

Н. В. Блохина, А. В. Устьянцева

Влияние степени гомозиготности STR-локусов на плодовитость лошадей чистокровной верховой породы

Аннотация.

Цель: изучение влияния уровня гомозиготности и инбридинга на плодовую деятельность кобыл чистокровной верховой породы.

Материалы и методы. Для анализа были отобраны 3662 головы заводских маток из ведущих конных заводов Российской Федерации. Проанализировано влияние уровня гомозиготности по 17 микросателлитным локусам ДНК на основные показатели воспроизводства кобыл чистокровной верховой породы, такие как благополучный выход жеребят и число плодовых лет. Все кобылы, вошедшие в экспериментальную выборку, имели не менее трех лет племенного использования. По каждой лошади рассчитан индивидуальный показатель уровня плодовитости и количество гомозиготных локусов в STR-профиле.

Результаты. Самые высокие показатели выхода живых жеребят (75,92%) имели матки с уровнем гомозиготности 62,78–69,02%, а наиболее низкие показатели выхода жеребят (45,73%) зафиксированы у кобыл с наибольшей степенью гомозиготности (75,28–76,92%). Максимальный выход жеребят (65,85%) определен у маток с коэффициентом инбридинга 4,1% и более, с продуктивным долголетием в среднем 6,26 плодовых лет. Анализ полученных данных показал, что уровень инбридинга практически не влиял на выход живых жеребят ($R=0,010$ при $P>0,05$), но имел отрицательную корреляцию с числом плодовых лет ($R=-0,092$ при $P<0,005$).

Заключение. Оценка уровня гомозиготности лошадей чистокровной верховой породы особенно актуальна, так как эта порода более тридцати лет совершенствуется только методом чистопородного разведения. В чистокровной верховой породе необходимо создавать систему поддержания гетерозиготности, а также разнообразия генотипов с помощью организации селекционной работы.

Ключевые слова: гомозиготность; лошадь; микросателлиты ДНК; плодовитость; чистокровная верховая порода.

Авторы:

Блохина Нина Васильевна — кандидат сельскохозяйственных наук; e-mail: nbloh16@yandex.ru;

Устьянцева Анна Валерьевна — кандидат сельскохозяйственных наук; e-mail: ustavanna@yandex.ru.

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

Введение. Животноводство — это самая сложная отрасль сельского хозяйства. На ее прогрессивное развитие влияет уровень развития биотехнологии, воспроизводство, ведение селекционной работы. Одним из важнейших биологических показателей является плодовитость животных, на которую влияет не только наследственность животного, но и действие внешних факторов. С помощью генетического тестирования лошадей можно не только контролировать происхождение, но и оценивать степень гомозиготности. Также, как и генетическая структура, степень гетерозиготности животных является важнейшей характеристикой

популяции, с помощью которой можно проследить за уровнем инбридинга и воспроизводительной способностью гетерозигот [1–4]. По данным Храбровой Л. А. с соавторами [5] низкий уровень генетического разнообразия и инбридинга в чистокровной верховой породе приводит к значительному снижению плодовитости кобыл. Генетические факторы оказывают большое влияние на плодовитость и работоспособность лошадей [6]. В многочисленных исследованиях описано, что гетерозиготное состояние многих полиморфных локусов прямо или косвенно оказывает влияние на продуктивные качества животных, приводя в дальнейшем

к гетерозису [7–10]. В последнее время многими учеными ведутся исследования по поиску генов, которые связаны с производительными качествами лошадей. Это очень важно для ведения селекционной работы в коневодстве [11–12].

Цель — изучение влияния уровня гомозиготности и инбридинга на плодовую деятельность кобыл чистокровной верховой породы.

Материалы и методы. Тестирование 3662 заводских маток чистокровной верховой породы лошадей проводили в лаборатории генетики ФГБНУ «ВНИИ коневодства» по 17-ти микросателлитным локусам ДНК: *AHT4*, *AHT5*, *ASB2*, *HMS1*, *HMS2*, *HMS3*, *HMS6*, *HMS7*, *HTG4*, *HTG6*, *HTG7*, *HTG10*, *VHL20*, *ASB23*, *ASB17*, *LEX3* и *CA425*. Выделение ДНК из волосаных луковиц проводили с использованием реагентов «ExtraGene DNA Prep 200» (ООО «Лаборатория Изоген», г. Москва). Амплификация полученной ДНК проводилась с использованием 17-плексного набора праймеров для генотипирования лошадей отечественного производства — Equine-STR (ООО «Гордиз», г. Москва). Амплификацию проводили на ДНК-амплификаторе Thermocycler 2730. После начальной денатурации при 94°C в течение 3 мин, проводили 30 циклов амплификации при следующем температурном режиме: первые 4 цикла: 58°C (30 с), 59°C (120 с), 72°C (75 с), следующие 6 циклов: 94°C (30 с), 59°C (120 с), 72°C (75 с), в последующих 20 циклах: 90°C (30 с), 59°C (120 с), 72°C (75 с). Завершающая элонгация длилась 5 мин при 68°C, а затем пробы охлаж-

дались до 4°C. Разделение и детекция продуктов амплификации проводилась методом капиллярного электрофореза на автоматическом 4-х капиллярном генетическом анализаторе AB 3130 (Applied Biosystems, USA). После регистрации данных электрофореза с помощью программы GeneMapper™ V.4.0 рассчитывали размеры амплифицированных фрагментов ДНК. Интерпретация результатов осуществлялась с использованием профиля контрольной ДНК с известным генотипом и данных международных сравнительных испытаний (Horse Comparison Tests), проводимых ISAG в 2008–2020 гг. Для обозначения аллелей применяли международную номенклатуру.

Все поголовье конематок отобрано из состава ведущих конных заводов и фермерских хозяйств Российской Федерации, produцирующих с 2001 по 2019 годы.

Плодовитость кобыл, имеющих более трех лет заводского использования, оценивали по фактическому выходу жеребят, то есть от количества родившихся живых жеребят по отношению к числу плодовых лет.

Для статистической обработки данных использовали программное обеспечение MS Excel 2010 и Statistica 12. Коэффициент инбридинга рассчитывали в программе ИПС КОНИ-3.

Результаты исследования. Поголовье из 3662 заводских маток чистокровной верховой породы, которые были сгруппированы в зависимости от степени гомозиготности, проанализировано

Таблица 1. Распределение кобыл чистокровной верховой породы по уровню гомозиготности, выходу жеребят и среднему числу плодовых лет

Уровень гомозиготности (%)	N	Выход жеребят (%)		Среднее число плодовых лет	
		M	±m	M	±m
0,0	34	67,78	4,05	7,94	0,64
0,1–6,25	13	56,83	6,12	5,77	0,89
6,26–12,5	166	66,06	1,75	7,25	0,32
12,6–18,75	424	64,23	1,09	7,17	0,19
18,76–25,27	624	64,13	0,87	7,59	0,18
25,28–31,52	786	64,21	0,84	7,44	0,14
31,53–37,77	330	66,13	1,27	5,59	0,19
37,78–44,02	579	63,32	0,90	7,92	0,18
44,03–50,27	424	63,00	1,14	7,37	0,19
50,28–56,52	180	64,26	1,64	7,68	0,30
56,53–62,77	71	62,93	2,77	7,86	0,46
62,78–69,02	14	75,92	6,44	5,14	0,67
69,03–75,27	13	72,23	7,30	7,00	1,00
75,28–76,92	4	45,73	18,49	10,00	1,22
Всего	3662	64,21	0,37	7,34	0,07

по показателям выхода живых жеребят и продолжительности плодовой деятельности кобыл (табл. 1).

Средние значения числа плодовых лет в анализируемых группах маток с разной степенью гомозиготности колебались в интервале от 5,14 до 10,00 лет. Максимальный показатель выхода жеребят (75,92%) имели кобылы с гомозиготностью 62,78–69,02%. Самый низкий показатель делового выхода жеребят на уровне 45,73% отмечен у кобыл с наибольшей степенью гомозиготности (75,28–76,92%), различия между всеми остальными группами были незначительными ($P < 0,05$).

Анализ связи плодовой деятельности кобыл с коэффициентом инбридинга по Райту показал, что максимальный выход жеребят (65,85%) выявлен в группе инбредных маток с коэффициентом инбридинга 4,1% и более, имевших достаточно

продолжительную заводскую карьеру — в среднем 6,26 плодовых лет. Минимальные показатели воспроизводства кобыл отмечены при уровне инбридинга 3,1–4,0 % (табл. 2).

Самая высокая вариабельность чистокровных верховых кобыл по показателям степени гомозиготности в интервале от 0 до 76,92% зарегистрирована в группах маток с нулевым и умеренным инбридингом ($F_x = 0-1,0$). (табл. 3).

При увеличении уровня инбридинга кобыл не отмечено заметного роста степени гомозиготности, этот показатель менялся плавно. Самая многочисленная группа кобыл из 786 маток образовала отдельный класс со степенью гомозиготности 25,28–31,52% (рис. 1).

Рассчитанные коэффициенты корреляции Спирмена между уровнем гомозиготности и показате-

Таблица 2. Распределение кобыл чистокровной верховой породы по коэффициенту инбридинга, выходу жеребят и среднему числу плодовых лет

Коэффициент инбридинга	N	Выход жеребят (%)		Среднее число плодовых лет	
		M	$\pm m$	M	$\pm m$
0	1361	63,88	0,61	7,79	0,11
0,1–1,0	1341	64,39	0,61	7,20	0,11
1,1–2,0	527	64,80	1,00	6,84	0,17
2,1–3,0	155	64,67	1,86	6,59	0,32
3,1–4,0	192	62,58	1,63	7,54	0,30
4,1 и более	86	65,85	2,92	6,26	0,44
Всего	3662	64,21	0,37	7,34	0,07

Таблица 3. Распределение кобыл чистокровной верховой породы по степени гомозиготности и уровню инбридинга

Степень гомозиготности (%)	Уровень инбридинга по Райту (в%)						Всего
	0	0,1–1,0	1,1–2,0	2,1–3,0	3,1–4,0	4,1 и более	
0,0	8	16	8	2	—	—	34
0,1–6,25	8	2	3	—	—	—	13
6,26–12,5	66	63	22	10	3	2	166
12,6–18,75	138	171	66	15	21	13	424
18,76–25,27	248	222	83	29	36	6	624
25,28–31,52	302	277	118	29	42	18	786
31,53–37,77	97	130	51	22	20	10	330
37,78–44,02	238	207	78	16	24	16	579
44,03–50,27	161	153	54	17	27	12	424
50,28–56,52	63	68	29	7	10	3	180
56,53–62,77	26	24	8	5	5	3	71
62,78–69,02	2	3	3	2	2	2	14
69,03–75,27	3	4	2	1	2	1	13
75,28–76,92	1	1	2	—	—	—	4
Итого	1361	1341	527	155	192	86	3662
В %	37,17	36,62	14,39	4,23	5,24	2,35	100

лями выхода жеребят и числом плодовых лет оказались отрицательными ($R = -0,010$ и $-0,004$, соответственно) и недостоверными ($P > 0,05$). Взаимосвязь между коэффициентом инбридинга и продолжительностью плодовой деятельности оказалась более сложной: уровень инбридинга практически не влиял на выход жеребят ($R = 0,010$ при $P > 0,05$), но отрицательно коррелировал с числом плодовых лет ($R = -0,092$ при $P < 0,05$) (Рис.2). Ассоциация

между инбридингом и степенью гомозиготности STR-локусов оказалась положительной, но незначительной по величине ($R = 0,019$ при $P > 0,05$).

Коэффициент детерминации степени гомозиготности по отношению к выходу жеребят составил всего 0,44 ($F = 1,23$ $p = 0,246$), фактор инбридинга демонстрировал еще меньшее и недостоверное влияние на этот показатель (0,06; $F = 0,446$ $p = 0,816$). Зато оба этих фактора оказывали небольшое, но

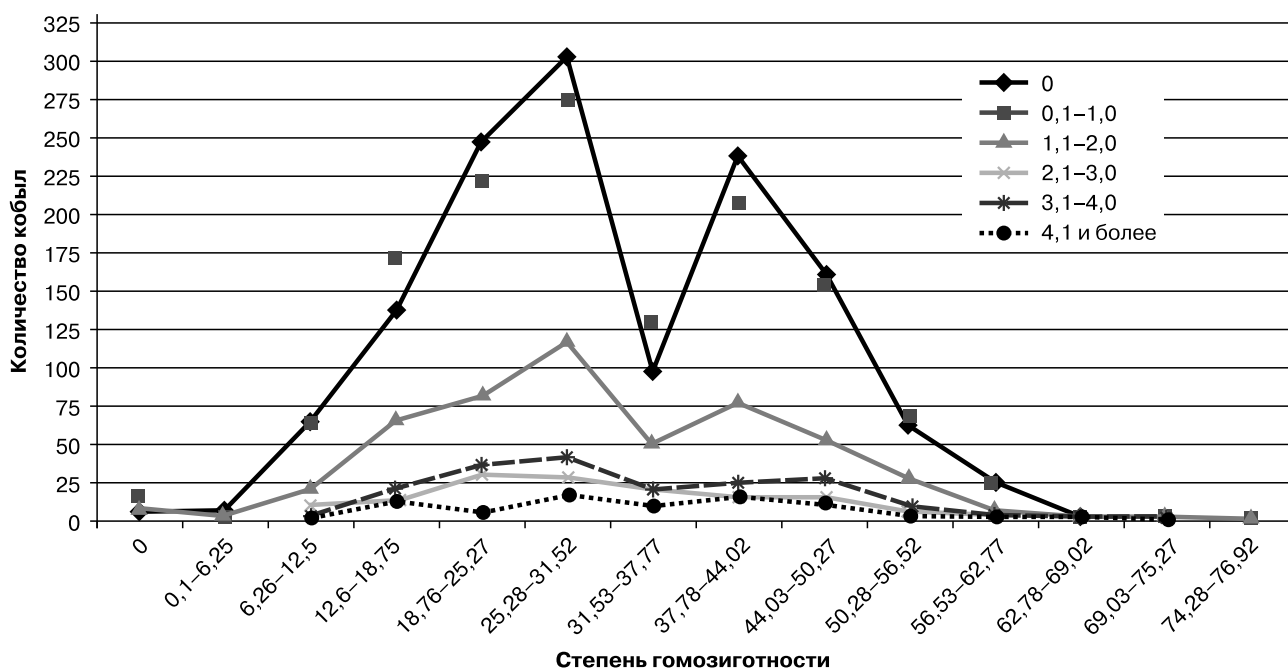


Рис. 1. Распределение кобыл чистокровной верховой породы по уровню инбридинга и степени гомозиготности STR-локусов

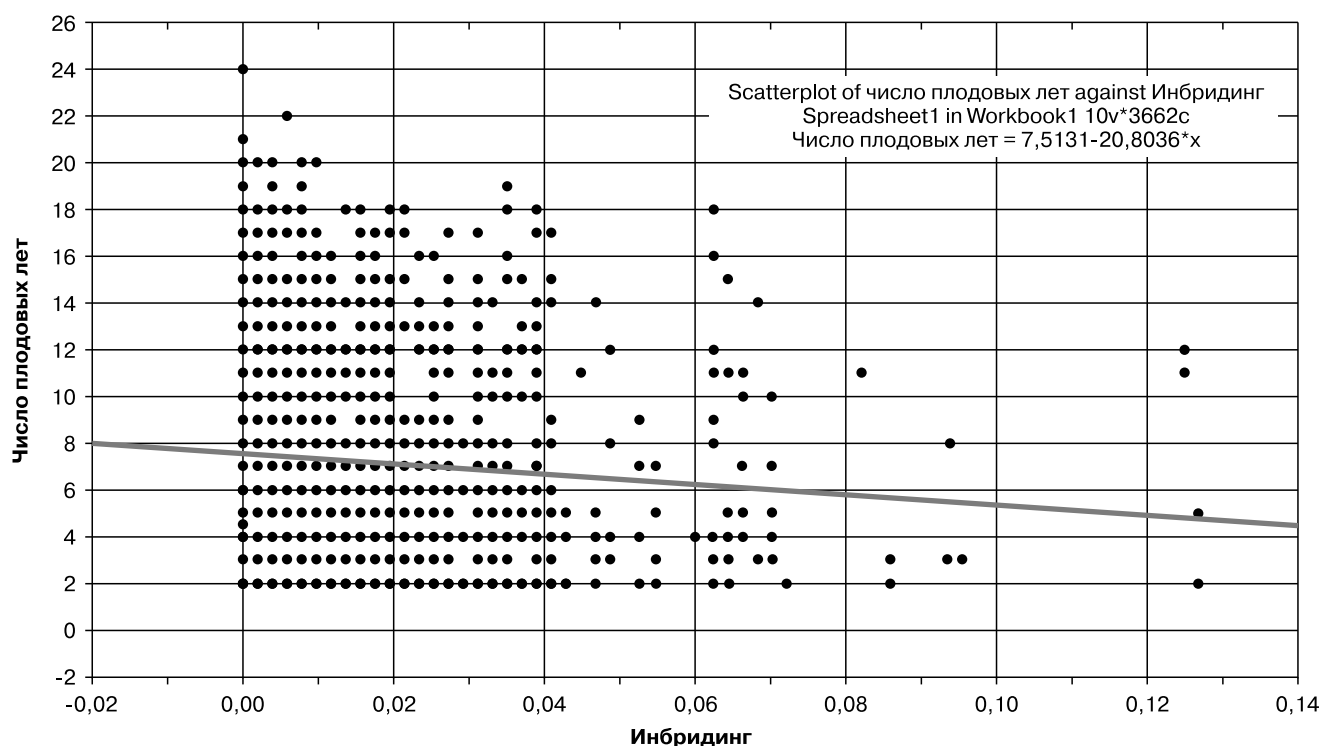


Рис. 2. Распределение кобыл по числу плодовых лет и степени инбридинга

достоверное влияние на число плодовых лет кобыл чистокровной верховой породы: коэффициент детерминации инбридинга составил 1,022% ($F=7,551$ $p<0,001$), степень гомозиготности STR-локусов — 2,340% ($F=6,723$ $p<0,001$).

Выводы. У кобыл чистокровной верховой породы наибольший показатель выхода жеребят 75,92% имели матки с гомозиготностью 62,78–69,02%. В группе инбредных кобыл с коэффициентом инбридинга 4,1% и более с заводским использованием в среднем 6,26 плодовых лет наблюдался максимальный выход жеребят 65,85%.

Минимальные показатели воспроизводства были отмечены при уровне инбридинга 3,1–4,0%. Уровень инбридинга практически не влиял на выход жеребят ($R=0,010$ при $P>0,05$), но отрицательно коррелировал с числом плодовых лет ($R=-0,092$ при $P<0,05$).

Для повышения показателей воспроизводства кобыл в популяциях необходимо поддерживать определенный уровень генетического разнообразия. Именно показатели воспроизводства определяют эффективность племенной работы и себестоимость продукции животноводства.

Исследования проводились при поддержке Российского научного фонда (проект №19-7620058).

Литература

1. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях / Ю. П. Алтухов. — 3-е изд. — М.: Академкнига, 2003. — 431 с.
2. Левонтин Р. Генетические основы эволюции [Текст] / Р. Левонтин. — М.: Мир, 1978. — 351 с.
3. Храброва Л. А. Инбридинг и степень гомозиготности микросателлитных локусов у лошадей орловской рысистой породы / Л. А. Храброва, Н. В. Блохина, А. В. Устьянцева // С.-х. биология. — 2014. — № 4. — С. 35–41.
4. Эрнст Л. К. Биологические проблемы животноводства в XXI веке / Л. К. Эрнст, Н. А. Зиновьева. — М., 2008. — 508 с.
5. Храброва Л. А. Воспроизводительные качества и работоспособность чистокровных верховых лошадей в зависимости от гомозиготности по STR-локусам / Л. А. Храброва, Н. В. Блохина, А. В. Устьянцева // Научное обеспечение инновационного развития животноводства: Сб. науч. тр. По мат. науч.-практ. конф. 24–25 октября 2013. — Жодино. — 2013. — С. 185–187.
6. Kalashnikov V. Dynamics of the inbreeding coefficient and homozygosity in thoroughbred horses in Russia / V. Kalashnikov, L. Khrabrova, N. Blohina, A. Zaitcev, T. Kalashnikova // Animals. — 2020. — № 10(7). — P. 1–10, 1217.
7. Кривенцов Ю. М. Роль систем групп крови в селекции крупного рогатого скота / Ю. М. Кривенцов и др. // Зоотехния. — 2006. — № 8. — С. 9–11.
8. Марзанов Н. С. Генетическое маркирование, сохранение биоразнообразия и проблемы разведения животных / Н. С. Марзанов, Д. А. Девришов, С. Н. Марзанова, Е. А. Комкова, М. Ю. Озеров, Ю. Кантанен // Сельскохозяйственная биология. — 2011. — Т. 46. — № 2. — С. 3–14.
9. Матюков В. С. Об адаптивной внутрипопуляционной дифференциации холмогорской породы крупного рогатого скота / В. С. Матюков // С.-х. биология. — 2007. — № 6. — С. 24–34.
10. Храброва Л. А. Влияние инбридинга на степень гомозиготности чистокровных верховых лошадей по локусам микросателлитов ДНК / Л. А. Храброва // Коневодство и конный спорт. — 2010. — № 5. — С. 7–8.
11. Hamann H. A Polymorphism within the equine CRISP3 gene is associated with stallion fertility in Hanoverian warm blood horses / H. Hamann et al. // Animal Genetics. — 2007. — Vol. 38. — № 3. — P. 259–264.
12. Klukowska-Rotzler J. Characterization and RH mapping of six gene-associated equine microsatellite markers / J. Klukowska-Rotzler, U. Jost, C. Schelling et al. // Animal Genetics. — 2006. — Vol. 37. — № 3. — P. 305–307.

Blohina N., Ustiantceva A.

Influence of the degree of homozygosity of STR-loci on the fertility of thoroughbred horses

Abstract.

Purpose: to study the effect of the level of homozygosity and inbreeding on the fecundity of thoroughbred mares.

Materials and methods. A total of 3662 heads of breeding sows from leading stud farms of the Russian Federation were selected for the analysis. The influence of the homozygosity level on 17 microsatellite DNA loci on the main indices of reproduction of thoroughbred mares, such as the safe yield of foals and the number of fetal years, was analyzed in the article. All mares in the experimental sample had at least three years of breeding use. Individual fecundity rates and the number of homozygous loci in the STR profile were calculated for each horse.

Results. The highest live foal yields (75.92%) had sows with homozygosity levels of 62.78–69.02%, and the lowest foal yields (45.73%) were recorded in mares with the highest homozygosity levels (75.28–76.92%). The maximum foal yield (65.85%) was determined in sows with an inbreeding rate of 4.1% or more, with a productive longevity of 6.26 fetal years on average. Analysis of the data showed that the level of inbreeding had almost no effect on the yield of live foals ($R=0.010$ at $P>0.05$), but had a negative correlation with the number of fruiting years ($R=-0.092$ at $P<0.005$).

Conclusion. Estimation of homozygosity level of thoroughbred horses is especially relevant, as this breed has been perfected by purebred breeding method only for more than thirty years. In the thoroughbred horse breed, it is necessary to create a system of maintaining heterozygosity as well as the diversity of genotypes through the organization of breeding work.

Key words: homozygosity; horse; DNA microsatellites; fertility; Thoroughbred horse breed.

Authors:

Blohin N. — PhD (Agr. Sci.); e-mail: nbloh16@yandex.ru;

Ustiantseva A. — PhD (Agr. Sci.); e-mail: ustavanna@yandex.ru.

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

References

- Altukhukh Yu. P. Genetic processes in populations / Yu. P. Altukhov. — 3rd ed. — M.: Akademkniga, 2003. — 431 p.
- Levontin R. Genetic foundations of evolution [Text] / R. Levonantin. — M.: Mir, 1978. — 351 p.
- Harbor L. A. Inbreeding and the degree of homozygosity of microsatellite loci in the horses of the Orlovskiy Rystone / L. A. Khrova, N. V. Blokhina, A. V. Ustiantseva // S.-H. biology. — 2014. — № 4. — P. 35–41.
- Ernst L. K. Biological problems of animal husbandry in the XXI century / L. K. Ernst, N. A. Zinoviev. — M., 2008. — 508 p.
- Harborova L. A. Reproductive qualities and performance of purebred riding horses depending on the homozygosity of STR-Lokusami / L. A. Khrabrov, N. V. Blokhina, A. V. Ustiantseva // Scientific support of innovative development of animal husbandry: Sat. Scientific Tr. By mat. Screenshots. Con 24–25 October 2013. — Zhodino. — 2013. — P. 185–187.
- Kalashnikov V. Dynamics of the Inbreeding Coefficient and Homozygosity in Thoroughbred Horses in Russia / V. Kalashnikov, L. Khrabrova, N. Blohin, A. Zaitcev, T. Kalashnikova // Animals. — 2020. — № 10(7). — P. 1–10, 1217.
- Krivantsov Yu. M. The role of blood group systems in the selection of cattle / Yu. M. Krivantsy, etc. // Zootechnia. — 2006. — № 8. — P. 9–11.
- Marzanov N. S. Genetic labeling, preservation of biodiversity and problems of animal breeding / N. S. Marzanov, D. A. Devrisov, S. N. Marzanova, E. A. Komkova, M. Yu. Ozers, Y. Kantan // Agricultural Biology. — 2011. — V. 46. — № 2. — P. 3–14.
- Matyukov V. S. On the adaptive intraopopulation differentiation of the Kholmogorsk breed of cattle / V. S. Matyukov // S.-H. biology. — 2007. — № 6. — P. 24–34.
- Harborova L. A. Effect of inbreeding on the degree of homozygosity of purebred riding horses on the locus of microsatellites DNA / L. A. Khrabrova // Sovereign and equestrian sport. — 2010. — № 5. — P. 7–8.
- Hamann H. A Polymorphism within the equine CRISP3 gene is associated with stallion fertility in Hanoverian warm blood horses / H. Hamann et al. // Animal Genetics. — 2007. — Vol. 38. — № 3. — P. 259–264.
- Klukowska-Rotzler J. Characterization and RH mapping of six gene-associated equine microsatellite markers / J. Klukowska-Rotzler, U. Jost, C. Schelling et al. // Animal Genetics. — 2006. — Vol. 37. — № 3. — P. 305–307.