

Л. В. Калинкова

Изучение полиморфизма генов *ASIP* и *MC1R* у лошадей арабской породы

Аннотация. Масть является одним из самых изменчивых морфологических признаков у домашних лошадей и важной характеристикой любой породы. Древнейшая культурная порода лошадей — чистокровная арабская, характеризуется наличием только четырех мастей: серой, гнедой, рыжей и вороной. Вороная масть в арабской породе встречается исключительно редко, поэтому традиционно чистокровные арабы вороной масти очень высоко ценятся заводчиками. Как правило, лошади редких эффектных мастей всегда привлекают внимание и пользуются повышенным спросом у покупателей. Известно, что ключевую роль в изменении пигментации волосяного покрова у млекопитающих животных играют 2 гена — *MC1R* и *ASIP*, кодирующие соответственно меланокортиновый рецептор 1 типа и агутти-сигнальный белок. Целью настоящего исследования являлось изучение полиморфизма генов *ASIP* и *MC1R* у лошадей чистокровной арабской породы, разводимых в Российской Федерации. С использованием технологии ПЦР нами проведено генотипирование 80 лошадей чистокровной арабской породы. Установлено, что частота встречаемости доминантного аллеля «А» в локусе *ASIP* и доминантного аллеля «Е» в локусе *MC1R* составила 0,900 и 0,256 соответственно. В исследованной популяции преобладали животные с генотипами «ееАА» (43,75%) и «ЕеАА» (31,25%). При этом редкость рождения вороных жеребят была обусловлена преобладанием в локусе *ASIP* доминантного аллеля «А», который ограничивает синтез черного пигмента, детерминируя гнедую масть. Анализ происхождения генотипированных нами чистокровных арабских лошадей выявил различия между мужскими линиями по частоте встречаемости аллелей генов *ASIP* и *MC1R*. Установлено, что рецессивный аллель «а» гена *ASIP* и доминантный аллель «Е» гена *MC1R*, детерминирующие вороную масть, чаще встречаются у лошадей линий Кохейлана I и Амурата.

Ключевые слова: лошади арабской породы; масти; маркеры ДНК; *ASIP*; *MC1R*.

Автор:

Калинкова Л. В. — кандидат сельскохозяйственных наук; e-mail: labgenetics79@gmail.com; ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства»; 391105, Россия, Рязанская область, Рыбновский р-он, п. Дивово.

Введение. Масть является одним из самых изменчивых морфологических признаков у домашних лошадей [1]. Окраска волоса и кожи у всех млекопитающих определяется пигментом меланином, который синтезируется в пигментных клетках — меланоцитах. Меланин имеет 2 основные формы: *eumelanin* (черный пигмент) и *phaeomelanin* (красно-желтый пигмент). Масть определяется концентрацией меланина и распределением его типов в отдельных покровных и защитных волосах лошади [2]. Изучение генетических факторов, детерминирующих масть у лошадей, показало, что два гена, *MC1R* и *ASIP*, кодирующие соответственно меланокортиновый рецептор 1 типа и агутти-сигнальный белок, играют ключевую роль в изменении пигментации волосяного покрова [3, 4, 5].

Ген *MC1R* локализован на 3 хромосоме лоша-

ди и имеет 2 основных аллеля: доминантный аллель «Е» контролирует выработку черного пигмента, рецессивный аллель «е» в гомозиготном состоянии подавляет синтез черного пигмента и обуславливает синтез преимущественно красно-желтого пигмента [2]. Гомозиготные по рецессивному аллелю гена *MC1R* лошади имеют рыжую масть. В 1996 году установлено, что наследуемая по рецессивному типу мутация, детерминирующая рыжую масть у лошадей, представляет собой однонуклеотидную замену С>Т в гене *MC1R* [6].

Гены локуса *ASIP* влияют на выработку и распределение черного пигмента (*eumelanin*'а). При этом доминантный аллель «А» ограничивает синтез черного пигмента и позволяет ему накапливаться в определенных местах (в волосах ног, гривы и хвоста), детерминируя гнедую масть, а рецессивный аллель «а» не оказывает эффекта и в го-

мозиготном состоянии детерминирует вороную масть [2]. В большинстве существующих ныне пород лошадей гнедая масть является наиболее распространенной, в то время как вороная масть встречается относительно редко [1]. В 2001 году S. Rieder с соавт. установил, что лошади вороной масти являются гомозиготными носителями делеции (11 bp) в гене *ASIP* [7].

Гнедую, вороную и рыжую масти домашней лошади принято считать основными (базовыми) мастями. К настоящему времени у лошадей известен ряд генов-модификаторов, которые вызывают ослабление пигментации кожи и волос, появление в волосяном покрове примеси белых или темных волос, а также участков депигментированной кожи и т.п. Благодаря совместному действию генов *MC1R* и *ASIP*, а также нескольких генов-модификаторов масти современных домашних лошадей отличаются широким разнообразием вариаций. Как правило, лошади редких мастей привлекают внимание и пользуются повышенным спросом у покупателей.

Актуальность темы. Масть животных является важной характеристикой любой породы. Древнейшая культурная порода лошадей — чистокровная арабская, характеризуется наличием только четырех мастей: серой, гнедой, рыжей и вороной [8]. Вороная масть в арабской породе встречается исключительно редко, поэтому традиционно чистокровные арабы вороной масти очень высоко ценятся [9]. Многие заводчики арабских лошадей заинтересованы в получении большего числа вороных жеребят.

Цель исследования — изучение полиморфизма генов *ASIP* и *MC1R*, детерминирующих гнедую, вороную и рыжую масти, у лошадей чистокровной арабской породы, разводимых в Российской федерации.

Материалы и методы. Материалом для исследований послужили биологические образцы от чистокровных арабских лошадей различного происхождения. Общая численность животных экспериментальной выборки составила 80 голов

(табл. 1).

При выполнении работы по генотипированию использованы коммерческие наборы реагентов производства ООО «Лаборатория Изоген» (г. Москва): ДНК выделялась из волосаных луковиц и криоконсервированной спермы с помощью реагентов «ExtraGene™ DNA Prep 200», амплификация проводилась с использованием реагентов GenPak® PCR Core в соответствии с рекомендациями производителя.

Генотипирование по SNP-маркеру C>T гена *MC1R* проводилось методом PCR-RFLP согласно Marklund L. с соавт. [6] с использованием опубликованных последовательностей праймеров (5'-CCTCGGGCTGACCACCAACCAGACGGGGCC-3', 5'-CCATGGAGCCGCAGATGAGCAT-3') и эндонуклеазы рестрикции *TaqI* (Thermo Scientific, Литва) согласно рекомендациям производителя. Полученные фрагменты ДНК разделялись методом электрофореза в 2% агарозном геле.

Детекция делеции 11 bp в локусе *ASIP* проводилась по методу Rieder S. с соавт. [8], с использованием праймеров 5'-CTTTTGTCTCTCTTTGAAGCATTG-3' и 5'-GAGAAGTCCAAGGCTACCTTG-3', с последующим разделением полученных фрагментов в 3% агарозном геле. Визуализация результатов электрофореза выполнялась с помощью трансиллюминатора TFX-20.C (Vilber Lourmat, Франция).

Обозначение аллелей в исследованных локусах проводилось с использованием номенклатуры согласно M. Reißmann [2].

Результаты и их обсуждение. В результате генотипирования 80 арабских лошадей по локусу *MC1R* было идентифицировано 3 генотипа: 5 лошадей были гомозиготными носителями доминантного аллеля (генотип «ЕЕ»), 44 лошади были гомозиготными носителями рецессивного аллеля (генотип «ее»), количество гетерозиготных лошадей (генотип «Ее») составило 31 гол. Таким образом, частота встречаемости доминантного аллеля «Е» в локусе *MC1R* составила 25,63%. Более

Таблица 1. Данные о происхождении арабских лошадей экспериментальной выборки

Мужская линия	Количество протестированных лошадей, голов
Амурат	7
Кохейлан I	16
Латиф (через Корея)	17
Латиф (через Денустэ)	19
Мансур	7
Насим	8
Прочие линии	6
Итого	80

половины протестированных нами лошадей имели генотип «*ee*», детерминирующий рыжую базовую масть. Гомозиготный генотип «*ee*» по рецессивному аллелю гена *MC1R* имел жеребец АСУАН 1958 г.р., оставивший значительный след в российской популяции чистокровных арабских лошадей через своих многочисленных потомков.

Исследование 80 арабских лошадей по локусу *ASIP* показало, что в породе преобладает гомозиготный по доминантному аллелю генотип «*AA*», носителями которого были 65 животных. Гетерозиготный генотип «*Aa*» был обнаружен у 14 лошадей. Рецессивный аллель «*a*» в гомозиготном

состоянии был выявлен только у 1 лошади. Таким образом, частота встречаемости доминантного аллеля «*A*» в локусе *ASIP* составила 90%. Доминантный аллель «*A*» влияет на выработку и распределение черного пигмента, ограничивая его синтез и позволяя ему накапливаться в волосах ног, гривы и хвоста, тем самым детерминируя гнедую масть.

Лошади вороной масти должны быть рецессивными гомозиготами по локусу *ASIP* (генотип «*aa*») и, кроме этого, иметь доминантный аллель в локусе *MC1R* (генотипы «*EE*» или «*Ee*»). В исследованной нами группе 36 лошадей имели в своем генотипе доминантный аллель «*E*» в локусе *MC1R*,

но только 1 лошадь была рецессивной гомозиготой «*aa*» по локусу *ASIP*. Наиболее часто в популяции встречаются лошади с генотипами «*eeAA*» (43,75%) и «*EeAA*» (31,25%) (рис. 1).

Анализ происхождения генотипированных нами чистокровных арабских лошадей выявил различия между мужскими линиями по частоте встречаемости аллелей генов *ASIP* и *MC1R*, детерминирующих вороную масть (рис. 2). Установлено, что рецессивный аллель гена *ASIP* и доминантный аллель гена *MC1R*, детерминирующие вороную масть, чаще встречаются у лошадей линий Кохейлана I и Амурата.

Использование целенаправленного отбора животных в производящий состав и подбор родительских пар с учетом результатов генетического тестирования может повысить вероятность рождения жеребят вороной масти.

Закключение. Изучение полиморфизма генов *ASIP* и *MC1R* в чистокровной арабской породе лошадей показало, что в популяции преобладают животные с геноти-

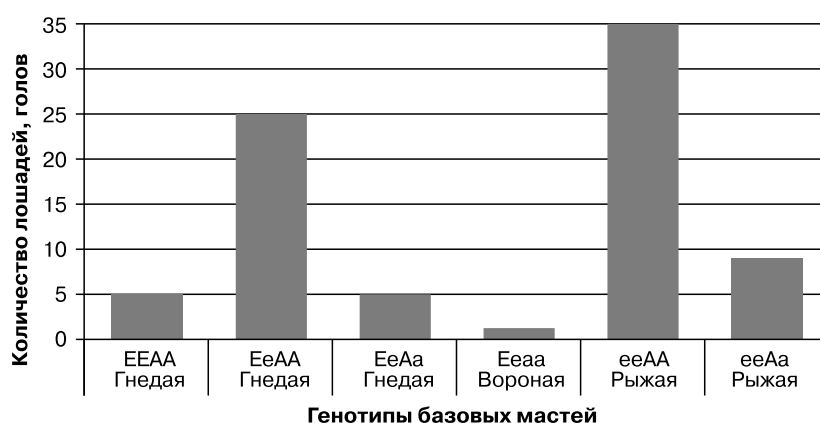


Рис. 1. Распределение чистокровных арабских лошадей (n=80) по генотипам *ASIP* и *MC1R*, детерминирующим базовую масть

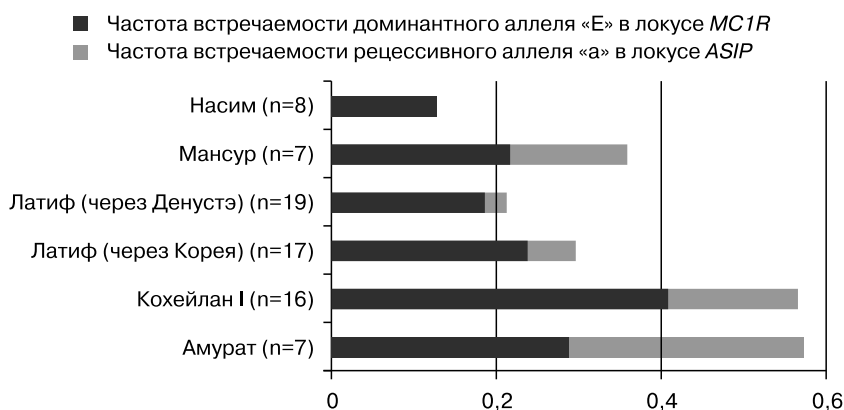


Рис. 2. Различия между линиями чистокровных арабских лошадей по частоте встречаемости аллелей генов *ASIP* и *MC1R*, детерминирующих вороную масть

Литература

1. Sponenberg D. P., Bellone R. Equine color genetics. Wiley-Blackwell, 2017.
2. Reißmann M. Die Farben der Pferde. Cadmos, 2009.
3. Bailey E. F., Brooks S. A. Horse genetics. CABI, 2013.
4. Bowling A. T. Horse genetics. CABI, 1996.
5. Chowdhary B. P. Equine genomics. Wiley-Blackwell, 2013.
6. Marklund L. A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (*MC1R*) is associated with the chestnut coat color in horses / L. Marklund, M. J. Moller, K. Sandberg, L. Andersson // Mammalian Genome. — 1996. — № 7. — P. 895–899.

7. Rieder S. Mutations in the agouti (*ASIP*), the extension (*MC1R*), and the brown (*TYRP1*) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*) / S. Rieder, S. Taourit, D. Denis Mariat et al. // *Mammalian Genome*. — 2001. — № 12. — P. 450–455.
8. Flade J. E. *Das Araberpfard*. A. Ziemsen Verlag, 1989.
9. Васильева А. П. Вороные арабские лошади и перспективы их использования в племенной работе с породой / А. П. Васильева // *Коневодство и конный спорт*. — 2010. — № 1. — С. 8–10.

L. Kalinkova

Study of polymorphism of the *ASIP* and *MC1R* genes in Arabian horses

Abstract. Coat colour is one of the most variable morphological traits in domesticated horses and an important character of any breed. The purebred Arabian is the most ancient cultural breed of horses. The breed is characterized by presence of only four coat colours: gray, bay, chestnut and black. The black coat colour is extremely rare in the Arabian breed, so traditionally purebred black Arabian horses are very much valued by breeders. A horse of a rare coat colour always attracts more attention of buyers. It is known that two genes, *MC1R* and *ASIP*, encoding melanocortin-1 receptor and agouti signaling protein, respectively, play a key role in variation of coat colours in mammals. The aim of the study was to investigate polymorphism of the *ASIP* and *MC1R* genes in purebred Arabian horses bred in Russia. The number of genotyped purebred Arabian horses was 80. It was found that the frequencies of the dominant «A» allele at the *ASIP* locus and the dominant «E» allele at the *MC1R* locus were 0.900 and 0.256, respectively. The most common genotypes in the studied population were «eeAA» (43.75%) and «EeAA» (31.25%). The rarity of the black coat colour in the studied population was due to the high frequency of the dominant allele «A» at the *ASIP* locus, which limits the synthesis of black pigment and determines the bay colour. The pedigree analysis of the genotyped horses revealed differences between male lines in the frequency of alleles at the *ASIP* and *MC1R* loci. The alleles that determine the black coat colour had more higher frequencies in the male lines of Koheilan I and Amurath.

Key words: Arabian horses; coat colours; DNA markers; *ASIP*; *MC1R*.

Author:

L. Kalinkova — PhD (Biol. Sci.); e-mail: labgenetics79@gmail.com; «All-Russian Research Institute for Horse Breeding»; 391105, Russia, Ryazan Region, Rybnoe District, Divovo.

References

1. Sponenberg D. P., Bellone R. *Equine color genetics*. Willey-Blackwell, 2017.
2. Reißmann M. *Die Farben der Pferde*. Cadmos, 2009.
3. Bailey E. F., Brooks S. A. *Horse genetics*. CABI, 2013.
4. Bowling A. T. *Horse genetics*. CABI, 1996.
5. Chowdhary B. P. *Equine genomics*. Wiley-Blackwell, 2013.
6. Marklund L. A missense mutation in the gene for melanocyte-stimulating hormone receptor (*MC1R*) is associated with the chestnut coat color in horses / L. Marklund, M. J. Moller, K. Sandberg, L. Andersson // *Mammalian Genome*. — 1996. — № 7. — P. 895–899.
7. Rieder S. Mutations in the agouti (*ASIP*), the extension (*MC1R*), and the brown (*TYRP1*) loci and their association to coat color phenotypes in horses (*Equus caballus*) / S. Rieder, S. Taourit, D. Denis Mariat et al. // *Mammalian Genome*. — 2001. — № 12. — P. 450–455.
8. Flade J. E. *Das Araberpfard*. A. Ziemsen Verlag, 1989.
9. Vasilieva A. P. Black Arabians and possibilities of their use in selection work with breed / A. P. Vasilieva // *Horse breeding and equestrian sport*. — 2010. — № 1. — P. 8–10