

## Молекулярная генетика

Рубрика

doi.org/10.31043/2410-2733-2023-4-73-79  
УДК 636.1:575.174(571.56)И. В. Алферов<sup>1</sup>, Р. В. Иванов<sup>1</sup>, Е. С. Слепцов<sup>1</sup>, И. Е. Винокуров<sup>1</sup>, П. Н. Федорова<sup>2</sup>, М. С. Саввинова<sup>2</sup>**Генетическое разнообразие лошадей момской популяции: анализ с использованием микросателлитных маркеров****Аннотация.**

В данной статье исследовано генетическое разнообразие лошадей момской популяции с использованием микросателлитных маркеров. Анализ показал, что средний уровень полиморфности локуса составил 3,384 единицы, в то время как локус АНТ4 оказался наиболее полиморфным, при этом различные локусы имели разное количество эффективно действующих аллелей. Наблюдалось превышение общего числа аллелей над числом эффективно действующих аллелей более чем в 1,5 раза, указывая на значительную генетическую изменчивость в популяции момских лошадей. Исследование подтвердило значительную вариацию гетерозиготности как на уровне всей выборки, так и для отдельных локусов. Определенные локусы выделялись недостатком гетерозигот, в то время как другие отражали преобладание наблюдаемой гетерозиготности над ожидаемой. Локус LEX3 имел наименьший уровень наблюдаемой гетерозиготности (0,312), в то время как локус АНТ4 демонстрировал максимальный уровень (0,844) ожидаемой гетерозиготности. Анализ данных также позволил определить равновесие распределения гетерозигот. Пять локусов – HMS1, CA425, HTG6, VHL20, ASB17 – имели близкое к равновесному распределение гетерозигот, в то время как семь локусов отличались недостатком гетерозигот. Самый выраженный недостаток гетерозигот наблюдался в локусе LEX3. Остальные локусы демонстрировали разную степень преобладания наблюдаемой гетерозиготности над ожидаемой. Подчеркивается важность генетического разнообразия в популяциях лошадей, особенно в контексте племенной работы. Поддержание определенного уровня генетического разнообразия играет важную роль в адаптации популяции к изменяющимся условиям окружающей среды и обеспечивает выживание в долгосрочной перспективе.

**Ключевые слова:** лошади, якутская порода, ДНК-маркеры, индигирский тип, момская популяция, полиморфность, Момский улус.

**Авторы:**

**Алферов И. В.** – кандидат сельскохозяйственных наук; e-mail: conevoids@mail.ru;

**Иванов Р. В.** – доктор сельскохозяйственных наук; e-mail: conevoids@mail.ru;

**Слепцов Е. С.** – доктор ветеринарных наук; e-mail: evgeniyemenovic@mail.ru;

**Винокуров И. Е.** – кандидат ветеринарных наук; e-mail: conevoids@mail.ru

**Федорова П. Н.** – кандидат биологических наук; e-mail: conevoids@mail.ru;

**Саввинова М. С.** – доктор ветеринарных наук, профессор.

<sup>1</sup> ФИЦ «Якутский научный центр Сибирского отделения РАН» – Якутский НИИ сельского хозяйства имени М. Г. Сафронова; 677001, Россия, г. Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, д. 23, корпус 1,

<sup>2</sup> Арктический государственный агротехнологический университет; 677007, Россия, г. Якутск, ш. Сергеляхское 3 км, д. 3.

**Введение.** Изучение генетики животных, включая аборигенные породы, является важным направлением научных исследований, поскольку это может предоставить ценную информацию о древних популяциях. Одной из таких пород является якутская лошадь, которая привлекает большой интерес ученых для изучения ее генетической информации.

В опубликованном исследовании впервые было проведено полногеномное генотипирование четырех популяций якутских лошадей. Была

выявлена наиболее близкая по генетическим характеристикам к предковой форме абыйская популяция [1].

Якутская порода является уникальной породой северных табунных лошадей, которая адаптировалась к условиям Сибири. Характеризуется невероятной выносливостью в экстремальных климатических условиях. Якутская порода лошадей сформировалась в процессе естественного отбора и адаптации к экстремальным условиям жизни в Северо-Восточной Азии. Изначально животные,

приспосабливаясь к суровым климатическим условиям и недостатку корма, развили ряд физиологических и поведенческих адаптаций, которые обеспечили выживание в этих условиях. В результате эволюционного процесса выработалась уникальная порода лошадей, обладающая высокой устойчивостью к низким температурам и способностью выживать в условиях ограниченного доступа к корму и воде. Эти особенности привели к формированию якутской породы лошадей [2-4].

С течением времени практика разведения табунных лошадей на огромных пространствах пастбищ стала важной составляющей культуры местных жителей Якутии в Арктике. Интересно отметить, что для обеспечения кормом в условиях экстремального климата и недостатка растительности, якутские лошади используют свои копыта для откапывания растений из-под снега и тем самым пополняют свои кормовые запасы. Этот уникальный способ получения пищи является ярким примером адаптации к суровым условиям окружающей среды, который содействовал выживанию и процветанию якутской породы лошадей в условиях, где другие домашние животные не могут выжить [5].

В течение значительного времени в Арктике Якутии (Момский улус) сохраняется популяция аборигенных лошадей момской популяции индигирского типа якутской породы, представляющих собой уникальное явление в силу длительного отсутствия скрещивания с другими породами. Разведение указанных лошадей в условиях Крайнего Севера представляет интерес с учетом долгой и сложной истории их существования в суровых условиях, где существование других пород лошадей было бы невозможным [6].

Эволюционный путь момских лошадей тесно связан с длительным процессом естественного отбора, происходящим в условиях ограниченности пищевых ресурсов и неблагоприятного климата [7]. В результате этого процесса формируются адаптивные признаки, которые обеспечивают не только выживаемость, но и способность давать жизнеспособное потомство в суровых условиях Арктики Якутии. Генетическое разнообразие, существующее между индивидуумами внутри данной популяции, может оказаться определяющим фактором в процессе приспособления к изменениям в окружающей среде. Генетическое разнообразие может позволить популяции лошадей успешно адаптироваться к меняющимся условиям окружающей среды, что в конечном итоге может иметь решающее значение для их выживания и адаптации.

До настоящего времени отсутствуют какие-либо систематические исследования момских лошадей, включающие в себя измерение анатомических параметров, веса, оценку линейных параметров тела, а также генетических исследований. Аборигенные лошади Момского улуса представляют собой значительный и малоисследованный репозиторий генетической информации, который имеет потенциал для выявления причин высокой адаптивности лошадей к суровым условиям Крайнего Севера и может быть использован в улучшении уже существующих типов и пород якутских лошадей. Эти животные представляют большой интерес с научной и прикладной точек зрения, поскольку являются одними из наиболее адаптированных к экстремальным условиям Арктики видов домашних животных [6, 7].

В связи с этим, в данной статье мы предоставляем первые результаты исследования генетической структуры момской популяции лошадей индигирского типа якутской породы по микросателлитным локусам. Представленные результаты могут сыграть важную роль в последующем планировании и сохранении генетического разнообразия данного типа.

#### **Материалы и методы.**

**Генотипирование лошадей.** В лаборатории ВНИИ коневодства выделение ДНК из волосных луковиц осуществлялось с использованием реагентов «ExtraGene DNA Prep 200». Амплификация полученной ДНК проводилась с применением 17-плексного набора для генотипирования лошадей отечественного производства — Equine-STR, оптимизированного для работы на автоматизированном лабораторном оборудовании. Амплификацию осуществляли на ДНК-амплификаторе Thermocycler. После сбора данных электрофореза с помощью программы GeneMarker™ V.4 рассчитывались 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. Для обозначения аллелей применялся международный алфавитный код.

**Статистическая обработка результатов.** Генетический анализ популяций лошадей по микросателлитным локусам проводили с использованием статистических параметров [8]:

Частоты встречаемости генотипов изученных локусов микросателлитов ДНК рассчитывались по формуле [8]:

$P_{AA} = n_{AA} / N$ , где  $n_{AA}$  - число животных с генотипом AA.

Частоты аллелей определяли, исходя из встречаемости отдельных аллелей (7):

$p_A = 2n_{AA} + n_{AB} + n_{AC} + \dots / 2N$ , где  $2n_{AA}$  — удвоенное количество гомозигот,  $n_{AB}$ ,  $n_{AC}$  — количество гетерозигот,  $2N$  — удвоенное количество животных в выборке.

Средняя гетерозиготность особи (наблюдаемая гетерозиготность) по исследованным локусам вычислялась по М. Нею (1975) [9, 10]:

$$H = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n h_i$$

где  $h_i$  — количество гетерозигот на объем выборки, усредненное по всем исследованным локусам.

Ожидаемая гетерозиготность вычислялась по формуле  $H_e = 1 - C_a$ , где  $C_a$  - коэффициент гомозиготности, рассчитанный по формуле, предложенной А. Робертсоном [11]:

$$C_a = \sum p_i^2,$$

где  $p_i^2$  — квадраты частот аллелей локуса;

Индекс фиксации (Fis), количественно отражающий отклонение частот встречаемости гетерозиготных генотипов от теоретически ожидаемой по Харди-Вайнбергу:

$Fis = 1 - (H_o / H_e)$ , где  $H_o$  — наблюдаемая гетерозиготность,  $H_e$  — ожидаемая гетерозиготность.

Эффективное число аллелей (уровень полиморфности) ( $A_e$ ) и число аллелей в локусе ( $C_a$ ):

$$A_e = 1 / C_a.$$

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием программного обеспечения Excel. Цифровой материал результатов исследований обработан биометрическим методом вариационной статистики по Е. К. Меркурьевой (1970) [8].

**Результаты и обсуждение.** Средний показатель уровня полиморфности локуса для лошадей момской популяции составил 3,384 единицы. Минимальным значением числа эффективно действующих аллелей отличался локус HTG4 — 1.605. Максимальным уровнем полиморфности выделялся локус AHT4. В исследованной нами выборке в среднем один локус включал 6 аллелей, причем эта величина варьировала от 4 (HTG7, HMS1) до 9 (ASB2). Таким образом, число выявленных аллелей более чем в 1,5 раза превышает показатель числа эффективно действующих аллелей. Подобные исследования и результаты были установлены Зайцевой М. А. при исследовании лошадей якутской породы

центральных улусов республики [12]. Графическое отображение зависимости показателей уровня полиморфности и среднего на локус числа аллелей приведено на рисунке 1. В исследованной выборке в среднем один локус включал 6 аллелей, причем эта величина варьировала от 4 (HMS7) до 8 (ASB17, CA425).

Как видно из представленного графика, отношение уровня полиморфности к среднему числу аллелей в целом характеризует равномерность распространения аллелей. По отношению приведенных показателей выявлен средний для выборки из 17 микросателлитов показатель — 56,4 % эффективно действующих аллелей от числа всех аллелей в локусе. Ниже среднего этот показатель для восьми локусов — ASB17, ASB23, CA425, HMS1, HTG10, HTG4, HTG6 и LEX3, причем самым низким значением отношения отличался локус HTG4 — только 26,75 %. Девять локусов демонстрировали отношение показателя  $A_e$  к среднему числу аллелей на локус выше среднего уровня. Эти локусы отличаются более равномерным аллельным распределением, максимальное значение показателя отношения отмечено для локуса HTG7 — 89,0 %.

При рассмотрении средних для 17 локусов микросателлитов показателей наблюдаемой (0,643) и ожидаемой (0,678) гетерозиготности обнаружено, что они практически одинаковы. Однако при рассмотрении отдельных локусов

Таблица 1. Аллели идентифицированные у лошадей момской популяции (n=32)

№	Маркер	Аллели
1	AHT4	O**, P*, M, I, H**, K, L
2	AHT5	K**, O**, N, J, L, M*
3	ASB17	L, N**, R**, I, D*, K, P*, O*
4	ASB2	N**, K, O, I, P*, M
5	ASB23	J, U**, K, L, S*
6	CA425	I, N**, G*, J, R*, M, F*, K*
7	HMS1	J**, M**, K, I, O, L*
8	HMS2	H**, K**, I, R*, L
9	HMS3	P**, R**, O*, M, Q*, I*
10	HMS6	M**, P**, K, O, Q*
11	HMS7	O**, L**, N, Q*
12	HTG10	O**, R, K, L, Q*, I*
13	HTG4	L, M**, P, K*, Q*, O*
14	HTG6	M**, P*, O**, G, J*, I*
15	HTG7	M**, N**, K, O
16	LEX 3	H, L, M**, F*, O*, Q*, N*
17	VHL 20	O**, R*, I, N*, P**, M, Q

Примечание: \*отмечены редкие аллели с частотой встречаемости менее 0,05; \*\*отмечены аллели с частотой встречаемости более 0,20

**Таблица 2. Характеристика полиморфизма локусов микросателлитов ДНК у лошадей момской популяции**

Микросателлитный локус	Ae	He	Ho	Fis	NV
АНТ4	5,076	0,803	0,844	-0,51	7
АНТ5	4,399	0,772	0,531	0,31	6
ASB17	4,943	0,797	0,812	-0,019	8
ASB2	4,246	0,764	0,812	-0,62	6
ASB23	2,6	0,616	0,5	0,18	5
CA425	2,507	0,601	0,593	0,014	8
HMS1	3,287	0,695	0,562	0,19	6
HMS2	3,794	0,736	0,812	0,1	5
HMS3	2,937	0,659	0,718	-0,89	6
HMS6	4,24	0,764	0,781	-0,22	5
HMS7	2,624	0,619	0,531	0,14	4
HTG10	2,274	0,56	0,531	0,052	6
HTG4	1,605	0,377	0,406	-0,76	6
HTG6	2,265	0,651	0,625	0,04	6
HTG7	3,561	0,719	0,781	-0,86	4
LEX 3	2,648	0,622	0,312	0,5	7
VHL 20	4,524	0,779	0,781	-0,002	7
В среднем на локус	3,384	0,678	0,643	0,035	6

Примечание: Ae – количество эффективных аллелей; He – ожидаемая гетерозиготность; Ho – наблюдаемая гетерозиготность; Fis – индекс фиксации; NV – количество выявленных аллелей.

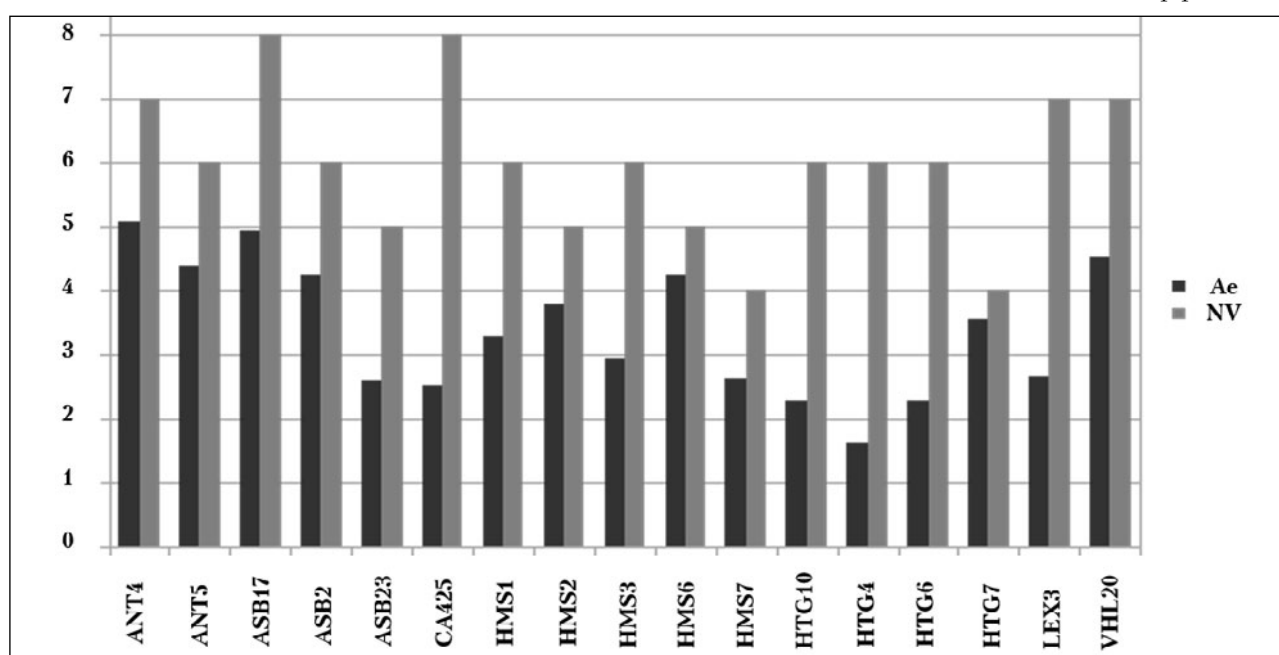
выявлены значительные вариации этого показателя. Наименьший уровень наблюдаемой гетерозиготности (0,312) обнаружен в локусе LEX3, максимальный (0,844) – в локусе АНТ4.

В отношении значений ожидаемого уровня гетерозиготности максимум характеризовался локус АНТ4 (0,803), а минимальным значением – локус HTG4 (0,377).

На диаграмме, представленной на рисунке 2, даны значения наблюдаемого и ожидаемого уровня гетерозиготности, а также индекса фиксации.

Анализ данных диаграммы показал, что из 17 изученных локусов, пять – HMS1, CA425, HTG6, VHL20, ASB17 – имеют близкое к равновесному распределение гетерозигот. Семь локусов – АНТ5, ASB23, HMS1, HMS2, HMS7, HTG10, LEX3 – отличаются от равновесного распределения в сторону недостатка гетерозигот. Наибольший разрыв был замечен у локуса LEX3, где показатель недостатка гетерозигот составил более 53% из-за его естественной гомозиготности у всех жеребцов и высокого уровня полиморфности. В остальных случаях наблюдалась различная степень преобладания наблюдаемой гетерозиготности над ожидаемой. Это объясняется тем, что селекционная работа в исследованном улусе не проводилась, и лошади имеют возможность свободного скрещивания между собой.

**Заключение.** Анализ генетического разнообразия момских лошадей показал, что средний уровень полиморфности локуса составляет 3,384 единицы. Уровень полиморфности различается в зависимости от конкретного локуса, причем локус HTG4 имеет минимальное значение эффективно



**Рис. 1.** Уровень полиморфности (Ae) и среднее число аллелей на локус (NV).

действующих аллелей, а локус АНТ4 выделяется максимальным уровнем полиморфности. Общее число аллелей превышает число эффективно действующих аллелей более чем в 1,5 раза.

В практике племенной работы с лошадьми необходимо учитывать генотипическую оценку по маркерным генам для повышения показателей воспроизводства лошадей в популяциях. Это включает поддержание определенного уровня ге-

нетического разнообразия, так как он играет важную роль в адаптации популяций к изменяющимся условиям окружающей среды. Чем больше генетическое разнообразие в популяции, тем больше вероятность наличия в ней особей с нужными свойствами для выживания в новых условиях. Поэтому сохранение генетического разнообразия важно для долгосрочного выживания популяции.

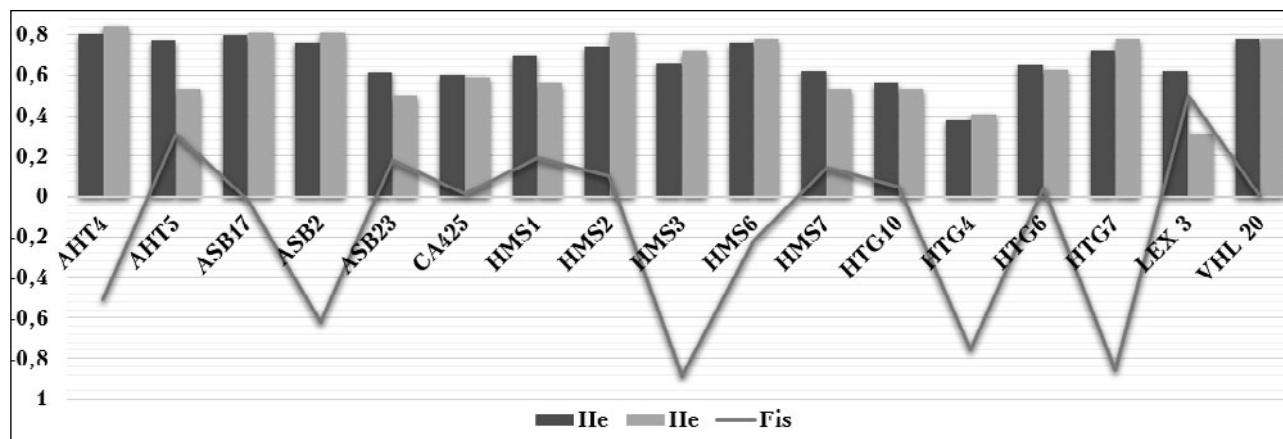


Рис. 2. Ожидаемая ( $H_e$ ) и наблюдаемая ( $H_o$ ) гетерозиготность и индекс фиксации ( $F_{is}$ ) по 17 изученным локусам.

### Литература

- Алексеев Н. Д. О происхождении якутской лошади / Н. Д. Алексеев // Наука и техника в Якутии. — 2007. — № 1(12). — С. 15-18.
- Винокуров И. Н. Традиционная культура народов Севера: продуктивное коневодство северо-востока Якутии. — Новосибирск, 2009.
- Абрамов А. Ф., Иванов Р. В., Алексеев Н. Д., Степанов К. М., Семенова А. А., Миронов С. М. Мясная продуктивность и качество мяса пород лошадей, разводимых в Якутии. — Якутск, 2013.
- Иванов Р. В. Происхождение лошадей якутской породы / Р. В. Иванов // Коневодство и конный спорт. — 2021. — № 1. — С. 28-30. DOI: 10.25727/HS.2021.1.62644.
- Алферов И. В. Лошадь Абыйской популяции / И. В. Алферов // Современные достижения и актуальные проблемы в коневодстве: Сборник докладов межд. научно-практической конференции, Дивово, 14 июня 2019 года. — Дивово: Всероссийский НИИ коневодства, 2019. — С. 320-321.
- Алферов И. В. Пути проникновения якутской лошади в Арктику Якутии / И. В. Алферов // Ип-пология и ветеринария. — 2020. — № 2(36). — С. 11-13.
- Меркурьева Е. К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных / Е. К. Меркурьева. — М.: Колос, 1970.
- Nei M. Genetic distance between populations / M. Nei // Amer. Naturalist. — 1972. — №106. — P. 723-765.
- Nei M. Mathematical models of speciation and genetic distance / M. Nei // Proc. Intern. Conf. Population Genetics and Ecology. — 1975. — P. 723-765.
- Дубровская Р. М. Методические рекомендации по использованию иммуногенетических маркеров для оценки изменений генетической структуры популяций (пород) лошадей / Р. М. Дубровская, И. М. Стародумов. — ВНИИК, 1995. — 34 с.
- Зайцева М. А. Первые результаты изучения генетической структуры лошадей якутской, мегежекской и приленской пород / М. А. Зайцева, А. М. Зайцев, В. Г. Осипов [и др.] // Наука и техника в Якутии. — 2014. — № 2(27). — С. 8-11.
- Сравнительная геномная характеристика приленской породы и трех внутривидовых структур якутской породы - коренного янского типов и абыйской популяции индигирского типа / Л. В. Калинкова, В. В. Калашников, А. М. Зайцев [и др.] // Коневодство и конный спорт. — 2023. — № 2. — С. 20-22. DOI: 10.25727/HS.2023.2.60009.

Alferov I.<sup>1</sup>, Ivanov R.<sup>1</sup>, Slepsov E.<sup>1</sup>, Vinokurov I.<sup>1</sup>, Fedorova P.<sup>2</sup>, Savvinova M.<sup>2</sup>

## Genetic diversity of momsky horse population: analysis using microsatellite markers

### Abstract.

*This article examines the genetic diversity of Momsky horses using seventeen microsatellite markers. The analysis revealed that the average locus polymorphism level was 3.384 units, while the AHT4 locus showed the highest polymorphism. Different loci had varying numbers of effectively acting alleles. There was an excess of total alleles over the number of effectively acting alleles by more than 1.5 times, indicating significant genetic variability in the population of Momsky horses. The study confirmed significant heterozygosity variation at both the overall sample level and for individual loci. Certain loci exhibited a deficiency of heterozygotes, while others demonstrated a predominance of observed heterozygosity over expected heterozygosity. The LEX3 locus had the lowest level of observed heterozygosity (0.312), while the AHT4 locus showed the highest level (0.844) of expected heterozygosity. Data analysis also enabled the determination of the equilibrium distribution of heterozygotes. Five loci - HMS1, CA425, HTG6, VHL20, ASB17 - had a distribution of heterozygotes close to equilibrium, while seven loci displayed a deficiency of heterozygotes. The most pronounced deficiency of heterozygotes was observed in the LEX3 locus. The remaining loci showed varying degrees of dominance of observed heterozygosity over expected heterozygosity. The importance of genetic diversity in horse populations is emphasized, particularly in the context of breeding programs. Maintaining a certain level of genetic diversity plays a crucial role in population adaptation to changing environmental conditions and ensures long-term survival.*

**Key words:** Momsky horses, microsatellite markers, polymorphism, allelic distribution, heterozygosity, polymorphism.

### Authors:

**Alferov I.** – PhD (Agr. Sci.); e-mail: conevods@mail.ru;

**Ivanov R.** – Dr. Habil. (Agr. Sci.); e-mail: conevods@mail.ru;

**Slepsov E.** – Dr. Habil. (Vet. Sci.);

**Vinokurov I.** – PhD (Vet. Sci.);

**Fedorova P.** – PhD (Biol. Sci.);

**Savvinova M.** – Dr. Habil. (Vet. Sci.), professor.

<sup>1</sup> FRC "Yakut Scientific Center of the Siberian Branch of the RAS" - Yakut Research Institute of Agriculture named after M. G. Safronov; 677001, Russia, Yakutsk, st. Bestuzhev-Marlinskogo, 23, building 1,

<sup>2</sup> Arctic State Agrotechnological University; 677007, Russia, Yakutsk, sh. Sergelyakhskoye 3 km, no. 3.

### References

1. Alekseev N. D. On the origin of the Yakut horse / N. D. Alekseev // Science and technology in Yakutia. – 2007. – № 1(12). – P. 15-18.
2. Vinokurov I. N. Traditional culture of the peoples of the North: productive horse breeding of the north-east of Yakutia. – Novosibirsk, 2009.
3. Abramov A. F., Ivanov R. V., Alekseev N. D., Stepanov K. M., Semenova A. A., Mironov S. M. Meat productivity and meat quality of horse breeds bred in Yakutia. – Yakutsk, 2013.
4. Ivanov R. V. Origin of horses of the Yakut breed / R.V. Ivanov // Horse breeding and equestrian sport. – 2021. – № 1. – P. 28-30. DOI: 10.25727/HS.2021.1.62644.
5. Alferov I. V. Horse of the Aby population / I.V. Alferov // Modern achievements and current problems in horse breeding: Collection of reports of the international. scientific and practical conference, Divovo, June 14, 2019. – Divovo: All-Russian Research Institute of Horse Breeding, 2019. – P. 320-321.
6. Alferov I. V. Ways of penetration of the Yakut horse into the Arctic of Yakutia / I. V. Alferov // Hippology and veterinary medicine. – 2020. – № 2(36). – P. 11-13.
7. Merkuryeva E.K. Biometrics in the selection and genetics of agricultural animals / E. K. Merkuryeva. – M.: Kolos, 1970.
8. Nei M. Genetic distance between populations / M. Nei // Amer. Naturalist. – 1972. – №106. – P. 723-765.

9. Nei M. Mathematical models of speciation and genetic distance / M. Nei // Proc. Intern. Conf. Population Genetics and Ecology. – 1975. – P. 723-765.
10. Dubrovskaya R. M. Methodological recommendations for the use of immunogenetic markers for assessing changes in the genetic structure of horse populations (breeds) / R. M. Dubrovskaya, I. M. Starodumov. – VNIIC, 1995. – 34 p.
11. Zaitseva M. A. First results of studying the genetic structure of horses of the Yakut, Megezhek and Prilensk breeds / M. A. Zaitseva, A. M. Zaitsev, V. G. Osipov [etc.] // Science and technology in Yakutia. – 2014. – № 2(27). – P. 8-11.
12. Comparative genomic characteristics of the Lena breed and three intra-breed structures of the Yakut breed - the indigenous Yan type and the Abyi population of the Indigir type / L. V. Kalinkova, V. V. Kalashnikov, A. M. Zaitsev [etc.] // Horse breeding and equestrian sport. – 2023. – № 2. – P. 20-22. DOI: 10.25727/HS.2023.2.60009.