

Н. Г. Рыжова, Д. В. Зюзин

Сравнительный анализ генетического полиморфизма белков крови у голштинской и симментальской пород крупного рогатого скота

Аннотация.

Цель: изучение генетического полиморфизма белков крови голштинской и симментальской пород крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Материалом для исследования служила кровь коров симментальской ($n=368$) и голштинской породы ($n=266$). Образцы крови исследовались методом верти-кального электрофореза в двухслойном полиакриламидном геле, где анализировали следующие полиморфные белки: трансферрин (Tf), посттрансферрин-1 и 2 (Ptfr-1 и 2), гемоглобин (Hb), амилазу (Am), каталазу (Kt), преальбумин (Pa).

Результаты. У симментальского скота сохраняется полиморфизм гемоглобинового локуса, тогда как у голштинского скота он остается мономорфным. Голштинская порода характеризуется высокой частотой аллеля Tf A и низкой частотой аллеля Tf E, а также отсутствием аллеля Am A по сравнению с симментальской породой. В исследованных популяциях скота наблюдается нарушение генетического равновесия по четырем локусам в симментальской породе (Tf, Kt, Pa, Am) и по двум локусам у голштинского скота (Ptfr-1 и Am) за счет избытка гомозиготных генотипов. Число эффективных аллелей на локус в изученных породах составило в среднем 1,79 (у голштинов) и 1,82 (у симменталов). Наивысшее значение числа эффективных аллелей наблюдалось по локусу трансферрина (3,00—3,03).

Ключевые слова: голштинская порода; симментальская порода; генотип; аллель; полиморфизм; частота встречаемости; генетическое сходство, белки крови.

Авторы:

Рыжова Н. Г. — кандидат биологических наук; e-mail: natagenplem@yandex.ru;

Зюзин Д. В. — аспирант; e-mail: dima.zyuzin.1996@mail.ru.

МГУ им. Н. П. Огарёва; 430005, Россия, Республика Мордовия, город Саранск, Большевицкая ул, д. 68.

Введение. Вопросы генетического мониторинга популяций сельскохозяйственных животных были сформулированы А. С. Серебровским еще в 1927 году. Он описал, как полиморфизм эритроцитарных антигенов расширил возможности объективной оценки эколого-генетических процессов в популяциях животных и способствовал научно обоснованному управлению селекционным процессом [1, 2].

Генетическая структура популяций крупного рогатого скота варьирует в зависимости от породного происхождения и ареала обитания. Классификация пород и отнесение животных к соответствующим генотипам играют ключевую роль в генетике и селекции. Эти знания необходимы для эффективного отбора и подбора животных [3]. В последние годы увлеченность многих ученых ДНК-анализом, отодвинула на второй план исследования биохимического полиморфизма. Однако белковый полиморфизм имеет свои преимущества, так как его исследование

проще и дешевле, поскольку каждый белок легко выделить и проанализировать его аллельные варианты в фенотипе [4].

Мониторинг генетической изменчивости в популяциях различных пород скота показывает значительную морфологическую вариативность, включая различия по экстерьеру и интерьеру. Данное разнообразие особенно заметно у локальных животных, так как индивидуальная изменчивость в этих популяциях очень высока [5].

Цель: изучение генетического полиморфизма белков крови голштинской и симментальской пород крупного рогатого скота.

Материалы и методы. Материалом для исследования служила кровь коров симментальской ($n=368$) и голштинской породы ($n=266$). Образцы крови исследовались методом вертикального электрофореза в двухслойном полиакриламидном геле, где анализировали следующие полиморфные белки: трансферрин (Tf), посттран-

Таблица 1. Частота встречаемости генотипов полиморфных белков у голштинской и симментальской пород ($M \pm m$)

Генотип	Голштинская порода		Симментальская порода	
	Частота генотипа, %	χ^2	Частота генотипа, %	χ^2
Hb				
AA	100,00 ***	0	79,35±2,110	0,002
AB	0	—	19,02±2,046***	0,031
BB	0	—	1,63±0,660	0,122
Сумма	—	0	—	0,155
Tf				
AA	8,27±1,689	0,036	4,89±1,124	3,482
AD ₁	13,91±2,122 ***	0,763	3,26±0,926	4,728
AD ₂	24,44±2,635 ***	0,279	11,41±1,658	0,091
AE	0,75±0,530	0,025	4,89±1,124 **	2,739
D ₁ D ₁	9,40±1,789	0,033	18,48±2,023 **	3,364
D ₁ D ₂	30,08±2,812	1,062	25,54±2,273	0,552
D ₁ E	0,38±0,375	0,159	3,80±0,997**	0,563
D ₂ D ₂	11,65±1,967	0,990	20,38±2,100**	0,291
D ₂ E	1,13±0,647	0,063	7,34±1,359***	0,039
Сумма	—	3,422	—	16,493***
Ptf-1				
FF	1,53±0,760	3,251	14,13±1,816***	0,897
FS	45,59±3,083	2,09	38,04±2,531	0,89
SS	52,87±3,090	0,336	47,83±2,604	0,221
Сумма	—	5,677*	—	2,007
Ptf-2				
FF	56,77±3,037 ***	0,14	32,34±2,438	0,185
FS	33,46±2,893	0,776	44,84±2,592**	0,448
SS	9,77±1,821	1,077	22,83±2,188***	0,271
Сумма	—	1,993	—	0,904
Am				
AB	0	—	0,54±0,383	0,005
BB	83,33±2,294	0,118	84,78±1,872	0,044
BC	12,50±2,035	2,035	11,96±1,691	0,949
CC	4,17±1,230	8,752	2,72±0,848	5,087
Сумма	—	10,905**	—	6,133**
Kt				
AA	26,25±2,734	0,981	53,27±3,411***	0,972
AB	35,91±2,981 *	1,552	26,64 ± 3,022	2,447
AC	4,63±1,306	0,157	3,27 ± 1,216	2,25
BB	27,03±2,759 ***	0,887	11,68 ± 2,196	3,185
BC	5,02±1,357	0,078	2,80 ± 1,128	0
CC	1,16±0,665	1,788	2,34 ± 1,033	14,519
Сумма	—	5,444	—	23,373***
Pa				
AA	38,35±2,981	0,414	60,05±2,553***	0,257
AB	53,76±3,057 ***	1,554	29,89±2,386	1,544
BB	7,89±1,653	1,457	10,05±1,568	2,316
Сумма	—	3,425	—	4,117*

Примечание: Здесь и далее: * – $P \leq 0,5$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$

сферрин-1 и 2 (Ptf-1 и 2), гемоглобин (Hb), амилазу (Am), каталазу (Kt), преальбумин (Pa) [6, 7]. Статистическая обработка данных осуществлялась в программе Excel 2010 по общепринятым методикам вариационной статистики [8].

Результаты и обсуждение. В результате генетического анализа популяций коров голштинской и симментальской пород были выявлены различия по частоте встречаемости генотипов (табл. 1) и аллелей (табл. 2) изученных полиморфных белков.

У голштинской породы крупного рогатого скота частота генотипа Hb AA составляет 100 %, тогда как у симментальской породы этот показатель равен 79,35 %. Аллель Hb B встречается в большинстве популяций европейского скота с низкой частотой, в то время как у голштинской породы данный аллель полностью элиминировал из популяции [9–14].

Что касается локуса Tf, у голштинского скота достоверно чаще встречаются гетерозиготные генотипы с аллелем Tf A и альтернативными аллелями Tf D — генотип Tf AD1 встречается в 4,3 раза, а генотип Tf AD2 в 2,1 раза чаще, чем у симментальского скота ($P \leq 0,01$).

Частота встречаемости аллеля Tf A у голштинской породы скота в 1,9 раза выше, чем у симментальского, тогда как аллеля Tf E в 7,3 раза ниже ($P \leq 0,001$). Кроме того, у симментальского скота частота встречаемости гетерозиготных генотипов с аллелем Tf E в 6,5–10,0 раз выше, чем у голштинов, что соответствует данным [15].

В локусе Ptf-1 у всех исследованных животных преобладают генотипы с аллелем Ptf-1 S без достоверной разницы между породами, однако частота встречаемости этого аллеля достоверно выше у голштинского скота. Альтернативный аллель Ptf-1 F соответственно достоверно чаще встречается в симментальской породе, особенно в гомозиготной форме — его частота встречаемости в 9,2 раза выше ($P \leq 0,001$), чем у голштинов.

По локусу Ptf-2 наблюдается обратная картина — преимущественно встречается аллель Ptf-2 F, причем, если у симментальского скота его преобладание над альтернативным аллелем незначительное, то у голштинов его частота почти в 3 раза выше, чем аллеля Ptf-2, что обусловлено в основном высокой частотой встречаемости гомозиготного генотипа Ptf-2 FF.

Наши исследования полиморфизма локуса амилазы у голштинского скота согласуются с работой [10] — в этой породе выявлены аллели Am B и Am C. В то же время, у симментальского скота наблюдается дополнительный аллель Am A, однако его частота очень низкая, на что также указано в работе [13]. Между исследо-

ванными породами достоверных различий по частоте встречаемости аллелей или генотипов по данному локусу не обнаружено, но в обеих породах значительно преобладают гомозиготные особи с аллелем Am B.

Локус каталазы представлен тремя аллелями, причем аллели Kt A и Kt B в исследованных породах встречаются значительно чаще, чем аллель Kt C. У голштинского скота аллели Kt A и Kt B встречаются примерно с одинаковой частотой, тогда как у симментальского скота частота встречаемости аллеля Kt A в 2,6 раза выше, чем аллеля Kt B и в 1,5 раза выше, чем у голштинов ($P \leq 0,001$).

У симментальской породы в локусе Pa в 3 раза чаще встречается аллель Pa A, чем альтернативный аллель Pa B и в 1,2 раза достоверно чаще ($P \leq 0,001$), чем у голштинского скота. Преобладание аллеля Pa A у симменталов обусловлено в основном гомозиготными генотипами, а у голштинов — гетерозиготными генотипами с этим аллелем.

Показатели частоты встречаемости генотипов полиморфных белков помогают рассчитать уровень гетерозиготности в популяции. Средний уровень гетерозиготности по всем изученным локусам в исследованных популяциях крупного рогатого скота существенно не отличался и составил величину 33,3–37,3 %, что явно недостаточно для поддержания генетического

Таблица 2. Частота встречаемости аллелей полиморфных белков у голштинской и симментальской пород ($M \pm m$)

Белок	Аллель	Порода	
		Голштинская	Симментальская
Hb	A	1,000***	0,889± 0,012
	B	0	0,111±0,012***
Tf	A	0,278±0,019***	0,147±0,013
	D ₁	0,316±0,020	0,348±0,018
	D ₂	0,395±0,021	0,425±0,018
	E	0,011±0,005	0,080±0,010***
Ptf-1	F	0,243±0,019	0,332±0,017***
	S	0,757±0,019***	0,668±0,017
Ptf-2	F	0,735±0,019***	0,548±0,018
	S	0,265±0,019	0,452±0,018***
Am	A	0	0,003±0,002
	B	0,896±0,013	0,910±0,011
	C	0,104±0,013	0,087±0,010
Kt	A	0,465±0,022	0,682±0,023***
	B	0,475±0,022***	0,264±0,021
	C	0,060±0,010	0,054±0,011
Pa	A	0,652±0,021	0,755±0,01***
	B	0,348±0,021***	0,245±0,011

разнообразия. Анализ частоты встречаемости наблюдаемых генотипов существенно отличался от ожидаемых значений по четырём локусам в симментальской породе (Tf ($\chi^2 = 16,493^{***}$), Kt ($\chi^2 = 23,373^{***}$), Pa ($\chi^2 = 4,117^*$), Am ($\chi^2 = 6,133^{**}$)) и по двум локусам у голштинского скота (Ptf-1 ($\chi^2 = 5,677^*$), Am ($\chi^2 = 10,905^{**}$)) за счет избытка гомозигот, что свидетельствует о нарушении генетического равновесия, обусловленного селекционным отбором, в который опосредованно вовлекаются изученные локусы полиморфных белков.

Число эффективных аллелей на локус в изученных породах составило в среднем 1,79 (у голштинов) и 1,82 (у симменталов). Наивысшее значение числа эффективных аллелей наблюдалось по локусу трансферрина (3,00–3,03). Другая мера информационного полиморфизма (PIC) у симментальского скота также была чуть выше (0,401), чем у голштинского (0,374), с преобладанием PIC по локусу трансферрина среди всех исследованных локусов (0,667–0,670).

Генетическую дифференциацию популяции можно охарактеризовать через два параметра: генетическое сходство (доля структурных генов, которые идентичны в обеих популяциях) и генетическое расстояние (среднее число замен аллелей в каждом локусе). Расчет индекса генетического сходства по формуле Майала-Линдстрема показал, что в среднем по всем изученным локу-

сам эти две популяции скота имеют очень высокий индекс сходства (0,972), однако по отдельным локусам это сходство ниже – по локусам Kt (0,845), Tf (0,855) и Pa (0,884).

Расчет генетической дистанции между исследованными породами по формуле Нея [7] показал, что за время раздельной эволюции этих популяций в каждом 100 локусах в среднем произошло 2,89 аллельных мутаций (замен) или 0,028 замен на один локус. Это свидетельствует о низком уровне генетической вариабельности между популяциями, что может указывать на более медленную скорость генетических изменений и большой родственной связи между породами. Однако данные результаты могут быть обусловлены небольшим числом исследованных локусов.

Закключение. Проведенные исследования полиморфизма белков крови двух популяций голштинского и симментальского скота показали высокий уровень генетического сходства между породами, однако животные симментальской породы сохраняют чуть более высокий уровень полиморфизма по изученным локусам. Кроме того, по отдельным локусам между породами наблюдались достоверные различия по частоте встречаемости аллелей и генотипов полиморфных белков. Эти результаты подчеркивают различия в полиморфизме и генетическом разнообразии между породами, что может быть полезно для селекционных программ.

Литература

1. Алтухов Ю.П. Полиморфизм ДНК в популяционной генетике / Ю. П. Алтухов, Е. А. Салменкова // Генетика. – 2002. – Т. 38. – № 9. – С. 1173–1195.
2. Герасимова Л. А. Иммуногенетические показатели базового генофонда скота популяции ОАО «Племзавод «Бородинский» / Л. А. Герасимова // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2014. – № 3. – С. 160–164.
3. Жебровский Л. И., Митюшко В. Е. Использование полиморфных белковых систем в селекции. – Л.: Колос, 1979. – 184 с.
4. Кадиев А. К. Популяционные исследования генетического полиморфизма трансферрина и гемоглобина некоторых пород крупного рогатого скота / А. К. Кадиев // Юг России: экология, развитие. – 2009. – № 2. – С. 87–91.
5. Машуров А. М. Генетические маркеры в селекции животных. – М.: Наука, 1980. – 315 с.
6. Меркурьева Е. К., Скрипниченко Г. Г., Симпсон В. К. Генетическая структура популяций скота по полиморфным системам в связи с методами разведения и селекцией // Материалы XVI международной конференции по генетике и биохимии полиморфных животных. – Т. II. – Ленинград, 1979. – С. 151–155.
7. Николов Г. Генетический полиморфизм серумных и эритроцитарных протеинов у болгарского родопского скота / Г. Николов, В. Николов, Д. Гаджев, И. Механджийски // Животновъдни науки. – 1997. – Приложение 34. – С. 216–219.
8. Серебровский А. С. Генетический анализ / А. С. Серебровский. – Москва : Наука, 1970. – 341 с.
9. Сорокин О. Д. Прикладная статистика на компьютере. – 2-е изд. – Новосибирск, 2012. – 282 с.
10. Столповский Ю. А. Популяционно-генетические основы сохранения генофондов домашних видов животных / Ю. А. Столповский // Вавиловский журнал генетики и селекции. – 2013. – Т. 17. – № 4/2. – С. 900–917.

11. Тарасюк С. И. Использование генетических маркеров при создании новых пород крупного рогатого скота / С. И. Тарасюк, В. И. Глазко // Доклады РАСХН. — 2002. — № 1. — С. 27–30.
12. Davis B. J. Disc electrophoresis. Method and application to human serum proteins / B. J. Davis // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 1964. — V. 121. — № 3. — P. 404–427.
13. Gahne B. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle / B. Gahne [et al.] // Animal Blood Groups and Biochemical Genetics. — 1977. — V. 8. — № 2. — P. 127–137.
14. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations / M. Nei // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1973. — Vol. 70. — № 12. — Part I. — P. 3321–3323.
15. Yang W. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity / W. Yang, X. Kang, Q. Yang et al. // J Animal Sci Biotechnol. — 2013. — V. 4. — № 2.

Ryzhova N., Zyuzin D.

Comparative analysis of genetic polymorphism of blood proteins in holstein and simmental breeds of cattle

Abstract.

Purpose: to study genetic polymorphism of blood proteins in Holstein and Simmental cattle breeds.

Materials and methods. The blood of Simmental ($n=368$) and Holstein ($n=266$) cows served as the material for the study. Blood samples were analyzed by vertical electrophoresis in a two-layer polyacrylamide gel, where the following polymorphic proteins were analyzed: transferrin (Tf), posttransferrin-1 and 2 (Ptf-1 and 2), hemoglobin (Hb), amylase (Am), catalase (Kt), prealbumin (Pa).

Results. Simmental cattle retain polymorphism of the hemoglobin locus, while in Holstein cattle it remains monomorphic. The Holstein breed is characterized by a high frequency of the Tf A allele and a low frequency of the Tf E allele, as well as the absence of the Am A allele in comparison with the Simmental breed. In the studied cattle populations, a violation of the genetic balance is observed at four loci in the Simmental breed (Tf, Kt, Pa, Am) and at two loci in Holstein cattle (Ptf-1 and Am) due to an excess of homozygous genotypes. The number of effective alleles per locus in the studied breeds averaged 1,79 (in Holsteins) and 1,82 (in Simmentals). The highest value of the number of effective alleles was observed at the transferrin locus [3,00–3,03].

Key words: Holstein breed; Simmental breed; genotype; allele; polymorphism; frequency of occurrence; genetic similarity; blood proteins.

Authors:

Ryzhova N. — Dr. Habil. (Biol. Sci.);

Zyuzin D. — graduate student.

Moscow State University named after N. P. Ogarev; 430005, Russia, Republic of Mordovia, Saransk, Bolshevistskaya st., 68.

References

1. Altukhov Yu.P. DNA polymorphism in population genetics / Yu. P. Altukhov, E. A. Salmenkova // *Genetics*. — 2002. — Vol. 38. — № 9. — P. 1173–1195.
2. Gerasimova L. A. Immunogenetic indicators of the basic gene pool of cattle of the population of the Borodinsky Breeding Farm OJSC / L. A. Gerasimova // *Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University*. — 2014. — № 3. — P. 160–164.
3. Zhebrovsky L. I., Mityutko V. E. Use of polymorphic protein systems in selection. L.: Kolos, 1979. — 184 p.
4. Kadiev A.K. Population studies of genetic polymorphism of transferrin and hemoglobin of some cattle breeds / A.K. Kadiev // *South of Russia: ecology, development*. — 2009. — № 2. — P. 87–91.
5. Mashurov A. M. Genetic markers in animal breeding. - Moscow: Nauka, 1980. — 315 p.
6. Merkuryeva E. K., Skripnichenko G. G., Simpson V. K. Genetic structure of cattle populations by polymorphic systems in connection with breeding methods and selection // *Proceedings of the XVI International Conference on Genetics and Biochemistry of Polymorphic Animals*. — Vol. II. — Leningrad, 1979. — P. 151–155.
7. Nikolov G. Genetic polymorphism of serum and erythrocyte proteins in Bulgarian Rhodope cattle / G. Nikolov, V. Nikolov, D. Gadzhev, I. Mekhandzhiyski // *Animal days of science*. — 1997. — Appendix 34. — P. 216–219.
8. Serebrovsky A. S. Genetic analysis / A. S. Serebrovsky. — Moscow: Nauka, 1970. — 341 p.
9. Sorokin O. D. Applied statistics on the computer. 2nd ed. — Novosibirsk, 2012. — 282 p.
10. Stolpovsky Yu. A. Population-genetic bases for preserving the gene pools of domestic animal species / Yu. A. Stolpovsky // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. — 2013. — Vol. 17. — № 4/2. — P. 900–917.
11. Tarasyuk S. I. Use of genetic markers in creating new breeds of cattle / S. I. Tarasyuk, V. I. Glazko // *Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences*. — 2002. — № 1. — P. 27–30.
12. Davis B. J. Disc electrophoresis. Method and application to human serum proteins / B. J. Davis // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 1964. — V. 121. — № 3. — P. 404–427.
13. Gahne B. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle / B. Gahne [et al.] // *Animal Blood Groups and Biochemical Genetics*. — 1977. — V. 8. — № 2. — P. 127–137.
14. Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations / M. Nei // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. — 1973. — Vol. 70. — № 12. — Part I. — P. 3321–3323.
15. Yang W. Review on the development of genotyping methods for assessing farm animal diversity / W. Yang, X. Kang, Q. Yang et al. // *J Animal Sci Biotechnol*. — 2013. — V. 4. — № 2.