

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ГОЛШТИНСКОГО СКОТА ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ МАРКЕРАМ ДНК

© 2025 г. Л. А. Калашникова^{1*}, Т. Б. Ганченкова¹, Н. В. Рыжова¹, Я. А. Хабибрахманова¹,
И. Е. Багаль¹, И. Ю. Павлова¹, А. Е. Калашников¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела Минсельхоза России,
Московская область, г. Пушкино, пос. Лесные Поляны, 141212 Россия

*e-mail: lakalashnikova@mail.ru

Поступила в редакцию 20.12.2023 г.

После доработки 24.05.2024 г.

Принята к публикации 02.07.2024 г.

Представлены результаты исследования полиморфизма 12 микросателлитных локусов крупного рогатого скота голштинской породы ряда регионов России и зарубежных стран. Среднее количество аллелей на локус составило 5.43 ± 0.19 при колебаниях в интервале 4–13 аллелей, среднее число эффективных аллелей – 3.26 ± 0.11 . Установлен перечень из 29 наиболее часто встречающихся аллелей. Выявлено 22 частных аллелей, при этом частота частных аллелей составила 0.004–0.033. Показано, что количество локально распространенных аллелей в отечественных стадах выше, чем у животных зарубежной селекции. Средний уровень наблюдаемой гетерозиготности по всем локусам достиг 0.681 ± 0.017 и варьировал в диапазоне 0.65–0.78 при индексе фиксации -0.131 ± 0.005 . Генетические расстояния между стадами отечественной селекции составили < 0.074 . Выявлено, что стада коров распадаются на два кластера. В один кластер вошли животные из трех областей России вместе с быками Германии и Нидерландов, а в другой кластер – животные двух регионов, близких быкам Канады, США и Англии. При этом быки Дании и Финляндии оказались в отдельном кластере. Цель настоящей работы – оценка аллелофонда голштинского скота отечественной селекции и определение генетического профиля породы по STR-маркерам.

Ключевые слова: генетическая дифференциация, голштинская порода, черно-пестрый скот, микросателлиты, маркеры, породная принадлежность.

DOI: 10.31857/S0016675825010057 **EDN:** VEUINC

Голштинская порода крупного рогатого скота относится к молочному типу продуктивности. Она отличается высокими производственными показателями и способностью к адаптации к различным географическим условиям. В России сформирован отечественный массив животных голштинской породы [1–3]. Актуальность работы заключается в том, что результаты индивидуальной генетической идентификации используются не столько для научных, сколько для практических целей – определения достоверности происхождения племенного материала и для генетической характеристики пород животных [4]. Необходимо отметить, что впервые проводимая работа соответствует положению о порядке проведения молекулярно-генетической экспертизы племенной продукции требованиям ЕЭК. Статистический анализ результатов генотипирования по микросателлитным локусам ядерной ДНК (STR, short tandem microsatellite repeats) позволил оценить уровень родства, генетического сходства и

расстояний между группами животных. При этом формирование матриц родства является основой геномной оценки [5].

В настоящее время в дополнение к основному методу установления записей о родословных по данным племенной книги используются молекулярно-генетические методы. В планах селекционно-племенной работы для определения родства особей внутри пород и породной принадлежности групп животных применяются STR, имеющие в отношении фенотипических признаков нейтральный характер и высокую степень полиморфизма [6–8]. Критерием оценки общего уровня генетического разнообразия животных голштинской породы является полиморфизм участков STR, перечень и частота аллельных вариантов [9].

В мировой практике племенной работы в последние десятилетия для решения вопросов идентификации рекомендуется применять

молекулярно-генетические методы на основе STR- и SNP-маркеров [10, 11] (руководство по генетике ICAR) [12]. Одной из главных проблем определения генетической структуры породы является факт, что экспертиза может осуществляться только по одинаковой панели генетических маркеров при идентичном способе определения генетического разнообразия. При использовании различных закрытых коммерческих панелей STR-локусов проводить сравнительные проверки не представляется возможным [13–16].

Цель исследований – оценка аллелофонда голштинского скота отечественной селекции и определение генетического профиля породы по микросателлитным маркерам геномной ДНК. Настоящая работа проводилась впервые именно с племенными животными при выполнении планов селекционно-племенной деятельности, инвентаризации голштинской породы, а также приведении породы в соответствие с требованиями ЕЭК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа проведена в лаборатории ДНК технологий ФГБНУ ВНИИплем Минсельхоза России. Для характеристики генофонда голштинской породы отечественной и зарубежной селекции определен полиморфизм 12 микросателлитных локусов ядерной ДНК (BM1824, SPS115, TGLA53, TGLA227, ETH3, BM2113, TGLA126, TGLA122, BM1818, INRA023, ETH10, ETH225) [12].

Затем определен спектр аллелей 722 голов скота племенных хозяйств Курской (KUR, 124 гол.), Волгоградской (VLG, 100 гол.), Белгородской

(BEL, 100 гол.), Пензенской (PNZ, 100 гол.) областей и Краснодарского края (KRD, 96 гол.), а также быков-производителей североамериканской селекции из США (USA, 100 гол.) и Канады (CAN, 35 гол.) и европейской селекции – Великобритании (GBR), Нидерландов (NDL), Германии (DEU), Дании (DNM), Финляндии (FIN), Испании (SPA) (всего 65 гол.).

Первичную обработку данных фрагментно-го анализа, полученных в мультиплексной ПЦР, осуществляли на капиллярном секвенаторе Applied Biosystems 3130 с помощью программного обеспечения (ПО) Genemapper (вер. 6). Статистическую обработку данных вычисляли в модуле GenAIEx (вер. 6.5). Для выявления межпопуляционных различий внутри породы сделан расчет генетических расстояний между исследованными группами в ПО Mega (вер. 6) [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе проведены исследования полиморфизма 12 STR-локусов, представляющих панель оценки достоверности происхождения ISAG (Int. Society of Animal Genetics) [3, 8, 16–18] голштинской породы (в особенности племенных животных действующего генофонда) в целом, что формирует цель исследований как инвентаризацию породы и в значительной степени превышает объемы аналогичных филогенетических исследований. Локусы имели высокий полиморфизм (табл. 1), среднее количество аллелей на локус N_a в среднем по всем локусам и генетическим группам составило 5.43 ± 0.19 (в Тюменском регионе

Таблица 1. Усредненные показатели генетического разнообразия

Генетическая группа	$N_a \pm SD$	$N_a, p \geq 5\% \pm SD$	$N_e (cp.) \pm SD$	$I \pm SD$
BEL	7.91 ± 0.57	4.25 ± 0.47	3.65 ± 0.42	1.44 ± 0.10
PNZ	7.16 ± 0.72	4.50 ± 0.41	3.68 ± 0.39	1.43 ± 0.09
VLG	7.16 ± 0.61	4.25 ± 0.35	3.74 ± 0.38	1.44 ± 0.09
GBR	6.41 ± 0.39	4.50 ± 0.43	3.63 ± 0.37	1.41 ± 0.09
KUR	6.33 ± 0.55	4.50 ± 0.37	3.34 ± 0.31	1.36 ± 0.09
KRD	6.33 ± 0.55	4.08 ± 0.35	3.75 ± 0.36	1.41 ± 0.09
CAN	5.91 ± 0.54	4.25 ± 0.41	3.55 ± 0.39	1.37 ± 0.10
USA	5.66 ± 0.48	3.83 ± 0.38	3.34 ± 0.36	1.30 ± 0.09
DEU	4.75 ± 0.49	4.75 ± 0.49	3.30 ± 0.33	1.28 ± 0.10
NDL	4.08 ± 0.35	4.08 ± 0.35	2.97 ± 0.24	1.17 ± 0.09
DNM	4.00 ± 0.52	4.00 ± 0.52	2.87 ± 0.45	1.11 ± 0.14
SPA	2.66 ± 0.25	2.66 ± 0.25	2.46 ± 0.26	0.87 ± 0.11
FIN	2.25 ± 0.32	2.25 ± 0.32	2.02 ± 0.33	0.69 ± 0.13

4.6 ± 0.52 [19]), при колебаниях в диапазоне 4–13 аллелей, среднее число эффективных аллелей N_e — 3.26 ± 0.11 , а средний информационный индекс Шеннона I достиг 1.26 ± 0.03 , что также подтверждается ранее полученными данными у заводчиков Тюмени [19]. Полученные ранее данные по образцам черно-пестрой и холмогорской пород скота показали от 4 до 15 аллельных вариантов на локус (в 15-локусной панели) [20]. Для сравнения среднее число эффективных аллелей для локусов в популяции Хабаровского края составило 4.5 [21], а для уральской популяции Свердловской области — 4.02 [22].

Анализ отечественных стад голштинского скота в России показал высокий уровень полиморфизма: среднее количество наблюдаемых аллелей N_a превышало шесть аллелей на локус и варьировало в диапазоне 6.3–7.9.

Количество аллелей с частотой $p > 5\%$ в отечественных стадах было в диапазоне 4.1–4.5, количество эффективных аллелей — в интервале 3.3–3.7, а информационный индекс $I > 1.36$ (см. табл. 1).

При рассмотрении полиморфизма животных по локусам наибольшее в целом N_a (ср.) выявлено для TGLA53 (8.15 ± 0.88), число N_e (ср.) для того же локуса достигло 5.22 ± 0.40 , наиболее высокое значение индекса I 1.74 ± 0.11 отмечено у TGLA53 (рис. 1). На втором месте по величине индекса I был локус TGLA227 (1.62 ± 0.10) с N_a (ср.) 7.69 ± 0.71 и N_e (ср.) 4.37 ± 0.31 (в Тюмени на первом месте с частотой 0.905 [19]). По аналогичным исследованиям, проведенным по 13-локусной панели, для черно-пестрой породы величина N_a (ср.) составляла 6.57 ± 0.32 , а N_e (ср.) 3.74 ± 0.20 [23]. Отдельно для голштинской породы величины параметров были около 1.8 и 2.1 с величиной индекса I около 1.5 соответственно [24]. В популяции Урала наблюдали величины N_a (ср.) и N_e (ср.) 10.9 и 4.03 соответственно [22].

Проведены сравнительные исследования частот встречаемости аллелей (p) у групп скота отечественной и зарубежной селекции (см. рис. 1). Сравнительный анализ показал, что распределение аллелей внутри каждого локуса у животных, принадлежащих разным стадам и генетическим группам, имеет неравномерный и сходный характер [25, 26]. В каждом локусе были отобраны наиболее частые аллели и составлен перечень аллельных вариантов, имеющих среднее значение $p > 0.5$ (табл. 2). При частоте p (ср.) $> 0.6^1$ более 70% животных стада имеют такие аллели в составе гомо- или гетерозиготного генотипа. По результатам анализа распределения частот в каждом локусе выделены

аллельные варианты, которые встречаются у животных голштинской породы наиболее часто.

Для сравнения: в небольшой выборке коров голштинской породы Тюменского региона наибольшей частотой отличались аллели 117 (ETH3), 248 (SPS115) — 0.529–0.600, а в целом частота основных аллелей достигала 0.60 [19]. Примечательно, что в стадах родственной черно-пестрой породы скота Белоруссии наибольшая эффективность при контроле происхождения отмечена для локуса TGLA53 (0.848), а наименьшая — для локуса ETH3 (0.470) [27]. В популяции Хабаровского края частота встречаемости варьировала от 0.020 до 0.587, а с наибольшей частотой 0.538–0.587 встречались аллели: 117/ETH3, 117/TGLA126, 248/SPS115. При этом число эффективных аллелей колебалось от 2.4 в локусе SPS115 до 14.3 в локусе TGLA122 [21].

Приватные аллели были выявлены в шести из 13 изученных групп с величиной p 0.5–3%: VLG (аллель 141 п.н./локус BM2113, 179/TGLA122); PNZ (121/BM2113, 95/TGLA227, 180/TGLA53, 216/INRA023 (p 17.5%)); BEL (186/BM1824, 123,147/BM2113, 138/ETH225, 113/113,109,125/TGLA126, 79/TGLA227, 156,178,182/TGLA53, 258/BM1818); KRД (159/TGLA122); CAN (145/ETH225); GBR (109/ETH3, 198/INRA023).

Таким образом, всего выявлено 22 приватных аллеля в 10 локусах из 12 (табл. 3, 4). Количество приватных аллелей на локус варьирует от одного до четырех (TGLA126), при этом аллель 216/INRA023 встречался более часто. В группе KRД найден только один аллель 159/TGLA122 p 0.5%, в VLG — два 141/BM2113 и 179/TGLA122 $p < 0.4\%$, в PNZ — четыре 121/BM2113 p 0.5%, 95/TGLA227 p 1.5%, 180/TGLA53 p 3.3% и 216/INRA023 p 17.5%. В стаде BEL выявлено наибольшее количество аллелей с $p < 2\%$.

Вероятно, вышеуказанные аллели произошли от материнской породы, на основе которой было создано стадо животных с дальнейшим поглотительным скрещиванием с голштинскими быками. Поскольку приватные аллели в исследованных группах имеют низкие значения $p < 0.4$ –3.3%, они не могут являться критерием породной принадлежности животных. В сравнении с полученными данными частоты условно приватных аллелей тюменской популяции составляли 0.014–0.043 [19].

При рассмотрении группы канадских быков североамериканской селекции CAN выявлен один приватный аллель 145/ETH225 p 1.4%, два аллеля 109/ETH3 и 198/INRA023 — у быков GBR p 1.3%, в группах быков USA и DEU приватные аллели выявлены не были. Причина отсутствия приватных аллелей в группах быков могла быть связана с тем, что быки (или их ближайшие родственники) были использованы при формировании отечественных стад.

¹выделены курсивом.

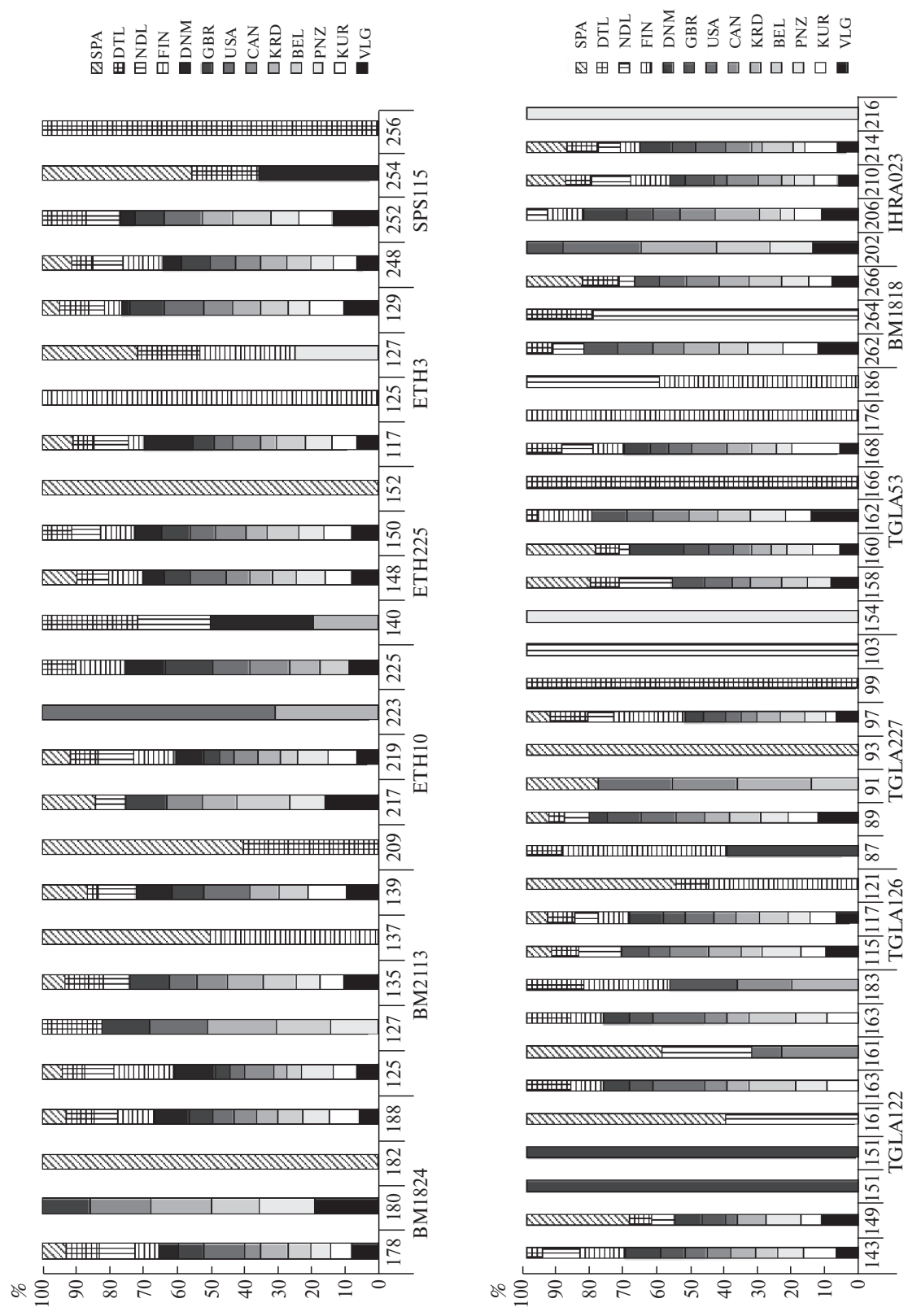


Рис. 1. Частоты аллелей микросателлитных локусов.

Таблица 2. Преобладающие аллели микросателлитных локусов

Локус	Аллель, п.н.	Генетические группы									
		VLG	KUR	PNZ	BEL	KRD	CAN	USA	GBR	NDL	DEU
BM1824	188	0.4	0.61	0.55	0.52	0.43	0.47	0.42	0.5	0.5	0.56
ETH10	219	0.39	0.52	0.56	0.3	0.4	0.43	0.27	0.29	0.64	0.5
ETH3	117	0.35	0.41	0.44	0.47	0.25	0.44	0.31	0.34	0.57	0.33
	129	0.47	0.48	0.29	0.4	0.37	0.4	0.56	0.48	0.21	0.39
SPS115	248	0.54	0.63	0.58	0.6	0.68	0.66	0.64	0.74	0.79	0.56
TGLA126	117	0.52	0.65	0.52	0.7	0.57	0.53	0.71	0.55	0.57	0.67
BM1818	266	0.46	0.42	0.48	0.59	0.54	0.59	0.48	0.44	0.29	0.64
INRA023	210	0.26	0.31	0.26	0.16	0.32	0.39	0.18	0.36	0.5	0.33

При сравнительном анализе распределения приватных аллелей оказалось, что в отечественных стадах количество аллелей (обнаруженных у < 25% генетических групп) было выше, чем у животных зарубежной селекции. Количество аллелей варьировало от 0.33 до 0.42.

Количество аллелей (обнаруженных у < 50% групп) у коров отечественной селекции также было выше, чем у животных зарубежной (размах 1.08–1.34).

Например, в выборках голштин в Сирийской Арабской Республике при среднем числе аллелей на локус, равном 6.18, число приватных аллелей было равно четырем [28]. В небольших нескольких стадах Казахстана приватных аллелей было два, а число редких аллелей в породе составило 14.9%, что меньше, чем в черно-пестрой породе, — 14 и 32.8% соответственно [29].

По результатам анализа, средний уровень наблюдаемой гетерозиготности H_o в группах был 0.68 ± 0.02 , что соответствует несмещенному значению ожидаемой гетерозиготности H_e 0.68 ± 0.01 . Среднее значение индекса фиксации F отрицательное: -0.07 ± 0.019 , так как наблюдалось неродственное скрещивание [30].

Сравнительный анализ гетерозиготности групп по локусам выявил высокий уровень H_o у пяти локусов: BM2113 0.78, TGLA122 0.80, TGLA227 0.81, TGLA53 0.75 и INRA023 0.78, а уровень ожидаемой гетерозиготности H_e по этим локусам был 0.70, 0.74, 0.75, 0.77 и 0.70 соответственно.

Ранее в популяции Хабаровского края наибольшие уровни наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности (0.857 и 0.930 соответственно) были обнаружены в локусе TGLA122, а наименьшие (0.530 и 0.586 соответственно) — в локусе SPS115, при этом

Таблица 3. Перечень и частота приватных аллелей

Генетическая группа	Локус	Аллель, п.н.	Частота, p
VLG	BM2113	141	0
	TGLA122	179	0
PNZ	BM2113	121	0.01
	TGLA227	95	0.02
	TGLA53	180	0.03
	INRA023	216	0.18
BEL	BM1824	186	0.01
	BM2113	123	0.02
	BM2113	147	0.01
	ETH225	138	0.01
	ETH3	113	0.02
	TGLA126	109	0.02
	TGLA126	125	0.01
	TGLA227	79	0.01
	TGLA53	156	0.01
	TGLA53	178	0.01
	TGLA53	182	0.01
	BM1818	258	0.01
KRD	TGLA122	159	0.01
CAN	ETH225	145	0.01
GBR	ETH3	109	0.01
	INRA023	198	0.01

средний уровень наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности составлял примерно 0.700 [21].

Для сравнения в выборке коров Тюменского региона наибольшим уровнем H_o характеризовался локус TGLA227 – 0.905, наименьшим – BM1824 – 0.667. В то же время H_e была наибольшей по локусу TGLA53 и составляла 0.941 [19].

В отдельных выборках голштинской и черно-пестрой пород популяций Казахстана уровень ожидаемой гетерозиготности варьировал от 0.596

в локусе SPS115 до 0.867 в TGLA227, от 0.603 в локусе BM1818 до 0.844 в BM2113 соответственно. Средний показатель ожидаемой гетерозиготности для этих пород составил 0.715 и 0.738 соответственно [29], что близко к средним показателям 0.721 ± 0.036 и 0.662 ± 0.081 , полученным позднее [29], где гетерогенность черно-пестрой породы была ниже.

В популяции Урала в голштинизированной черно-пестрой породе средние уровни H_o и H_e

Таблица 4. Распространение приватных и локальных аллелей

Генетическая группа	Приватные аллели, % (ср.) \pm SD	Локальные аллели, % $p \leq$ (ср.) 25% \pm SD	Локальные аллели, % $p \leq$ (ср.) 50% \pm SD
VLG	0.16 ± 0.11	0.42 ± 0.19	1.33 ± 0.33
KUR	–	0.33 ± 0.14	1.25 ± 0.33
PNZ	0.33 ± 0.14	0.33 ± 0.14	1.25 ± 0.33
BEL	1.00 ± 0.28	0.33 ± 0.19	1.08 ± 0.29
KRD	0.08 ± 0.08	0.33 ± 0.14	1.25 ± 0.33
CAN	0.08 ± 0.08	0.25 ± 0.13	1.08 ± 0.34
USA	–	0.17 ± 0.11	1.08 ± 0.36
GBR	0.17 ± 0.11	0.42 ± 0.19	1.33 ± 0.33
DNM	–	–	0.50 ± 0.23
FIN	–	–	0.08 ± 0.08
NDL	–	0.17 ± 0.11	0.58 ± 0.23
DEU	–	0.25 ± 0.13	0.92 ± 0.34
SPA	–	0.08 ± 0.08	0.33 ± 0.19

Таблица 5. Показатели гетерозиготности и значений индекса фиксации

Группа	H_o	H_e	uH_e	F
VLG	0.708 ± 0.025	0.706 ± 0.025	0.709 ± 0.025	-0.005 ± 0.016
KUR	0.694 ± 0.033	0.673 ± 0.029	0.676 ± 0.029	-0.031 ± 0.021
PNZ	0.652 ± 0.029	0.697 ± 0.027	0.700 ± 0.028	0.062 ± 0.029
BEL	0.774 ± 0.041	0.685 ± 0.035	0.689 ± 0.035	-0.131 ± 0.025
KRD	0.699 ± 0.032	0.702 ± 0.031	0.706 ± 0.031	0.005 ± 0.014
CAN	0.663 ± 0.045	0.684 ± 0.031	0.695 ± 0.031	0.039 ± 0.039
USA	0.667 ± 0.033	0.664 ± 0.033	0.668 ± 0.034	-0.006 ± 0.017
GBR	0.657 ± 0.038	0.691 ± 0.033	0.700 ± 0.033	0.048 ± 0.033
DNM	0.650 ± 0.093	0.572 ± 0.069	0.635 ± 0.077	-0.119 ± 0.075
FIN	0.542 ± 0.096	0.427 ± 0.071	0.569 ± 0.095	-0.293 ± 0.096
NDL	0.700 ± 0.054	0.632 ± 0.036	0.682 ± 0.040	-0.121 ± 0.070
DEU	0.776 ± 0.070	0.664 ± 0.032	0.704 ± 0.033	-0.152 ± 0.073
SPA	0.667 ± 0.112	0.531 ± 0.060	0.708 ± 0.080	-0.248 ± 0.156

составляли 0.73 и 0.72 соответственно при величине индекса $F - 0.004$ [17].

Индекс F имел невысокие отрицательные значения: BM2113 -0.130 , TGLA122 -0.091 , TGLA227 -0.090 , INRA023 -0.130 , что так же, как на Урале, свидетельствовало о неродственном скрещивании. По наиболее полиморфному локусу TGLA53 отмечено положительное значение F 0.080, что по сравнению с величиной H_e 0.84 указывало на инбридинг (табл. 5). Дефицит гетерозигот популяций голштинского скота в других исследованиях наблюдался в диапазоне 0.01–0.091 [31, 32].

Анализ данных показал, что величина H_e (ср.) по всем локусам и группам национальной селекции варьировала от 0.652 в стаде PNZ и до 0.774 в группе BEL. Наблюдаемый уровень H_e в отечественных стадах в целом соответствует ожидаемым показателям гетерозиготности. Показатель H_e изменялся в интервале 0.68–0.71, а индекс $F - 0.131 - 0.005$. Наибольшее отклонение значения F в отрицательную сторону свидетельствовало об аутбридинге в хозяйствах BEL (-0.139). В хозяйствах PNZ и KRD

близкие к нулю положительные значения F (0.062 и 0.005) указывали на родственное скрещивание.

В группах быков североамериканской селекции уровень H_e составлял 0.66 (CAN) и 0.67 (USA) и соответствовал ожидаемым показателям 0.70 и 0.67 соответственно. Согласно величине F у быков CAN наблюдался инбридинг (0.039), а в группе USA – аутбридинг (-0.006).

В группах DNM и FIN более выражены отрицательные значения F (-0.119 и -0.293), среди них аутбридинг был выше, чем у быков NDL и DEU, где величина F достигла значений -0.151 и -0.152 соответственно.

Попарный анализ генетических расстояний по Нею [33, 34] между группами позволил оценить степень удаленности стад из разных регионов России от групп быков зарубежных стран (табл. 6).

Между отечественными стадами голштинской породы генетические расстояния (L) изменялись от 0.036 (VLG – KRD) до 0.074 (PNZ – KRD). Оказалось, что величины L ближе при сопоставлении животных из отечественных стад и ряда

Таблица 6. Попарная матрица генетических расстояний, сходства и подразделения стад

Группы	VLG	KUR	PNZ	BEL	KRD	CAN	USA	GBR	DNM	FIN	NDL	DEU	SPA
VLG	—	0.96	0.96	0.96	0.97	0.98	0.94	0.99	0.77	0.76	0.95	0.98	0.97
KUR	0.05 0.01	—	0.95	0.96	0.94	0.98	0.95	0.97	0.84	0.84	0.99	0.99	0.96
PNZ	0.05 0.01	0.06 0.01	—	0.93	0.94	0.96	0.90	0.95	0.80	0.81	0.97	0.98	0.99
BEL	0.04 0.01	0.04 0.01	0.07 0.02	—	0.94	0.97	0.97	0.98	0.80	0.78	0.93	0.99	0.96
KRD	0.04 0.01	0.06 0.02	0.07 0.02	0.06 0.02	—	0.98	0.94	0.99	0.75	0.78	0.95	0.99	0.98
CAN	0.02 0.01	0.02 0.01	0.04 0.01	0.03 0.01	0.02 0.01	—	0.94	0.99	0.81	0.83	0.98	0.99	0.99
USA	0.06 0.02	0.06 0.02	0.11 0.02	0.04 0.01	0.06 0.02	0.07 0.02	—	0.97	0.76	0.75	0.90	0.96	0.92
GBR	0.01 0.01	0.03 0.01	0.06 0.01	0.03 0.01	0.01 0.01	0.01 0.01	0.03 0.01	—	0.78	0.81	0.98	0.99	0.99
DNM	0.26 0.10	0.18 0.10	0.22 0.10	0.22 0.09	0.29 0.10	0.22 0.10	0.27 0.10	0.25 0.10	—	0.83	0.86	0.83	0.81
FIN	0.28 0.14	0.18 0.12	0.22 0.13	0.25 0.14	0.24 0.13	0.19 0.13	0.29 0.14	0.21 0.13	0.19 0.15	—	0.89	0.86	0.78
NDL	0.05 0.03	0.01 0.02	0.03 0.03	0.07 0.04	0.05 0.03	0.02 0.02	0.11 0.04	0.03 0.03	0.16 0.10	0.12 0.12	—	0.99	0.99
DEU	0.02	0.01	0.02	0.01	0.01	0.01	0.05	0.01	0.19	0.15	0.01	—	0.99
SPA	0.03	0.04	0.01	0.04	0.02	0.01	0.09	0.01	0.21	0.25	0.01	0.01	—

зарубежных стран, чем при сопоставлении отечественных стад между собой. Значения L между VLG и быками CAN, DEU были 0.022 и 0.018 соответственно, в то время как между VLG и группами KUR, PNZ, BEL и KRD были от 0.036 до 0.046. Необходимо отметить существенные расстояния между аборигенными стадами и быками DNM и FIN, которые различались в 10 и более раз (0.175–0.287), так как, вероятно, быки NDL, DNM и FIN в меньшей степени использовались при формировании отечественных стад.

Анализ молекулярной варiances (AMOVA, analysis of mol. variance, σ^2_G) показал, что 96% варiances представлено вариабельностью внутри отечественных стад и 4% дисперсии обеспечивают отличия между ними. При рассмотрении составляющих дисперсии по всей совокупности животных доля математического ожидания возрастала до 98%, а 2% определяли различия между группами разной селекции.

Анализ генетической идентичности по Нею [30, 33] (L_i) показал, что уровень генетического

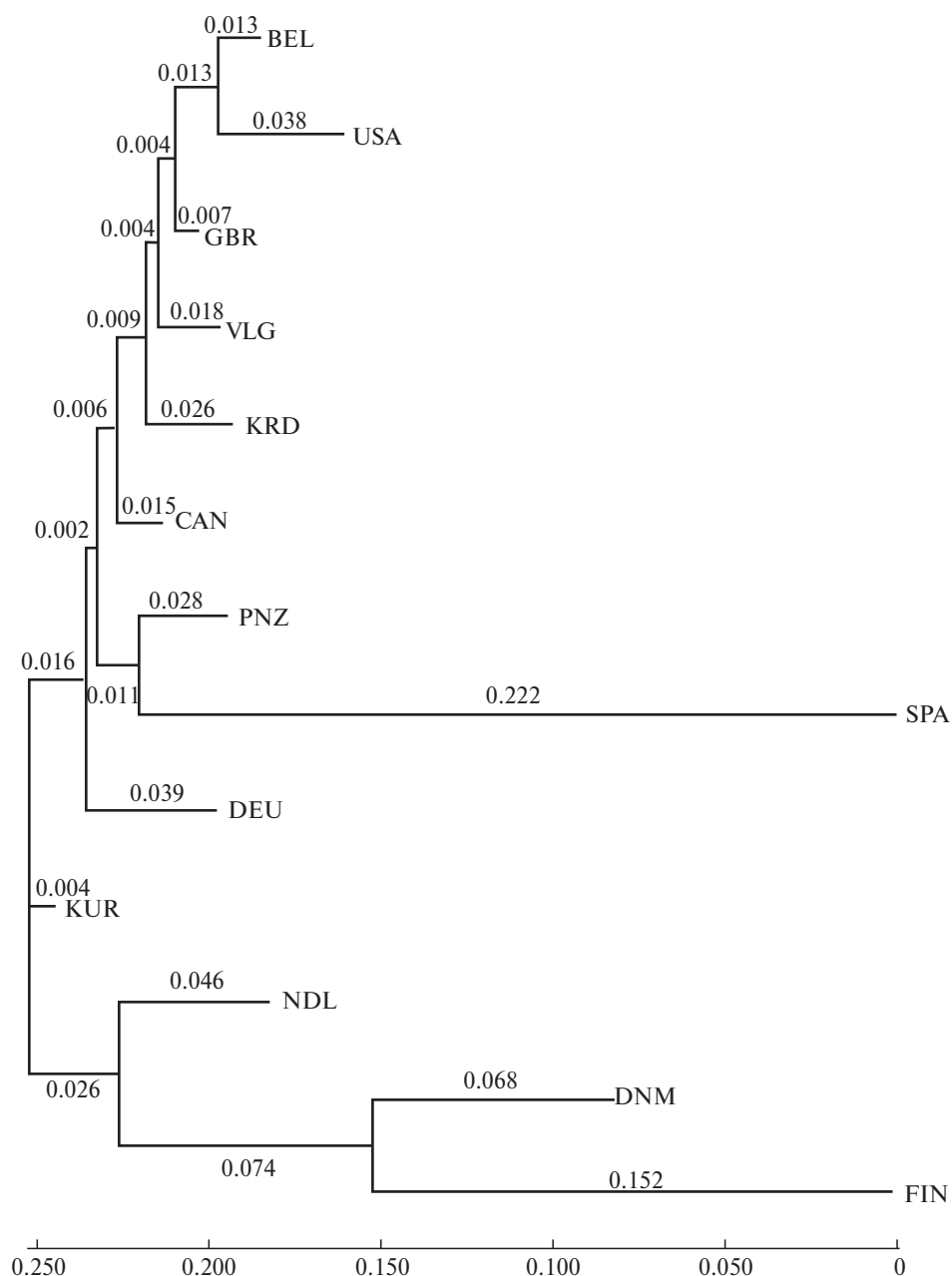


Рис. 2. Дендрограмма генетических расстояний.

сходства [34, 35] между группами отечественного скота составлял от 0.929 до 0.965. Сходство отечественного поголовья с животными зарубежной селекции подтверждается высокими значениями $L_i > 0.9$, за исключением групп быков DNM и FIN, величины L_i быков DNM и FIN составили 0.7–0.8 (см. табл. 6). По-видимому, направление селекции быков DNM и FIN, а также интенсивность их использования при формировании российского массива голштинского скота отличаются от быков североамериканской и немецкой селекции.

Генетические различия между группами и внутри них с уровнем инбридинга связаны по методике Фишера–Райта через показатели избытка или недостатка гетерозиготности. Коэффициент подразделения F_{st} внутри подгрупп по отношению к общей измеренной дифференциации между ними определяется как доля общей генетической изменчивости.

Коэффициент F_{st} был > 0 и для отечественного скота находился в диапазоне 0.009–0.017. Величины F_{st} для быков USA были < 0.025 , а для быков DEU < 0.030 . Высокие значения F_{st} были у быков DNM (0.080–0.101) и FIN (0.121–0.156), что указывало на отличие этих групп от остального поголовья. Межпородное скрещивание черно-пестрой и голштинской пород способствует интродукции аллелей и повышению уровня генетического разнообразия [36] в противоположность чистопородному разведению, при этом наблюдалось снижение генетических различий между породами со значениями F_{st} с 0.058 до 0.026, а L – с 0.306 до 0.123 [36].

Для оценки генетической структуры породы с включением в анализ быков других стран использован метод оценки генетических отношений L (рис. 2) по принципиальным координатам PCoA, при этом между группами выявлены два отдельных кластера. В один кластер вошли животные VLG, KUR и PNZ вместе с быками DEU, в другой – группы BEL и KRD вместе с быками CAN, USA и GBR, отдельно оказались быки NDL, DNM и FIN. На основании анализа PCoA голштинский скот отечественной селекции подразделялся на две группы в зависимости от использования быков европейской или североамериканской селекции, имеющих наряду с общими признаками свои генетические особенности. Результаты филогенетического анализа по Нею [33, 34] подтвердили расположение популяций на основе показателей генетических расстояний, отражающих долю генетических вариаций (рис. 3). Величина рассчитанных генетических расстояний составляла от 0.002 до 0.222. Ранее выявляли генетические расстояния от 0.057 до 0.453 [31, 32]. Показано уменьшение генетических дистанций между анализируемыми породами за счет введения голштинской крови.

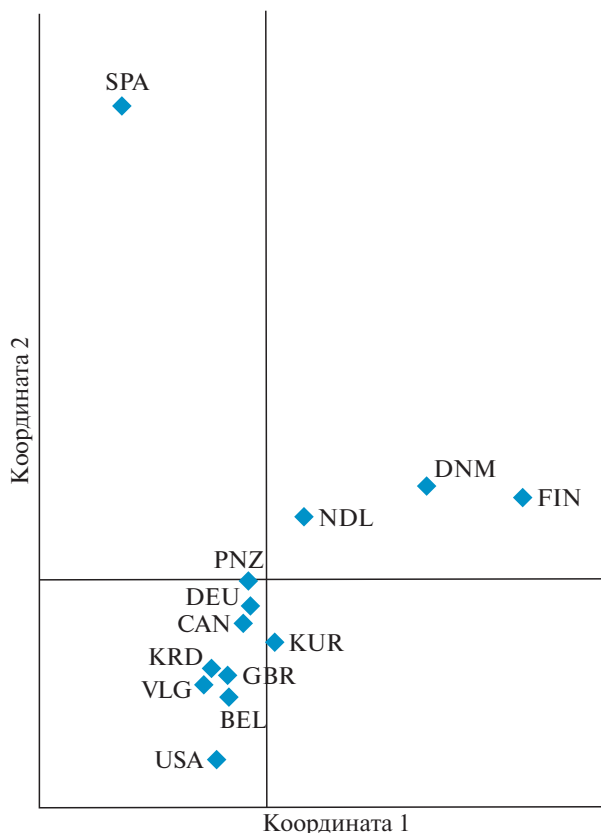


Рис. 3. Диаграмма распределения животных в системе принципиальных координат.

Доля генетических вариаций составила по первой оси 55%, по второй – 23%, третьей – 12%. Результаты размещения групп указывали на генетическую близость национальных групп VLG, KUR и PNZ с быками DEU, а животные групп BEL и KRD были генетически близки с быками североамериканской и европейской селекции – USA, CAN, DEU. Генетически отдаленными от отечественного голштинского скота оказались быки DNM и FIN (европейской селекции).

Таким образом, впервые проведено генотипирование и профилирование голштинской породы в целом на большом объеме поголовья, значительно превышающем аналогичные исследования. Подтверждено, что животные голштинской породы тесно связаны друг с другом независимо от страны происхождения, т. е. мировая популяция голштинского скота – это генетическая единица. В то же время расчеты показали на внутреннее подразделение голштин в зависимости от происхождения и направления селекции. По результатам генотипирования установлен перечень аллелей, наиболее часто встречающихся в стадах и присутствующих у большинства животных. Наличие этих аллелей является типичным признаком голштин и генетической характеристики породы. Отечественные

стада отличались от зарубежных большей степенью генетического разнообразия, наличием приватных аллелей, характеризующих исходное маточное поголовье, дифференцированы в зависимости от использования быков и примыкают к поголовью из Германии, США и Канады.

На основании филогенетического анализа скот национальной селекции подразделялся на два кластера в зависимости от интенсивности покрытия быками европейской или североамериканской селекции. Показано, что от отечественных стад более отдалены генетически быки Дании и Финляндии. Показатели генетических расстояний и генетической идентичности визуализированы при построении филогенетических деревьев и принципиальной системы координат, выявив отношения между национальными стадами и быками североамериканской и европейской селекции в зависимости от интенсивности их использования, подразделив быков Дании и Финляндии.

Работа поддержана Государственным заданием Минсельхоза России по теме “Проведение исследований по генетической характеристике голштинского скота отечественной селекции на основе STR-маркеров генома с целью разработки критериев определения породной принадлежности животных” № 082-00208-23-00 (НИОКТР 123030600068-9) на 2023 г. (eLIBRARY ID: 54082343).

Исследование одобрено Этическим комитетом ФБУН Всероссийского научно-исследовательского института племенного дела Минсельхоза России, (02.03.2024, протокол № 1).

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ablondi M., Sabbioni A., Stocco G. et al.* Genetic diversity in the italian holstein dairy cattle based on pedigree and snp data prior and after genomic selection // *FRONT VET SCI.* 2022. V. 8. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.773985>
2. *Meuwissen T., Hayes B., Goddard M.* Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding // *Animal Frontiers.* 2016. V. 6. № 1. P. 6–14. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0002>
3. *Мещеров Р.К., Мещеров Ш.Р., Ходыков В.П., Никулкин Н.С.* Породные и племенные ресурсы крупного рогатого скота голштинской породы черно-пестрой масти в Российской Федерации: реалии и перспективы // *Агрозоотехника.* 2023. Т. 6. № 2. С. 1–10. <https://doi.org/10.15838/alt.2023.6.2.6>
4. *Adamov N., Mickov L., Petkov V., Adamov M.* Microsatellite markers for pedigree verification in cattle // *Macedonian J. Anim. Sci.* 2011. V. 1. № 1. P. 9–15.
5. *MacHugh D.E., Loftus R.T., Cunningham P., Bradley D.G.* Genetic structure of seven European cattle breeds assessed using 20 microsatellite markers // *Anim. Genetics.* 1998. V. 29. № 5. P. 333–340. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.1998.295330.x>
6. *Agung P.P., Saputra F., Zein M.S.A. et al.* Genetic diversity of Indonesian cattle breeds based on microsatellite markers // *Asian-Australas J. Anim. Sci.* 2019. V. 32. № 4. P. 467–476. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0283>
7. *Joshi P., Vyas P., Kashyap S.K.* Molecular characterization of Nagori cattle using microsatellite markers // *J. Pharmacognosy and Phytochemistry.* 2018. V. 7. № 2. P. 3250–3252.
8. *Gororo E., Chatiza F.P., Chidzwondo F., Makuza S.M.* Is neutral genetic diversity related to quantitative variation in semen traits in bulls? // *Reprod. Domest. Anim.* 2021. V. 56. № 10. P. 1293–1301. <https://doi.org/10.1111/rda.13991>
9. *Lenstra J.A., Groeneveld L.F., Eding H. et al.* Molecular tools and analytical approaches for the characterization of farm animal genetic diversity // *Anim. Genetics.* 2012. V. 43. № 5. P. 483–502. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02309.x>
10. *Калашиников А.Е., Ялуга В.Л.* Изменение встречаемости аллелей ЕАВ-локуса групп крови у скота холмогорской породы вследствие голштинизации // *Изв. Кабардино-Балкарского гос. аграрного ун-та им. В. М. Кокова.* 2022. № 3(37). С. 66–78. <https://doi.org/10.55196/2411-3492-2022-3-37-66-78>
11. *Калашиников А.Е., Хрунова А.И., Калашиников В.Е., Рыжова Н.Г.* Изменение гаплотипов локусов групп крови холмогорской породы при поглотельном скрещивании // *Достижения и актуальные проблемы генетики, биотехнологии и селекции животных.* Витебск, 2021. С. 27–29. EDN: IXBBNP
12. *Тяпугин С.Е., Калашикова Л.А., Новиков А.А. и др.* Генетическая идентификация сельскохозяйственных и диких видов животных // *Методическое пособие. Лесные Поляны: ФГБНУ “ВНИИплем”,* 2021. С. 1–98. EDN: DWIYJB
13. *Heslot N., Yang H.P., Sorrells M.E., Jannink J.L.* Genomic selection in plant breeding: A comparison of models // *Crop Sci.* 2012. V. 52. № 1. P. 146–160. <https://doi.org/10.2135/cropsci2011.06.0297>
14. *Kemp S.J., Brezinsky L., Teale A.J.* A panel of bovine, ovine and caprine polymorphic microsatellites // *Anim. Genetics.* 1993. V. 24. № 5. P. 363–365. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.1993.tb00341.x>
15. *McKay S.D., Schnabel R.D., Murdoch B.M. et al.* An assessment of population structure in eight breeds of cattle using a whole genome SNP panel // *BMC*

- Genetics. 2008. V. 20. № 9. P. 37.
<https://doi.org/10.1186/1471-2156-9-37>
16. Дунин И.М., Тяпугин С.Е., Калашникова Л.А. и др. Генофонд пород молочного скота в России: состояние, перспективы сохранения и использования // Зоотехния. 2019. № 5. С. 1–2.
<https://doi.org/10.25708/ZT.2019.18.21.001>
 17. Модоров М.В., Ткаченко И.В., Грин А.А. и др. Генетическая структура популяции голштинизированного черно-пестрого скота на территории Урала // Генетика. 2021. Т. 57. № 4. С. 437–444.
<https://doi.org/10.31857/S001667582104010X>
 18. Филиппова Н.П., Павлова Н.И., Корякина Л.П. и др. Микросателлитный анализ якутского скота // Животноводство и кормопроизводство. 2018. Т. 101. № 4. С. 58–63. EDN: VQTBKC
 19. Часовищикова М.А. Генетическая характеристика голштинской породы крупного рогатого скота с использованием микросателлитных ДНК-маркеров // Изв. ОГАУ. 2019. Т. 2. № 76. С. 191–193.
 20. Калашникова Л.А., Хабибрахманова Я.А., Ганченкова Т.Б. и др. Генетическая характеристика крупного рогатого скота с использованием микросателлитов // Зоотехния. 2016. № 2. С. 9–11. EDN: VOJQUT
 21. Шукурова Е.Б., Лукашина А.А., Бузько А.Н. Генетическая характеристика голштинского крупного рогатого скота по ДНК-микросателлитам // Вестн. ДВО РАН. 2020. № 4(212). С. 47–52.
<https://doi.org/10.37102/08697698.2020.212.4.008>
 22. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А. Генетическая экспертиза сельскохозяйственных животных: применение тест-систем на основе микросателлитов // Достижения науки и техники АПК. 2011. № 9. С. 19–20. EDN: OGBSUP
 23. Гладырь Е.А., Горелов П.В., Маурчева В.Н. и др. Оценка результативности тест-системы на основе микросателлитов в проведении ДНК-экспертизы крупного рогатого скота // Достижения науки и техники АПК. 2011. № 8. С. 51–54. EDN: OBGJWR
 24. Харзинова В.Р., Карпушкина Т.В. Генетическая экспертиза сельскохозяйственных животных на основе анализа микросателлитов // Проблемы и перспективы научно-инновационного обеспечения агропромышленного комплекса регионов: Сб. докл. Междун. научно-практ. конф. Курск, 2019. С. 567–569. EDN: KRPNDO
 25. Rege J.E.O., Lipner M.E. African animal genetic resources: Their characterisation, conservation and utilisation // Proc. Res. Planning Workshop. 1992. P. 19–21.
 26. Spelman R.J. Utilisation of marker assisted selection in the New Zealand dairy industry. A thesis presented in partial fulfilment of the requirements for the degree of master of agricultural sci. in animal breeding and genetics at Massey University. Massey Univ. 1995. P. 1–95.
 27. Танана Л.А., Епишко О.А., Глинская Н.А. STR-локусы в контроле происхождения крупного рогатого скота белорусской черно-пестрой породы // С.-х. журн. 2014. Т. 2. № 7. С. 204–207. EDN: TBISCV
 28. Мохаммад А.А., Бакай А.В. Сравнительная характеристика генетической структуры крупного рогатого скота сирийской породы Шами с голштинской и абердин-ангусской породами // Главный зоотехник. 2019. № 12. С. 23–30. EDN: TYJTOQ
 29. Карымсаков Т.Н., Гладырь Е.А., Нурбаев С.Д. и др. Сравнительная характеристика аллелофонда крупного рогатого скота трех родственных пород черно-пестрого корня, разводимых в Республике Казахстан // Молочное и мясное скотоводство. 2017. № 3. С. 11–14. EDN: YTDPGH
 30. Кузнецов В.М. F-статистики Райта: оценка и интерпретация // Проблемы биологии продуктивных животных. 2014. Т. 4. С. 80–104. EDN: TFRDMN
 31. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А., Коновалова Е.Н. и др. Изучение влияния прилития крови голштинского скота на изменение генофонда крупного рогатого скота отечественных пород с использованием ДНК-микросателлитов // Зоотехния. 2007. № 12. С. 2–4. EDN: JWZSMD
 32. Абдельманова А.С., Волкова В.В., Доцев А.В., Зиновьева Н.А. Характеристика генетического разнообразия современной и архивной популяций крупного рогатого скота черно-пестрой породы с использованием микросателлитных маркеров // Достижения науки и техники АПК. 2020. № 2. С. 34–38.
<https://doi.org/10.24411/0235-2451-2020-10207>
 33. Pamilo P., Nei M. Relationships between gene trees and species trees // Mol. Biol. Evol. 1988. V. 5. № 5. P. 568–583.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040517>
 34. Zhetsky A., Nei M. A simple method for estimating and testing minimum-evolution trees // Mol. Biol. Evol. 1992. V. 9. № 5. P. 945–967.
 35. Nei M., Tajima F., Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data // J. Mol. Evol. 1983. V. 19. № 2. P. 153–170.
<https://doi.org/10.1007/BF02300753>
 36. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Багиров В.А., Брем Г. Динамика биоразнообразия отечественного черно-пестрого скота под воздействием кроссбридинга // Вавил. журн. генетики и селекции. 2015. Т. 19. № 2. С. 72–75. EDN: UCRFNH

Genetic Evaluation of Holstein Cattle Makes Use of Microsatellite DNA Markers

L. A. Kalashnikova^{1, *}, T. B. Ganchenkova¹, N. V. Ryzhova¹, Y. A. Khabibrakhmanova¹,
I. E. Bagal¹, I. Y. Pavlova¹, A. E. Kalashnikov¹

¹*All-Russian Research Institute of Animal Breeding Ministry of Agriculture of Russian Federation,
Moscow region, Lesnye Polyany, 141212 Russia*

**e-mail: lakalashnikova@mail.ru*

The results of a research of polymorphism of 12 micro-satellite loci in Holstein cattle from an ordinal number of regions of Russia and external countries were presented. The average number of alleles per locus was 5.43 ± 0.19 , with variation in the range of 4–13 alleles, the average number of effective alleles was 3.26 ± 0.11 . A list of 29 most frequent alleles has been fixed. 22 private alleles were identified, and the frequency of private alleles was 0.004–0.033. It has been demonstrated that the amount of locally alleles in domestic herds is higher than in animals of external selection. The mean level of observed heterozygosity for all loci hold at 0.681 ± 0.017 and varied in the range of 0.65–0.78 for a fixation index of -0.131 ± 0.005 . Genetic length between herds of domestic selection were < 0.074 . It was revealed that groups of cow herds come down into two clusters. The first cluster included animals from three areas of Russia, associated with bulls from Germany and the Netherlands, and the second cluster included individuals from other two provinces closest to the males of Canada, the USA and GB. At once, the oxen of Denmark and Finland founds themselves in a separate cluster. The basis of this work was to evaluate the allele reservoir of Holstein cattle of domestic selection and determine the genetic profile of the breed by STR markers.

Keywords: genetic differentiation, Holstein breed, Holstein-Friesian (black and white), micro-satellites, markers, breed appurtenance.