



ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ КОРОВ ЯРОСЛАВСКОЙ ПОРОДЫ В ХОЗЯЙСТВАХ ЯРОСЛАВСКОЙ ОБЛАСТИ

В.В. Коптев (фото)

научный сотрудник лаборатории генетики и биотехнологии

А.В. Коновалов

к.с.-х.н., доцент, врио руководителя

А.В. Ильина

к.с.-х.н., ведущий научный сотрудник лаборатории генетики и биотехнологии

М.В. Абрамова

к.с.-х.н., старший научный сотрудник лаборатории селекции и разведения сельскохозяйственных животных

Ярославский НИИЖК – филиал ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса»,
п. Михайловский

*Крупный рогатый
скот, ярославская
порода, генетическое
разнообразие, ISSR,
генетическая дистанция*

*Dairy cattle, Yaroslavl
breed, genetic diversity,
ISSR, genetic distance*

Эффективность молочного скотоводства во многом зависит от уровня воспроизводства стада и продуктивного долголетия коров. На современном этапе экономического развития страны, чтобы отечественное животноводство было рентабельным, конкурентоспособным и обеспечивало продовольственную безопасность страны, весь разводимый скот должен быть высокопродуктивным.

Ярославская порода имеет большой генетический потенциал ценных хозяйственно-полезных качеств, научно обоснованное использование которых позволит значительно повысить её конкурентоспособность. Для этого необходима оценка генетической структуры породы в ареале её разведения, а также определение степени генетической дифференциации, что позволит выбрать оптимальную стратегию при сохранении и качественном улучшении ярославской породы. Ярославская область считается основным центром совершенствования ярославской породы.

Племенные хозяйства региона являются базой для селекции, численность поголовья определяет племенные ресурсы породы и уровень генетического разнообразия популяции. От качественного состава поголовья, выделенного в племенную часть, зависят темпы совершенствования всей популяции [1].

Современные методы молекулярно-генетического анализа позволяют определить состояние генетических ресурсов области. Для ускорения селекционного процесса и повышения его эффективности при отборе сельскохозяйственных животных необходимо в качестве дополнительных критериев использовать генетические маркеры, ДНК-технологии, MAS-селекцию, то есть методы современной зоотехнической науки.

Цель данной работы – определение параметров генетического разнообразия коров ярославской породы, разводимых в семи племенных хозяйствах Ярославской области.

Материал и методика исследований

Материалом для проведения ДНК-исследований послужили образцы крови от 130 коров ярославской породы из племенных стад Ярославской области.

Исследования проводились в лаборатории генетики и биотехнологии Ярославского НИИЖК – филиала ФНЦ «ВИК им. В.Р. Вильямса».

Геномную ДНК выделяли из образцов крови фенольно-альдегидным методом [2, 3]. ПЦР проводили на амплификаторе T-100 (BioRad, США) и термоциклере C-1000 (BioRad, США) с применением набора для амплификации ДНК.

Исследование полиморфизма фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитных локусов (ISSR-PCR маркеры), выполняли стандартным методом, разработанным E. Zietkiewicz [4]. В качестве праймеров использовали олигонуклеотиды (AG)_nC и (GA)_nC, комплементарные к микросателлитным локусам (TC)_n и (GT)_n соответственно.

Фракционирование продуктов амплификации проводилось в 2%-ном агарозном геле с напряжением 120 В в течение 100–120 мин. Для оценки длины продуктов ПЦР амплификации использовали ДНК 100bp + 1.5Kb +3Kb (M28) (SibEnzym, Россия). Интерпретацию продуктов амплификации проводили с помощью программы Image Lab 4.1. под коротковолновым ультрафиолетовым излучением на трансиллюминаторе после окрашивания геля бромистым этидием.

Каждый ампликон рассматривался как один локус ДНК. С помощью программы «Excel» были созданы бинарные матрицы, в которых наличие/отсутствие каждого фрагмента в спектре отмечалось цифрами 1 и 0. Определение параметров генетического разнообразия проводилось с помощью программы GenALEx [5].

Результаты

Результаты анализа полученных данных показывают различия как в наличии/отсутствии конкретных фрагментов, так и в частоте их встречаемости (рис. 1).

У коров из стад племрепродукторов ООО «Меленковский», ЗАО «Прилив», ЗАО АК «Заволжский» было определено 9 фрагментов по двум ISSR-маркерам. Наибольшее количество ампликонов (47 и 27) было установлено у коров, находящихся в ООО племзавод «Горшиха» и ФГУП «Григорьевское», соответственно. У коров из ООО племзавод «Горшиха» было выявлено 15 частных ампликонов, а у коров племрепродуктора ФГУП «Григорьевское» – 1. Для каждой группы определены значения ожидаемой гетерозиготности, колебание которой варьировало в пределах от 0,03 до 0,075.

При сравнении основных параметров генетического полиморфизма коров было выявлено, что по всей анализируемой выборке доля полиморфных локусов составила 23,81% и имела колебания в широких пределах от 8,97% у живот-

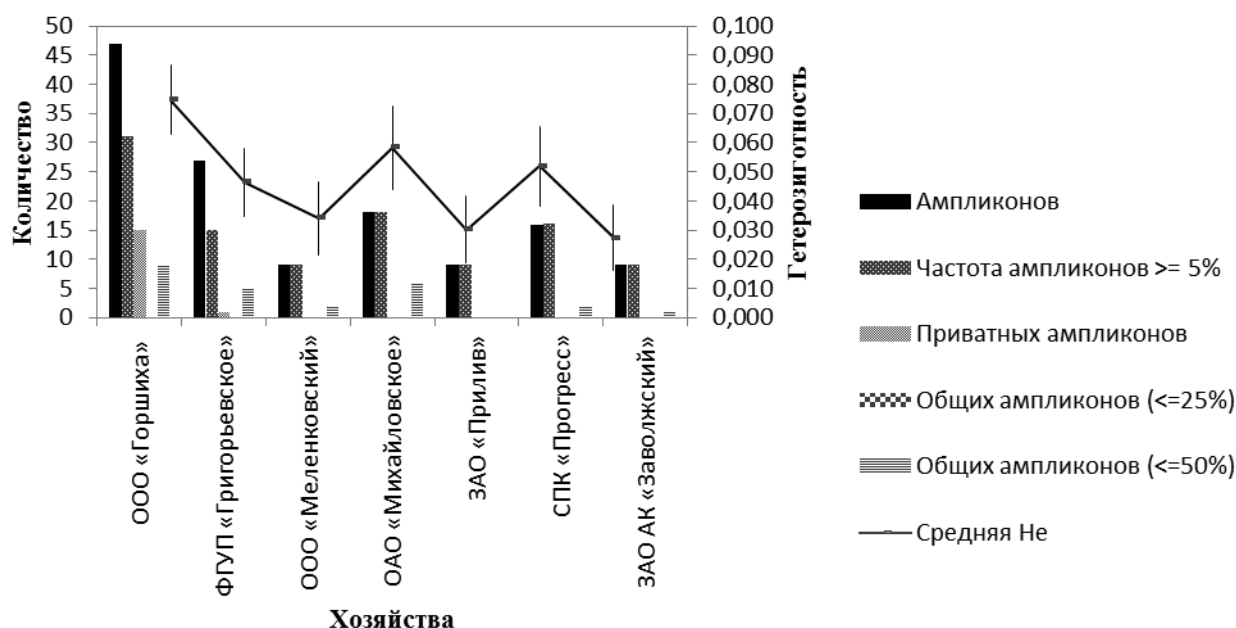


Рисунок 1 – Распределение ISSR-фрагментов

ных из племрепродукторов ЗАО «Прилив» и ЗАО АК «Заволжский» до 60,26% у коров в стаде ООО племзавод «Горшиха» (табл. 1). Наблюдаемое число аллелей на локус (Na) во всех изученных группах не достигало выше 1,205 (ООО племзавод «Горшиха»), а число информативных аллелей (Ne) составило в среднем 1,070. Наибольший показатель индекса информативности Шэннона (I) был характерен для животных хозяйства ООО племзавод «Горшиха», он составил 0,136.

Для оценки степени близости анализируемых групп был определён коэффициент генетической дистанции/идентичности, рассчитанный по методу М. Нея [6] (табл. 2).

Генетическая дистанция при попарном сравнении анализируемых групп колебалась в пределах от 0,003 до 0,044. Наибольшее генетическое расстояние наблюдалось при сравнении коров из племрепродуктора ООО «Меленковский» с коровами ОАО «Михайловское» (0,034), ЗАО «Прилив»

Таблица 1 – Средние значения параметров генетического разнообразия коров ярославской породы

Наименование предприятия	Показатель					
	N	Na	Ne	I	He	uHe
ООО племзавод «Горшиха»	57	1,205±0,112	1,098±0,018	0,136±0,019	0,075±0,012	0,075±0,012
ФГУП «Григорьевское»	36	0,692±0,108	1,067±0,019	0,080±0,018	0,046±0,012	0,047±0,012
ООО «Меленковский»	4	0,218±0,070	1,058±0,023	0,052±0,018	0,034±0,012	0,039±0,014
ОАО «Михайловское»	12	0,462±0,096	1,089±0,024	0,094±0,022	0,058±0,014	0,061±0,015
ЗАО «Прилив»	5	0,205±0,067	1,049±0,020	0,046±0,017	0,030±0,012	0,034±0,013
СПК (колхоз) «Прогресс»	8	0,410±0,092	1,081±0,024	0,083±0,021	0,052±0,014	0,055±0,015
ЗАО АК «Заволжский»	8	0,205±0,067	1,046±0,021	0,042±0,017	0,027±0,011	0,029±0,012
Среднее значение		0,485±0,036	1,070±0,008	0,076±0,007	0,046±0,005	0,049±0,005

(0,044) и ЗАО АК «Заволжский» (0,038). Следует отметить, что анализируемая группа коров из стада ЗАО АК «Заволжский» имела генетическое отличие от остальных стад в пределах 0,019–0,038.

Наибольшим генетическим сходством (0,997) обладали коровы ярославской породы из хозяйств ООО племзавод «Горшиха» и ФГУП «Григорьевское»; также животные из СПК (колхоз) «Прогресс» имели сходную генетическую структуру с коровами ФГУП «Григорьевское» (0,995), ООО племзавод «Горшиха» (0,994) и ООО «Меленковский» (0,992).

Для наглядного отображения полученных результатов, на основе анализа многомерных данных методом главных координат (РСоА), был построен график (рис. 2), отображающий степень

межгрупповой дифференциации коров ярославской породы. РСоА – это многомерная техника, которая позволяет находить и строить основные закономерности в многомерном наборе исследуемых данных. В результате анализа рассчитывается изменчивость в зависимости от осей координат. Каждая последовательная ось объясняет пропорционально меньше полного изменения, таким образом, когда существуют различные группы, первые 2 или 3 оси, как правило, показывают большую часть дифференциации между группами.

Так, генетическая структура популяций коров, разводимых в хозяйствах ООО племзавод «Горшиха», СПК (колхоз) «Прогресс» и ФГУП «Григорьевское» оказалась близка между собой, так-

Таблица 2 – Матрица генетической дистанции/идентичности между племенными хозяйствами Ярославской области

ООО племзавод «Горшиха»	ФГУП «Григорьевское»	ООО «Меленковский»	ОАО «Михайловское»	ЗАО «Прилив»	СПК (колхоз) «Прогресс»	ЗАО АК «Заволжский»	генетическая идентичность	
	0,997	0,984	0,992	0,982	0,994	0,977		ООО племзавод «Горшиха»
0,003		0,982	0,988	0,985	0,995	0,971		ФГУП «Григорьевское»
0,016	0,018		0,967	0,957	0,992	0,962		ООО «Меленковский»
0,008	0,012	0,034		0,979	0,983	0,981		ОАО «Михайловское»
0,018	0,015	0,044	0,021		0,981	0,975		ЗАО «Прилив»
0,006	0,005	0,008	0,017	0,020		0,974		СПК (колхоз) «Прогресс»
0,023	0,029	0,038	0,019	0,025	0,027			ЗАО АК «Заволжский»
Генетическая дистанция								

же небольшое генетическое отличие обнаружено между животными из стад ОАО «Михайловское», ЗАО АК «Заволжский» и ЗАО «Прилив». В то же время генетическая структура животных, разводимых в ООО «Меленковский», имеет отличия от всех анализируемых групп.

Выводы

Использование ISSR-маркеров значительно расширяет возможности генетического анализа популяций, позволяет установить межпородную и внутривидовую изменчивость отдельных

участков генома и составить представление о генетической структуре породы.

В результате сравнительного анализа по двум ISSR-маркерам было установлено, что у животных, разводимых в ООО племзавод «Горшиха» и ФГУП «Григорьевское», более богатый генофонд. На фоне общей схожести генетической структуры между животными стад ООО племзавод «Горшиха», СПК (колхоз) «Прогресс» и ФГУП «Григорьевское», генофонд животных других хозяйств обладал существенными генетическими отличиями. Такая схожесть генети-



Рисунок 2 – Межгрупповая дифференциация коров ярославской породы

Генетическое разнообразие коров ярославской породы в хозяйствах Ярославской области

ческих структур может быть связана с тем, что при системе отбора и подбора родительских пар использовались производители, передающие потомству одинаковую наследственную информацию.

Полученные данные и использованные способы оценок выявленного полиморфизма предлагается применять для контроля и сохранения существующего генетического разнообразия крупного рогатого скота ярославской породы.

Литература

1. Корнев, М.М. Селекционно-племенные мероприятия по сохранению и совершенствованию ярославской породы крупного рогатого скота на 2013–2020 годы [Текст] / М.М. Корнев и др. – Ярославль: Изд-во «Канцлер», 2013. – 240 с.
2. Калашникова, Л.А. Рекомендации по геномной оценке крупного рогатого скота [Текст] / Л.А. Калашникова и др. – Лесные Поляны, Московская обл., 2015. – 33 с.
3. Калашникова, Л.А. ДНК-технологии оценки сельскохозяйственных животных [Текст] / Л.А. Калашникова, И.М. Дунин, В.И. Глазко и др. – М.: ВНИИплем, 1999. – 148 с.
4. Zietkiewicz, E. Genome fingerprinting by simple se-Aquence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [Text] / E. Zietkiewicz, A. Rafalski, D. Labuda // *Genomics*. – 1994. – V. 20. – № 2. – P. 176–183.
5. Peakall, R. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update [Text] / R. Peakall, P.E. Smouse // *Bioinformatics*. – 2012. – 28 (19). – P. 2537–2539.
6. Nei, M. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data [Text] / M. Nei, F. Tajima, Y. Tateno // *J. Mol. Evol.* – 1983. – № 19. – P. 133–170.

References

1. Korenev, M.M. Selekcijno-plemennye meroprijatija po sohraneniu i sovershenstvovaniju jaroslavskoj porody krupnogo rogatogo skota na 2013–2020 gody [Tekst] / M.M. Korenev i dr. – Jaroslavl': Izd-vo «Kancler», 2013. – 240 s.
2. Kalashnikova, L.A. Rekomendacii po genomnoj ocenke krupnogo rogatogo skota [Tekst] / L.A. Kalashnikova i dr. – Lesnye Poljany, Moskovskaja obl., 2015. – 33 s.
3. Kalashnikova, L.A. DNK-tehnologii ocenki sel'skohozjajstvennyh zhivotnyh [Tekst] / L.A. Kalashnikova, I.M. Dunin, V.I. Glazko i dr. – M.: VNIIPlem, 1999. – 148 s.
4. Zietkiewicz, E. Genome fingerprinting by simple se-Aquence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification [Text] / E. Zietkiewicz, A. Rafalski, D. Labuda // *Genomics*. – 1994. – V. 20. – № 2. – P. 176–183.
5. Peakall, R. GenAEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update [Text] / R. Peakall, P.E. Smouse // *Bioinformatics*. – 2012. – 28 (19). – P. 2537–2539.
6. Nei, M. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data [Text] / M. Nei, F. Tajima, Y. Tateno // *J. Mol. Evol.* – 1983. – № 19. – P. 133–170.