с универсальными качествами [1, 3].

В спортивном коннозаводстве всегда был спрос на крупную, нарядную и выносливую лошадь с хорошими движениями, поэтому в разведении буденновских лошадей по-прежнему практикуется использование жеребцов чистокровной верховой породы. Такое скрещивание часто ведется бессистемно и приводит к повышению кровности бу-

денновских лошадей, что в свою очередь может привести к сокращению аллелофонда и потере ценных адаптивных качеств породы.

Современные методы генетического контроля селекционных процессов в породах базируются на изучении генетической структуры популяций и являются эффективным инструментом для оценки их биоразнообразия и изучения микроэволюции. В настоящее время наиболее широко используют микросателлиты ДНК, которые нашли практическое применение при контроле происхождения лошадей, оценке разнообразия и изучении генетического сходства пород [2, 5, 6, 7, 9, 12, 13, 14].

В задачу наших исследований входило изучение генетических особенностей полиморфизма микросателлитных локусов у буденовских лошадей с учетом происхождения и кровности в сравнении с лошадьми чистокровной верховой породы.

Материалы и методы. Объектом исследований послужили образцы волосяных луковок лошадей буденновской породы ($n=155$) и лошадей чистокровной верховой породы ($n=1612$). Всех лошадей буденновской породы разделили на 5 групп: I — лошади с кровностью в пределах $3/4$ по чистокровной верховой породе; II — лошади с консолидированным происхождением (отец и мать буденновской породы); III-группа — помеси, полученные от чистокровных верховых отцов; IV-высококровные лошади (кровность выше $3/4$). В V экспериментальную группу вошли буденновские лошади недавно сформированного хозяйства СПК «Победа», имеющие незарегистрированных предков в своей родословной.

Лошадей тестировали в лаборатории генетики ВНИИ коневодства в 2009–2018 гг. Выделение ДНК из волосяных луковок проводили с использованием реагентов «ExtraGene DNA Prep 200» (ООО «Лаборатория Изоген», г. Москва). Выделенную ДНК амплифицировали методом полимеразной цепной реакции с использованием коммерческого 17-плексного набора для генотипирования лошадей — StockMarks® на амплификаторе 2720

Thermal Cycler согласно рекомендациям производителя по 17-ти микросателлитным локусам: VHL20, HTG4, AHT4, HMS7, HTG6, AHT5, HMS6, ASB23, ASB2, HTG10, HTG7, HMS3, HMS2, ASB17, LEX3, HMS1, CA425. Разделение и детекцию продуктов амплификации проводили методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе AB 3130 (Applied Biosystems). Идентификацию результатов осуществляли с использованием профиля контрольной ДНК и данных международных сравнительных испытаний (Horse Comparison Tests). При генетико-популяционном анализе рассчитывали следующие показатели: число аллелей в каждом локусе (N_a), число эффективно действующих аллелей (A_e), наблюдаемую (H_o) и ожидаемую (H_e) гетерозиготность. Коэффициенты внутривидового инбридинга F_{is} и генетической дифференциации пород F_{st} оценивали с применением методов F-статистики и использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2010 [8, 13].

Результаты исследований. У буденновских лошадей всех групп в 17-ти панельных STR-локусах было идентифицировано 127 аллелей, что значительно превышает уровень полиморфизма микросателлитных локусов чистокровной верховой породы [6, 10]. По нашим данным генетическая структура буденовской породы по STR локусам оказалась значительно более разнообразной, чем в предыдущем исследовании [4]. Наиболее широкий спектр аллелей ($N_a=112$) был зарегистрирован во II группе лошадей с консолидированным происхождением. Аллелофонд буденовской породы включал варианты, типичные для европейских популяций лошадей [11], исключение составил только уникальный аллель LEX3R, выявленный у лошадей СПК «Победа» Забайкальского края.

Число аллелей в изученных локусах варьировало от 3 до 13, при существенном колебании средних значений от 5,06 до 7,47 на локус (Таблица 1). Наибольшее число аллелей наблюдалось в локусе ASB17 (8-13), сравнительно низкая вариабель-

Таблица 1. Характеристика полиморфизма 17-тимикросателлитных локусов у лошадей буденновской породы с разной долей кровности

Группа лошадей	N	N_a	MNA	A_e	H_o	H_e	F_{is}	F_{st}
I (11/16 чкв)	21	99	5,824	3,598	0,735	0,693	-0,056	0,037
II (консолидаты, 5/8 чкв)	45	112	6,588	3,803	0,737	0,720	-0,023	0,003
III (помеси, 7/8 чкв)	15	90	5,294	3,637	0,729	0,702	-0,035	0,022
IV (высококровные, 13/16 чкв)	52	101	5,941	3,588	0,703	0,694	-0,011	0,037
V (СПК «Победа»)	22	86	5,059	3,511	0,758	0,688	-0,107	0,038
В среднем по породе	155	127	7,471	3,837	0,729	0,718	-0,010	—

ность была отмечена в локусах HTG4 (3–6), HTG6 (3–6) и HMS1 (3–5). Аллели ASB17T и HMS6N были выявлены только у лошадей II-группы с консолидированным происхождением и отсутствовали в других группах.

Сравнительный анализ всех групп лошадей по основным генетико-популяционным характеристикам показал, что лошади II группы, представляющие наибольшую ценность для разведения, лидируют по уровню генетического разнообразия и имеют максимальное значение практически всех показателей генетического разнообразия (Na, MNA, Ae, Ho и He). Высококровные лошади IV группы (13/16 чкв) характеризовались невысокими показателями уровня полиморфности (Ae=3,59) и наблюдаемой гетерозиготности (Ho=0,703), приближаясь по этим параметрам к чистокровной верховой породе [6].

Анализ показателей лошадей СПК «Победа» выявил низкий уровень аллельного разнообразия при достаточно высоком уровне гетерозиготности. Эта субпопуляция лошадей выделялась среди других максимальным значением индекса дифференциации F_{st} и наличием уникального аллеля LEX3R, локализованного в X-хромосоме, что свидетельствует о дополнительной материнской линии в геноме лошадей V группы.

В целом можно отметить, что, несмотря на сокращение численности заводских маток практически до 250 голов, буденновская порода лошадей сохраняет достаточный ресурс генетического разнообразия и гетерозиготности, о чем свидетельствуют отрицательные значения индекса внутривидового инбридинга во всех группах и породе в среднем ($F_{is} = -0,056$).

Максимальный индекс генетического сходства по Nei (0,966) был определен между II и IV груп-

пами буденновских лошадей, самый высокий уровень сходства с чистокровной верховой породой демонстрировали высококровные буденновские лошади IV группы (Табл. 2). Интересно, что буденновские лошади СПК «Победа» Забайкальского края имели самый низкий индекс родства (0,832) с чистокровной верховой породой, что указывает на незначительный уровень прилития крови у поголовья этого хозяйства. В условиях табунно-конюшенного содержания интенсивность использования чистокровных верховых жеребцов дополнительно определяется факторами естественного отбора и при превышении доли 5/8 приводит к снижению адаптивных качеств лошадей.

Филогенетические отношения между буденновскими лошадьми различного происхождения и чистокровной верховой наглядно представлены на диаграмме (рис. 1), построенной на основании матрицы генетических дистанций. Четыре первые группы лошадей буденновской породы формируют общий кластер, в центре которого находятся лошади II и IV групп. Отдельной самостоятельной ветвью представлены лошади СПК «Победа», отдаленно примыкающие к чистокровной верховой породе лошадей. Все полученные данные указывают на генетическую обособленность лошадей субпопуляции СПК «Победа», которые могут иметь прилитие крови не только чистокровной верховой, но и других конских пород.

Анализ показателей доли кровности, степени гетерозиготности и индекса генетического сходства с чистокровной верховой породой в сравниваемых группах лошадей буденновской породы свидетельствует, что их соотношение в двух первых группах лошадей с рекомендованной для породы долей кровности на уровне 5/8 имеет линейную зависимость (Рис. 2). В III и IV группах высококровных буденновских лошадей, имеющих долю кровности 13/16 и более, взаимосвязь этих

Таблица 2. Индексы генетического сходства (вверху) и генетические дистанции (внизу) между группами лошадей буденновской и чистокровной верховой пород

Породы и группы лошадей	I-группа	II-группа (консолидаты)	III-группа (помесь)	IV-группа (высококровная)	V-группа (СПК «Победа»)	Чистокровная верховая
I-группа		0,9381	0,9305	0,9534	0,9003	0,8836
II-группа (консолидаты)	0,0638		0,9320	0,9663	0,8650	0,8559
III-группа (помеси)	0,0720	0,0705		0,9443	0,8689	0,8590
IV-группа (высококровные)	0,0477	0,0343	0,0573		0,8916	0,8838
V-группа (СПК «Победа»)	0,1050	0,1450	0,1405	0,1148		0,8324
Чистокровная верховая	0,1238	0,1556	0,1520	0,1237	0,1835	

трех параметров приобретает криволинейный характер и не имеет четкого алгоритма.

Выводы. В условиях снижения численности поголовья буденновская порода лошадей пока еще сохраняет сравнительно высокий уровень генетического разнообразия, который во многом зависит от системы разведения. Наиболее высокий уровень базовых генетико-популяционных параметров (MNA, Ae, Но и He) имели лошади II группы с консолидированным происхождением и кровностью на уровне 5/8. Практикуемое скрещивание с жеребцами чистокровной верховой породы привело к повышению доли кровности и снижению уровня полиморфности Ae с 3,803 до 3,588, степени гетерозиготности Но с 0,737 до 0,703. Ре-

зультаты филогенетического анализа свидетельствуют, что четыре группы лошадей буденновской породы формируют общий кластер, в центре которого находятся лошади с консолидированным происхождением и высококровные представители породы (IV группа). Оценка генотипов лошадей СПК «Победа» с использованием методов генетико-популяционного анализа показала, что эта субпопуляция имеет оригинальную генетическую структуру, не вполне типичную для буденновской породы. Микросателлитные маркеры, используемые при контроле происхождения лошадей, могут быть дополнительно использованы и для генетического контроля селекционных процессов в популяциях и породах лошадей.

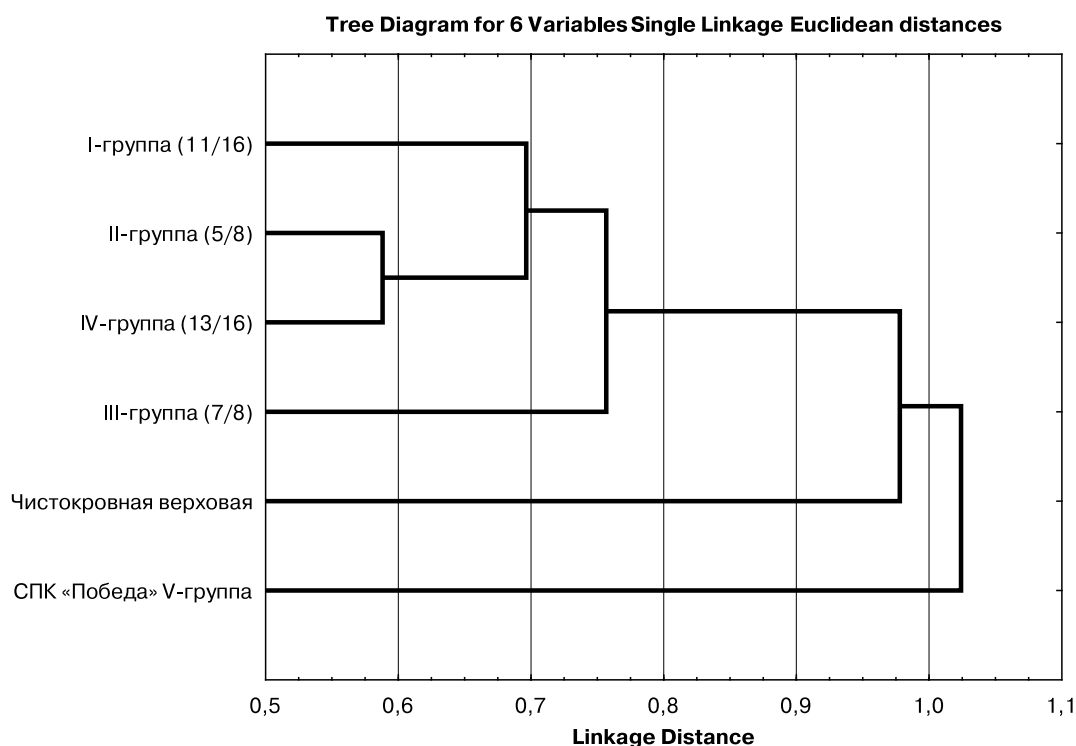


Рис. 1. Дендрограмма генетических дистанций между группами лошадей буденновской породы по 17-ти локусам микросателлитов ДНК

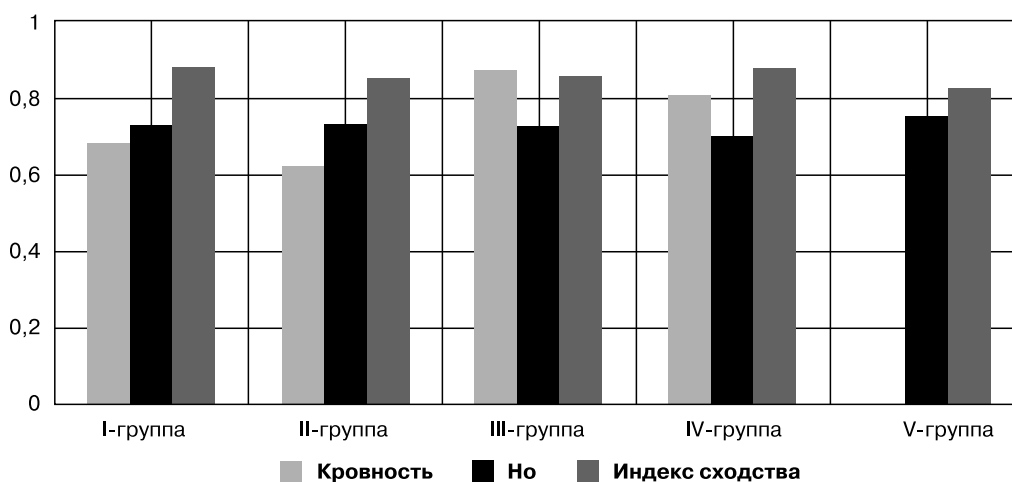


Рис. 2. Соотношение показателей доли кровности, степени гетерозиготности и индекса генетического сходства с чистокровной породой в группах лошадей буденновской породы

Литература

1. Барминцев Ю. Н. Коннозаводство и конный спорт. — М.: Колос, 1972.
2. Блохина Н. В. Оценка генетического разнообразия микросателлитных локусов у лошадей тяжелоупряжных пород / Н. В. Блохина, Л. А. Храброва, А. М. Зайцев, И. С. Гавриличева // Генетика и разведение животных. — 2018. — № 2. — С. 39–44. doi: 10.31043/2410-2733-2018-2-39-44.
3. Киборт М. И. Формирование генофонда и племенного ядра в буденновской породе лошадей / М. И. Киборт, А. А. Николаева, Н. Ю. Филиппова // Коневодство и конный спорт. — 2018. — № 6. — С. 10–13.
4. Храброва Л. А. Характеристика полиморфизма микросателлитных локусов у лошадей буденновской породы / Л. А. Храброва, Н. Ю. Курнявко, С. А. Сотникова // Коневодство и конный спорт. — 2012. — № 3. — С. 6–8.
5. Храброва Л. А. Инбридинг и степень гомозиготности микросателлитных локусов у лошадей (EQUUS CABALLUS) орловской рысистой породы / Л. А. Храброва, Н. В. Блохина, А. В. Устьянцева // С.-х. биология. — 2014. — № 4. — С. 35–41.
6. Храброва Л. А. Генетический мониторинг чистокровной верховой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК / Л. А. Храброва, Н. В. Блохина // Генетика и разведение животных. — 2018. — №3. — С.11-16. doi: 10.31043/2410-2733-2018-3-11-16.
7. Ling Y. H. Evaluation of the genetic diversity and population structure of Chinese indigenous horse breeds using 27 microsatellite loci // Y. H. Ling, Y. H. Ma, W. J. Guan, Y. J. Cheng, Y. P. Wang, J. L. Han, L. Mang, Q. J. Zhao, X.H. He, Y.B. Pu, B. L. Fu / Animal Genetics. — 2011. — Vol. 42. — P. 56-63. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02067.x.
8. Nei M. Molecular evolutionary genetics // M. Nei / N. Y.: Columbia Univ. press, 1987.
9. Putnova L. Genetic monitoring of horses in the Czech Republic: A large scale study with a focus on the Czech autochthonous breeds // L. Putnova, R. Stohl, I. Vrtkova / J. Anim. Breeding & Genetics. — 2018. — Vol. 135. — Issue 1. — P. 73-83. Doi: 10.1111/jbg.12313.
10. Shelyov A. V. The comparative analysis of the allele pool of Thoroughbred horses in different countries // O. V. Melnyk, I. O. Suprun, S. V. Spyrydonov, S. D. Melnychuk, V. V. Dzitsiuk, B. M. Gorka / Iranian J. Applied Animal Sci. — 2014. — Vol. 4(3). — P. 637-641.
11. Van de Goor L. H. P. A proposal for standardization in forensic equine DNA typing: allele nomenclature for equine-specific STR loci / L. H. P. Van de Goor, W. A. van Haeringen // J. Animal Genetics. — 2010. — Vol. 41. — P. 122-127. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01975.x.
12. Van de Goor L. H. P. Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis // L. H. P. Van de Goor, W. A. van Haeringen, J. A. Lenstra / J. Animal Genetics. — 2011. — Vol. 42. — P. 627-633. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x..
13. Weir B. S. Genetic data analysis II // B.S. Weir / Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc. 1996.
14. Wright J. M. Microsatellites: Genetics markers for the future / J. M. Wright, P. Bentzen // Rev. Fish. Biol. Fish. — 1994. — Vol. 4. — P. 384–388.

Blochina N., Khrabrova L., Nikolaeva A.

The influence of breeding methods on the molecular genetic structure of budenny horse breed

Abstract. Budenny horse breed was obtained as a result of the crossing of Don and local Black Sea mares with Thoroughbred stallions during 1920–1930. To improve the athletic qualities of Budenny horses Thoroughbred stallions are regularly used in breeding, which inevitably affects the breeding qualities of the received offspring. The task of the research was to study the genetic features of the polymorphism of microsatellite loci in Budenny horses, taking into account the origin and Thoroughbred horses' blood proportion. Tested on 17 loci of microsatellites, horse DNA of the Budenny breed ($n=155$) were subdivided into 5 groups, taking into account the type of selection and the proportion of blood. In the 5th experimental group horses with unregistered ancestors in the pedigree from the «Pobeda» farm were included. A comparative genetic-population analysis of different groups of horses was performed on a number of indices, including the level of polymorphism (A_e), the observed (H_o) and the expected (H_e) heterozygosity, as well as Wright's F -statistics indices using Microsoft

Excel 2010. As a result of testing 127 alleles of STR loci were identified in Budenny breed that evidences a sufficient reserve of genetic diversity. The number of alleles in the studied loci varied from 3 to 13, the most polymorphic ones were the ASB17 (13), VHL20 (9) ANT4 (9) and LEX3 (9) loci. Horses of the all 5 groups differed both in the spectrum of alleles and in the degree of heterozygosity. The highest level of the main parameters (MNA, Ae, Ho and He) had horses of a consolidated origin and Thoroughbred blood proportion at the level of 5/8. The practiced crossing with Thoroughbred stallions led to an increase in the proportion of blood and the decrease in Ae polymorphism level from 3.803 to 3.588, the degree of heterozygosity lowered from 0.737 to 0.703. The results of phylogenetic analysis indicate that the four groups of Budenny horses form a common cluster, in the center of which are horses with a consolidated origin. Microsatellite markers used to control the origin of horses can be additionally used for genetic control of breeding processes in populations and breeds of horses.

Key words: Budenny horse breed, genetic diversity, horse, interbreeding crossing, DNA microsatellite.

Authors:

Blokhina N. — PhD. (Agr. Sci.), scientific researcher, the Laboratory of Genetics; e-mail: nbloh16@yandex.ru;

Khrabrova L. — Dr. Habil (Agr. Sci.), Professor, senior researcher; e-mail: l.khrabrova@yandex.ru;

Nikolaeva A. — PhD. (Agr. Sci.), senior scientific researcher, the Laboratory of Genetics; e-mail: ernikan@yandex.ru.

FSBSI «ARRI for Horsebreeding», Russia, 391105, Ryazan region, Rybnoe district, 26-2. Divovo.

References

1. Barmintsev Yu. N. Riding and equestrian sport. — M.: Kolos, 1972.
2. Blokhina N. V. Evaluation of the genetic diversity of microsatellite loci in heavy-weight horses / N. V. Blokhina, L. A. Khrabrova, A. M. Zaytsev, I. S. Gavrilicheva // Genetics and animal breeding. — 2018. — № 2. — P. 39–44. doi: 10.31043 / 2410-2733-2018-2-39-44.
3. Kibort M. I. Formation of the gene pool and breeding nucleus in the Budennovskaya horse breed / M. I. Kibort, A. A. Nikolayeva, N. Yu. Filippova // Horse breeding and equestrian sport. — 2018. — № 6. — P. 10–13.
4. Khrabrova L. A. Characterization of polymorphism of microsatellite loci in horses of the Budennovskaya breed / L. A. Khrabrova, N. Yu. Kurnyavko, S. A. Sotnikova // Horse breeding and equestrian sport. — 2012. — № 3. — P. 6–8.
5. Khrabrova L. A. Inbreeding and the degree of homozygosity of microsatellite loci in horses (EQUUS CABALLUS) of Orlov trotting breed / L. A. Khrabrova, N. V. Blokhina, A. V. Ustyantseva // S.-kh. biology. — 2014. — №4. — P. 35–41.
6. Khrabrova L. A. Genetic monitoring of a thoroughbred riding horse breed by DNA microsatellite loci / L. A. Khrabrova, N. V. Blokhina // Genetics and animal breeding. — 2018. — №3. — P. 11–16. doi: 10.31043 / 2410-2733-2018-3-11-16.
7. Ling Y. H. Evaluation of the genetic diversity and population structure of Chinese indigenous horse breeds using 27 microsatellite loci // Y. H. Ling, Y. H. Ma, W. J. Guan, Y. J. Cheng, Y. P. Wang, J. L. Han, L. Mang, Q. J. Zhao, X.H. He, Y.B. Pu, B. L. Fu / Animal Genetics. — 2011. — Vol. 42. — P. 56–63. doi: 10.1111/j.1365-2052.2010.02067.x.
8. Nei M. Molecular evolutionary genetics // M. Nei / N. Y.: Columbia Univ. press, 1987.
9. Putnova L. Genetic monitoring of horses in the Czech Republic: A large scale study with a focus on the Czech autochthonous breeds // L. Putnova, R. Stohl, I. Vrtkova / J. Anim. Breeding & Genetics. — 2018. — Vol. 135. — Issue 1. — P. 73–83. Doi: 10.1111/jbg.12313.
10. Shelyov A. V. The comparative analysis of the allele pool of Thoroughbred horses in different countries // O. V. Melnyk, I. O. Suprun, S. V. Spyrydonov, S. D. Melnychuk, V. V. Dzitsiuk, B. M. Gorka / Iranian J. Applied Animal Sci. — 2014. — Vol. 4(3). — P. 637–641.
11. Van de Goor L. H. P. A proposal for standardization in forensic equine DNA typing: allele nomenclature for equine-specific STR loci / L. H. P. Van de Goor, W. A. van Haeringen // J. Animal Genetics. — 2010. — Vol. 41. — P. 122–127. doi: 10.1111/j.1365-2052.2009.01975.x.
12. Van de Goor L. H. P. Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetic analysis // L. H. P. Van de Goor, W. A. van Haeringen, J. A. Lenstra / J. Animal Genetics. — 2011. — Vol. 42. — P. 627–633. doi: 10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x.
13. Weir B. S. Genetic data analysis II // B.S. Weir / Sunderland, MA: Sinauer Associates, Inc. 1996.
14. Wright J. M. Microsatellites: Genetics markers for the future / J. M. Wright, P. Bentzen // Rev. Fish. Biol. Fish. — 1994. — Vol. 4. — P. 384–388.