

Перевод на английский язык <https://vavilov.elpub.ru/jour>

Оценка генетического разнообразия и филогенетических отношений черно-пестрого скота Новосибирской области с использованием микросателлитных маркеров

Р.Б. Айтназаров, Т.М. Мишакова, Н.С. Юдин 


Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
 yudin@bionet.nsc.ru

Аннотация. В настоящее время известно более 1000 аборигенных пород крупного рогатого скота, которые хорошо приспособлены к местным условиям среды благодаря длительной адаптации и селекции. Крайне актуально выявление генетических вариантов, контролирующих адаптацию местного скота, для переноса этих вариантов в геномы высокопродуктивных глобальных пород. Исследования отдельных популяций внутри одной породы с помощью микросателлитных маркеров позволяют оценить их генетическое разнообразие, родственные взаимоотношения и перспективы их использования для улучшения породы. Черно-пестрая порода – наиболее массовая порода крупного рогатого скота молочного направления на территории России. Однако имеются лишь единичные работы, посвященные изучению генетического разнообразия местных популяций этой породы в отдельных областях России. Целью работы являются: анализ генетического разнообразия популяций черно-пестрого скота Новосибирской области и их сравнение с другими российскими популяциями; идентификация популяций, существенно отличающихся от всех остальных, для их дальнейшего использования в программах по сохранению генетического разнообразия отечественной черно-пестрой породы. Образцы ДНК от 4788 животных черно-пестрой породы из шести племенных хозяйств Новосибирской области были исследованы по 11 микросателлитным маркерам. Значения всех показателей генетической изменчивости достоверно не различались между отдельными популяциями. Приватные аллели были обнаружены в пяти популяциях из шести. В пяти популяциях коэффициент инбридинга F_{IS} был достоверно ниже нуля, что говорит об избытке гетерозигот. Результаты теста распределения по популяциям, анализа методом главных компонент, анализа показателей F_{ST} и D_{EST} , а также кластерного и филогенетического анализов свидетельствуют о генетической обособленности двух популяций от всех остальных. Таким образом, параметры генетического разнообразия исследованных нами шести популяций черно-пестрого скота Новосибирской области существенно не отличаются от других российских популяций данной породы. В большинстве этих хозяйств наблюдается избыток гетерозигот, что говорит о низкой степени инбридинга. При разработке мероприятий, направленных на сохранение генетического разнообразия отечественного черно-пестрого скота, мы рекомендуем использовать животных из двух популяций, которые по генетическим характеристикам существенно отличаются от других. Ключевые слова: крупный рогатый скот; черно-пестрая порода; Новосибирская область; микросателлит; генетическое разнообразие; сохранение биоразнообразия.

Для цитирования: Айтназаров Р.Б., Мишакова Т.М., Юдин Н.С. Оценка генетического разнообразия и филогенетических отношений черно-пестрого скота Новосибирской области с использованием микросателлитных маркеров. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2021;25(8):831-838. DOI 10.18699/VJ21.096

Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationships in Black Pied cattle in the Novosibirsk Region using microsatellite markers

R.B. Aitnazarov, T.M. Mishakova, N.S. Yudin 

Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia
 yudin@bionet.nsc.ru

Abstract. There are currently over a thousand indigenous cattle breeds well adapted to local habitat conditions thanks to their long history of evolution and breeding. Identification of the genetic variations controlling the adaptation of local cattle breeds for their further introduction into the genome of highly productive global breeds is a matter of great relevance. Studying individual populations of the same breed with the use of microsatellite markers makes it possible to assess their genetic diversity, relationships, and breed improvement potential. Although the Black Pied breed is the most common dairy cattle breed in Russia, there are only a few studies on genetic diversity in local Black Pied populations in some Russian regions. The goal of the present study was to analyze the genetic diversity in Black Pied cattle populations in the Novosibirsk Region and compare them with other Russian populations; to identify significantly di-

vergent populations with a view to preserving them under the programs aimed at maintaining the genetic diversity of the domestic Black Pied breed. DNA samples from 4788 animals of the Black Pied breed from six breeding enterprises in the Novosibirsk Region have been studied using 11 microsatellite markers. No significant differences in genetic variability parameters were found between individual populations. Private alleles have been identified in five out of six populations. Five populations have shown inbreeding coefficient values (F_{IS}) below zero, which indicates heterozygosity excess. The population distribution test, principal component analysis, F_{ST} and D_{EST} values, cluster analysis, and phylogenetic analysis have revealed two populations genetically distinct from the others. Essentially, the genetic diversity parameters of the six studied Black Pied cattle populations from the Novosibirsk Region show no significant differences from other Russian populations of the breed. Excess heterozygosity is observed in most breeding enterprises, which is a sign of a low inbreeding rate. To maintain the genetic diversity of the Russian Black Pied cattle, we recommend focusing on the two populations with significant genetic distinctions from the others.

Key words: cattle; Black Pied breed; Novosibirsk Region; microsatellite; genetic diversity; diversity preservation.

For citation: Aitnazarov R.B., Mishakova T.M., Yudin N.S. Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationships in Black Pied cattle in the Novosibirsk Region using microsatellite markers. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2021;25(8):831-838. DOI 10.18699/VJ21.096

Введение

Известно более 1000 аборигенных пород крупного рогатого скота, хорошо приспособленных к условиям окружающей среды благодаря длительной адаптации и селекции (Buchanan, Lenstra, 2015). Эти породы имеют большую экономическую, научную и культурно-историческую ценность (Столповский, Захаров-Гезехус, 2017). При этом во всем мире активно идет экономически обусловленный процесс вытеснения локальных пород и замещения их несколькими высокопродуктивными глобальными породами (Столповский, 2013). Однако, как правило, эти породы плохо адаптируются к местным условиям обитания и не показывают в полной мере своих выдающихся свойств (Мохов, Шабалина, 2011). Поэтому крайне актуально выявление генетических вариантов, которые контролируют адаптацию местных пород к их среде обитания, для переноса их в геномы высокопроизводительных пород (Madan, 2005). Это позволит создавать новые породы, сочетающие в себе выдающиеся производительные качества и адаптацию для обитания в различных географических районах. Например, недавно у якутского скота нами была обнаружена мутация H100Q в гене *NRAP*, которая, по-видимому, влияет на его адаптацию к экстремально холодным условиям обитания (Buggiotti et al., 2021). Эффективность такого подхода возрастает в связи с обнадеживающими результатами внедрения в животноводство технологии геномного редактирования CRISPR/Cas (Bevacqua et al., 2016; Ikeda et al., 2017).

На территории России черно-пестрая порода – наиболее массовая порода крупного рогатого скота молочного направления (Справочник..., 2013). В настоящее время в Сибирском регионе проводится интенсивная селекционная работа с четырьмя утвержденными внутривидовыми типами черно-пестрого скота (ирменский, приобский, красноярский, прибайкальский), которые хорошо приспособлены к экстремальным климатическим условиям и местным кормам (Клименок и др., 2014). Недавно методом сложного воспроизводительного скрещивания коров черно-пестрой породы с голштинскими быками-производителями в 12 хозяйствах-оригинаторах Западной и Восточной Сибири была выведена новая высокопродуктивная порода молочного направления Сибирячка (Яранцева и др., 2019).

Высокополиморфные микросателлитные локусы широко используют в качестве генетических маркеров в популяционной и природоохранной генетике, для идентификации родства и других целей (Guichoux et al., 2011; Städele, Vigilant, 2016; Галинская и др., 2019). В частности, микросателлиты применяют для анализа происхождения и филогенетических связей местных пород крупного рогатого скота (Olschewsky, Hinrichs, 2021). Исследования отдельных популяций внутри одной породы позволяют оценить их генетическое разнообразие, родственные взаимоотношения и перспективы их использования для улучшения породы (Zsolnai et al., 2014; Agung et al., 2016; Szucs et al., 2019). Однако имеются лишь единичные работы, посвященные изучению генетического разнообразия местных популяций черно-пестрой породы в отдельных областях России (Смарагдов, 2018; Модоров и др., 2021). Новосибирская область в этом отношении остается неизученной.

Цель настоящей работы – анализ генетического разнообразия шести популяций черно-пестрого скота Новосибирской области и их сравнение с другими российскими популяциями, а также идентификация популяций, существенно отличающихся от всех остальных, для использования в программах по сохранению генетического разнообразия отечественной черно-пестрой породы.

Материалы и методы

Материалом для исследования служили образцы крови от 4788 животных черно-пестрой породы крупного рогатого скота обоего пола из шести племенных хозяйств Новосибирской области (далее обозначены как популяции А–F). Для анализа структуры популяций и филогенетических отношений в качестве контроля использовали данные голштинской породы крупного рогатого скота (далее обозначена как популяция HOL) (van de Goor et al., 2011).

Тотальную ДНК выделяли с помощью реагента COrDIS SPRINT (ООО «Гордиз», Москва, Россия) в соответствии с рекомендациями производителя. Полимеразную цепную реакцию 11 микросателлитных маркеров (ETH3, INRA023, TGLA227, TGLA126, TGLA122, SPS115, ETH225, BM2113, BM1824, ETH10, BM1818) проводили с применением набора реагентов COrDIS Cattle (ООО «Гордиз») по протоколу фирмы-изготовителя. Фрагментный

Таблица 1. Параметры генетической изменчивости микросателлитных локусов у черно-пестрой породы крупного рогатого скота Новосибирской области ($N = 4788$)

Локус	N_A	N_E	H_O	H_E	Приватные аллели*
BM1818	7.000 ± 0.447	2.658 ± 0.040	0.648 ± 0.011	0.623 ± 0.005	–
BM1824	5.833 ± 0.307	3.321 ± 0.259	0.726 ± 0.021	0.690 ± 0.024	185
BM2113	7.500 ± 0.500	4.212 ± 0.087	0.808 ± 0.009	0.762 ± 0.005	153
ETH3	7.333 ± 0.333	3.047 ± 0.124	0.733 ± 0.023	0.669 ± 0.013	–
ETH10	8.000 ± 0.258	3.905 ± 0.129	0.777 ± 0.009	0.743 ± 0.009	–
ETH225	6.667 ± 0.333	3.031 ± 0.151	0.681 ± 0.017	0.666 ± 0.015	–
TGLA122	12.833 ± 1.195	5.760 ± 0.165	0.879 ± 0.020	0.826 ± 0.005	139, 145, 179
TGLA126	5.333 ± 0.211	2.348 ± 0.045	0.569 ± 0.006	0.573 ± 0.008	113, 125
TGLA227	9.667 ± 0.211	5.324 ± 0.262	0.864 ± 0.010	0.810 ± 0.009	95, 101
INRA023	7.167 ± 0.477	3.876 ± 0.098	0.776 ± 0.010	0.741 ± 0.006	198, 216
SPS115	6.333 ± 0.211	2.160 ± 0.058	0.554 ± 0.017	0.535 ± 0.013	–
Среднее	7.606 ± 0.281	3.604 ± 0.143	0.729 ± 0.013	0.694 ± 0.011	–

Примечание. Здесь и далее показатель приводится в виде $M \pm m$, где M – среднее арифметическое; m – стандартная ошибка; N_A – среднее число аллелей на локус; N_E – число эффективных аллелей на локус; H_O – наблюдаемая гетерозиготность; H_E – ожидаемая гетерозиготность; * уникальные аллели, характерные только для определенной популяции.

анализ амплификатов выполняли с использованием автоматического генетического анализатора «НАНОФОР-05» (ООО «Синтол», Москва, Россия). Размеры микросателлитных ДНК-маркеров определяли с помощью программы GeneMapper Software 5 (Thermo Fisher Scientific, США).

Показатели генетического разнообразия, F -статистики, тест распределения по популяциям, а также достоверность отклонения распределения генотипов от ожидаемого по равновесию Харди–Вайнберга вычисляли с применением пакета программ GenAlEx 6.5 (Peakall, Smouse, 2012). Аллельное обогащение (Allelic Richness, AR) вычисляли с использованием алгоритма «разряжения» (rarefaction) в программе HP-Rare (Kalinowski, 2005). Парные значения индекса фиксации, F_{ST} , а также проверку достоверности отличий от нуля коэффициента фиксации, F_{IS} , проводили методом бутстрэп-анализа с коррекцией на множественные сравнения в программе FSTAT (Goudet, 2003). Кластерный анализ выполняли с помощью программы STRUCTURE (Hubisz et al., 2009). Достоверность различий показателей между отдельными популяциями оценивали посредством критерия Стьюдента или однофакторного дисперсионного анализа с последующим post hoc тестом по Бонферрони с использованием пакета Statistica версии 8.0.

Филогенетическое дерево было построено с применением метода парного внутригруппового невзвешенного среднего арифметического (UPGMA) на основании генетических дистанций Neя с помощью программы ROPTRREE2 (Takezaki et al., 2010). Статистическую надежность филогенетического дерева оценивали с использованием бутстрэп-анализа для 1000 реплик (Szucs et al., 2019). Достоверными считали узлы, превышающие порог 70 (Лукашов, 2009).

Результаты

Данные анализа генетической изменчивости популяций черно-пестрой породы крупного рогатого скота Новосибирской области представлены в табл. 1. Все микросателлитные локусы оказались высокополиморфными и в целом содержали 105 аллелей. Среднее число аллелей на локус составляло 7.606, эффективное число аллелей на локус – 3.604. Наблюдаемая гетерозиготность (0.729) достоверно не отличалась от ожидаемой (0.694).

Попарные сравнения генетических различий между хозяйствами с помощью точного теста Фишера в программе Генератор показали, что все хозяйства можно рассматривать как отдельные популяции, достоверно различающиеся друг от друга (Приложение 1)¹. Параметры генетической изменчивости в отдельных популяциях приведены в табл. 2. Максимальное (8.455) число аллелей на локус было в популяции А, минимальное (6.273) – в популяции В. Аллельное обогащение и среднее число эффективных аллелей между популяциями варьировали в пределах 6.087 (С) – 6.863 (F) и 3.437 (В) – 3.873 (D) соответственно. Наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность – в пределах от 0.701 (F) до 0.755 (В) и от 0.682 (С) до 0.714 (D) соответственно. Значения всех перечисленных выше показателей достоверно не различались между отдельными популяциями.

Приватные, т. е. уникальные аллели, характерные только для данной популяции животных, были обнаружены в пяти популяциях из шести. В популяциях А–Е коэффициент инбридинга F_{IS} был достоверно ниже нуля. Именно в этих популяциях нами выявлены достоверные отклонения распределения генотипов отдельных локусов

¹ Приложения 1–4 см. по адресу:

<http://www.bionet.nsc.ru/vogis/download/pict-2021-25/appx14.pdf>

Таблица 2. Параметры генетического разнообразия микросателлитных локусов в отдельных популяциях черно-пестрой породы крупного рогатого скота Новосибирской области

Показатель	Популяция					
	A	B	C	D	E	F
Число животных	2408	65	1065	630	459	161
Число аллелей (N_A)	8.455 ± 0.835	6.273 ± 0.524	8.000 ± 1.000	7.818 ± 0.536	7.455 ± 0.562	7.636 ± 0.472
Аллельное обогащение (AR)	6.452 ± 0.422	6.273 ± 0.524	6.087 ± 0.474	6.650 ± 0.409	6.450 ± 0.393	6.863 ± 0.438
Число эффективных аллелей (N_E)	3.611 ± 0.368	3.437 ± 0.340	3.457 ± 0.350	3.873 ± 0.375	3.587 ± 0.325	3.658 ± 0.408
Число приватных аллелей	4	0	3	1	2	1
Число животных с одним и более приватным аллелем	6	0	7	1	5	1
Наблюдаемая гетерозиготность (H_O)	0.724 ± 0.035	0.755 ± 0.035	0.706 ± 0.035	0.749 ± 0.034	0.737 ± 0.032	0.701 ± 0.030
Ожидаемая гетерозиготность (H_E)	0.692 ± 0.032	0.683 ± 0.027	0.682 ± 0.030	0.714 ± 0.030	0.699 ± 0.026	0.696 ± 0.029
Коэффициент инбридинга (F_{IS})	-0.046 ± 0.011*	-0.103 ± 0.016*	-0.032 ± 0.010*	-0.047 ± 0.010*	-0.052 ± 0.016*	-0.007 ± 0.014

* Значение индекса фиксации достоверно ($p < 0.05$) отличается от нуля.

от равновесия Харди–Вайнберга (Приложение 2). При этом наибольшее число (6) таких локусов наблюдалось в популяциях А и D. Распределение генотипов локусов *ETH225* и *TGLA126* соответствовало равновесию Харди–Вайнберга во всех исследованных популяциях.

При проведении теста распределения по популяциям в среднем 45.7 % животных были приписаны правильно (Приложение 3). Однако для популяции В этот показатель составлял 70.8 %, что свидетельствует о значительном отличии этой популяции от всех остальных. Анализ значений F_{ST} с помощью метода главных компонент показал, что популяция В существенно отличалась от всех остальных при разделении по первой компоненте, которая отражала 36.73 % генетической изменчивости всего массива данных (рис. 1). При разделении по второй компоненте, которая отвечала за 27.61 % генетической изменчивости, из общего массива выделялась популяция D.

Наибольшая степень генетической дифференциации как по показателю индекса аллельной дифференциации Джоста, так и по индексу фиксации F_{ST} наблюдалась между популяциями В и D (Приложение 4). Наиболее близкими по обоим показателям оказались популяции А и С.

Результаты анализа с помощью алгоритма генетической кластеризации в программе STRUCTURE при $k = 2$ свидетельствовали о распределении популяций черно-пестрой и голштинской пород между двумя различными кластерами (табл. 3). При этом животные голштинской породы имели наибольшие значения коэффициента подобия Q в одном из кластеров. Значения этого коэффициента для всех популяций черно-пестрого скота, за исключением D, были достоверно ниже по сравнению с голштинской породой.

На филогенетическом дереве, построенном методом UPGMA, на основании генетических дистанций Нея популяции В и D находились на отдельных ветвях с высоким

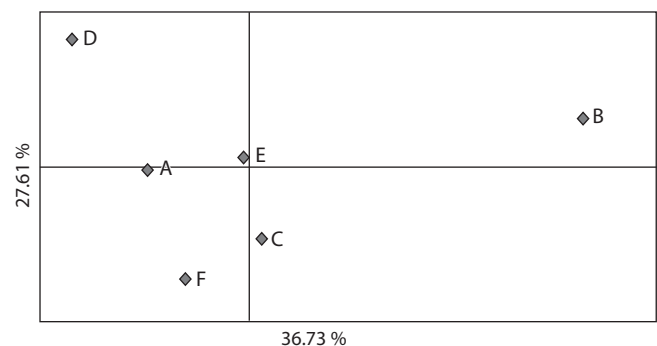


Рис. 1. Результаты анализа значений индекса фиксации F_{ST} методом главных компонент.

По осям приведен процент объясненной дисперсии.

Таблица 3. Результаты кластерного анализа популяций черно-пестрой (А–F) и голштинской (HOL) пород

Популяция	Коэффициент подобия Q	N
A	0.456 ± 0.004*	2408
B	0.507 ± 0.019*	65
C	0.481 ± 0.005*	1065
D	0.604 ± 0.007	630
E	0.549 ± 0.008*	459
F	0.551 ± 0.013*	161
HOL	0.622 ± 0.009	254

Примечание. Приведено значение коэффициента подобия Q (Pritchard et al., 2000), рассчитанного для числа кластеров $k = 2$ (Q1 и Q2). Данные по голштинской породе взяты из работы (van de Goor et al., 2011). * $p < 0.001$ в результате попарного сравнения по критерию Стьюдента с популяцией HOL.

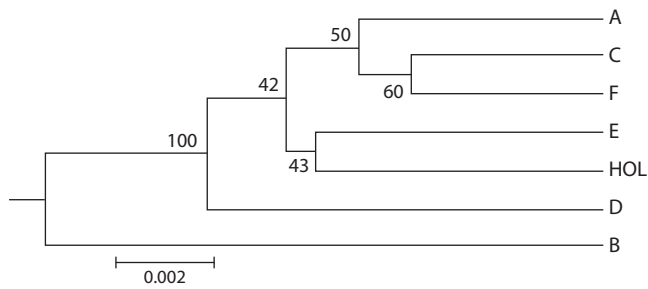


Рис. 2. Филогенетическая дендрограмма генетических взаимоотношений популяций черно-пестрой (A–F) (собственные данные) и голштинской (HOL) (van de Goor et al., 2011) пород.

В узлах указаны значения бутстрэп-анализа.

уровнем статистической надежности (рис. 2). Все остальные популяции, включая контрольную выборку голштинской породы, формировали единый кластер.

Обсуждение

При анализе 11 микросателлитных локусов во всей выборке черно-пестрой породы крупного рогатого скота Новосибирской области нами установлено 105 аллелей. Это значение несколько ниже оценки, полученной при исследовании 13 224 особей голштинизированного черно-пестрого скота Свердловской области (Модоров и др., 2021). В 15 локусах, в том числе использованных нами микросателлитов, авторы обнаружили 164 аллеля, но при этом частота встречаемости 38 из них составляла менее 0.1 %. С другой стороны, исследование 76 животных голштинско-фризской породы из Польши с применением сходного набора локусов (совпадали 10 маркеров из 11) выявило в сумме 76 аллелей (Radko et al., 2005). Наблюдаемые расхождения могут быть связаны с размером выборки и/или числом использованных микросателлитных локусов.

Локус *TGLA122* характеризовался наибольшим средним количеством аллелей на локус (12.833). Сходный показатель по данному локусу (14 аллелей) был найден при исследовании черно-пестрой породы в Псковской области (Аржанкова и др., 2015). Наименьшее (5.333) среднее количество аллелей на локус обнаружено нами в локусе *TGLA126*. Это значение хорошо совпадает с аналогичным параметром у черно-пестрой породы в Свердловской области (7 аллелей, из них 2 аллеля с частотой менее 0.1 %) (Модоров и др., 2021). Наибольшее (5.760) и наименьшее (2.160) число эффективных аллелей было найдено нами в локусах *TGLA122* и *SPS115*, что также хорошо соответствует результатам М.В. Модорова с коллегами (2021). Полученные нами значения наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности (0.729 и 0.694) практически идентичны оценкам, сделанным для черно-пестрого скота в Свердловской области (0.73 и 0.72) (Модоров и др., 2021), но несколько ниже оценок при исследовании быков-производителей этой же породы (0.779 и 0.751) (Зиновьева и др., 2015).

Известно, что случайно выбранных из популяции 25–30 особей достаточно для надежной оценки частот аллелей, ожидаемой гетерозиготности и генетических рас-

стояний (Hale et al., 2012). Размеры выборок в нашем исследовании значительно превосходили этот порог. Анализ с помощью точного теста Фишера показал, что все шесть исследованных выборок можно считать отдельными популяциями (см. Приложение 1), что позволило нам перейти к более детальному анализу генетических различий между ними.

Число эффективных аллелей, аллельное обогащение, наблюдаемую и ожидаемую гетерозиготность широко используют для оценки генетического разнообразия между популяциями, поскольку эти параметры не зависят от численности выборок (Leberg et al., 2002; Галинская и др., 2019). В нашем исследовании эти показатели достоверно не различались между изученными популяциями (см. табл. 2). По-видимому, все исследованные хозяйства в селекционно-племенной работе использовали спермопродукцию из сходных источников.

Наши результаты хорошо согласуются с исследованием 29 стад голштинизированного черно-пестрого скота на территории Свердловской области, в котором 27 стад статистически значимо не различались по значениям генетической дифференциации (Модоров и др., 2021). К сожалению, в работах по мониторингу популяций крупного рогатого скота с применением микросателлитных маркеров внутри одной породы исследователи, как правило, не используют статистические методы для сравнения показателей генетического разнообразия (Глинская, 2013; Кузнецов, 2014; Zsolnai et al., 2014; Agung et al., 2016; Szucs et al., 2019). Приватные аллели были обнаружены нами во всех изученных популяциях, кроме популяции В. Вероятно, это связано с наименьшей численностью животных в этой популяции ($N = 65$). По этому показателю популяции черно-пестрой породы Новосибирской области значительно превосходили черно-пестрый скот Республики Беларусь, в которой приватные аллели были выявлены только в трех из девяти популяций (Глинская, 2013).

Известно, что F_{IS} , коэффициент инбридинга особей в субпопуляциях, может указывать на редукцию гетерозиготности из-за неслучайного спаривания (Кузнецов, 2014). При $F_{IS} > 0$ имеет место дефицит гетерозиготных особей (родственное спаривание), при $F_{IS} < 0$ – избыток гетерозигот (неродственное спаривание), при $F_{IS} = 0$ – случайное спаривание (соответствие распределению Харди–Вайнберга). В нашем исследовании в большинстве популяций (A–E) значения F_{IS} были существенно ниже нуля, что говорит об избытке гетерозигот. Действительно, в популяциях A–E нами были обнаружены достоверные отклонения распределения генотипов отдельных локусов от равновесия Харди–Вайнберга (см. Приложение 2), что хорошо согласуется с приведенным выше результатом. Наиболее вероятная причина наблюдаемого эффекта – применение в этих хозяйствах системы спаривания, направленной на снижение инбридинга (аутбридинг, дисассортативное спаривание и т. д.) (Кузнецов, 2014), хотя не исключено также действие других факторов (конечные размеры популяции, неслучайное скрещивание особей, влияние отбора и др.) (Галинская и др., 2019).

В тесте распределения по популяциям в среднем 45.7 % животных в нашем исследовании были корректно отнесены к их оригинальным группам (см. Приложение 3).

Сходное значение (48 %) было получено при исследовании 16 стад лимузинской породы в Венгрии (Szucs et al., 2019). Однако для популяции В этот показатель составлял 70.8 %, что свидетельствует о существенном отличии этой популяции от всех остальных.

Результаты анализа значений субпопуляционного индекса фиксации F_{ST} с помощью метода главных компонент показывают, что популяции А, С, Е и F формируют компактную группу (см. рис. 1). Значения F_{ST} в пределах этой группы составляли от 0.004 до 0.008 (см. Приложение 4). Популяции В и D удалены от этой группы животных по первой и второй компоненте соответственно. Наибольшее генетическое расстояние, согласно индексу фиксации, наблюдалось между группами В и D и составляло 0.013. Этот диапазон генетических расстояний по F_{ST} хорошо соответствует данным, полученным по однонуклеотидным полиморфизмам с помощью биочипа Illumina BovineSNP50, для шести племенных заводов голштинизированного черно-пестрого скота Ленинградской области (0.002–0.012) (Смарагдов, 2018) и популяций джерсейской породы в США, Канаде и Великобритании (0.006–0.016) (Cooper et al., 2016).

Согласно классификации С. Райта, генетическая дифференциация популяций считается незначительной, если F_{ST} не превышает 0.05 (Wright, 1978). В.М. Кузнецов (2020) считает, что дифференциацию менее 0.01 можно отнести к категории, «не имеющей существенного значения или ничтожной», поэтому интерпретировать ее необходимо с осторожностью. Тем не менее Т.В. Галинская с коллегами (2019) полагают, что «интерпретация величины F_{ST} более сложна, чем простая ссылка на это количественное руководство». По мнению этих авторов, «более важный вопрос заключается в том, можем ли мы обнаружить статистически значимую генетическую дифференциацию ($F_{ST} > 0$) или нет».

С помощью пермутационного теста мы показали, что все найденные оценки F_{ST} достоверны на уровне $p < 0.01$ (см. Приложение 4), что также говорит в пользу генетической обособленности популяций В и D.

Хотя F_{ST} широко используется в качестве показателя генетической дифференциации популяций, его применение для мультиаллельных мультилокусных маркеров, какими являются микросателлиты, часто вызывает критику (Meirmans, Hedrick, 2011; Кузнецов, 2021). Для таких маркеров было предложено несколько альтернативных статистик, в частности показатель аллельной дифференциации Джоста D_{EST} , который основан на изменчивости эффективного числа аллелей (Jost et al., 2018). Считается, что эти два показателя взаимно дополняют друг друга и их следует использовать совместно (Meirmans, Hedrick, 2011; Кузнецов, 2021). В нашем исследовании дистанции D_{EST} достоверно коррелировали с оценками F_{ST} (коэффициент корреляции Пирсона $r = 0.92$, $p < 0.0001$). Генетически наиболее далекими как по индексу фиксации F_{ST} , так и по показателю D_{EST} оказались популяции В и D.

Кластерный анализ выявил распределение исследованных популяций черно-пестрой породы Новосибирской области и референсной популяции голштинской породы между двумя различными кластерами (см. табл. 3), что

подтверждает их генетическое родство (Yurchenko et al., 2018; Юдин, Ларкин, 2019). Значения коэффициента подобия для всех популяций черно-пестрой породы, за исключением D, оказались существенно ниже, чем у голштинов, это свидетельствует о различной доли кровности голштинского скота в исследованных нами популяциях (Зиновьева и др., 2015).

При филогенетическом анализе популяции черно-пестрой породы разделились на три группы (см. рис. 2). Одну группу образовали близкие к голштинской породе популяции А, С, Е и F. Между тем популяции В и D формировали две отдельные ветви с высоким уровнем статистической поддержки. Этот результат подтверждает приведенные выше данные теста распределения по популяциям, анализа методом главных компонент, анализа показателей F_{ST} и D_{EST} , а также кластерного анализа, о генетической обособленности популяций В и D.

Считается, что при сохранении породы в качестве потенциального материала для последующего использования в селекции очень важно сберечь весь ее генофонд, поскольку в большинстве случаев нам неизвестно, какими именно генами или их сочетаниями определяются хозяйственно важные свойства породы (Столповский, 2013; Столповский, Захаров-Гезехус, 2017). По мнению этих же авторов, задача программ по сохранению биоразнообразия заключается «в поддержании разнообразия аллелей, имеющихся в настоящее время у вида (породы), а также в поддержании нормального накопления и потенциального сохранения вновь возникающих мутантных аллелей – источника постоянной эволюции животных и их усовершенствования».

В нашем исследовании результаты теста распределения по популяциям, анализа методом главных компонент, анализа показателей F_{ST} и D_{EST} , а также кластерного и филогенетического анализов свидетельствуют о генетической обособленности двух популяций, В и D, от всех остальных. Исходя из вышеизложенного, для сохранения генофонда черно-пестрой породы нужно использовать в первую очередь животных именно этих популяций.

Заключение

Таким образом, параметры генетического разнообразия исследованных нами шести популяций черно-пестрого скота Новосибирской области существенно не отличаются от других российских популяций данной породы. В большинстве этих хозяйств наблюдается избыток гетерозигот, что говорит о низкой степени инбридинга. При разработке мероприятий, направленных на сохранение генетического разнообразия отечественного черно-пестрого скота, мы рекомендуем использовать животных из двух популяций, которые по генетическим характеристикам существенно отличаются от всех остальных.

Список литературы / References

- Аржанкова Ю.В., Мосачихина И.А., Харитонов А.В. Генетические особенности черно-пестрого и помесного крупного рогатого скота по микросателлитным локусам. *Изв. Велюколу. гос. с.-х. академии*. 2015;1:7-11.
[Arzhankova Yu. V., Mosachikhina I. A., Kharitonov A. V. Genetic features of Black Pied and cross-breeding cattle by microsatellite loci.

- Izvestiya Velikolukskoy Gosudarstvennoy Sel'skokhozyaystvennoy Akademii = Bulletin of the Velikie Luki State Agricultural Academy.* 2015;1:7-11. (in Russian)]
- Галинская Т.В., Щепетов Д.М., Лысенков С.Н. Предубеждения о микросателлитных исследованиях и как им противостоять. *Генетика.* 2019;55(6):617-632. DOI 10.1134/S0016675819060043.
[Galinskaya T.V., Schepetov D.M., Lysenkov S.N. Prejudices against microsatellite studies and how to resist them. *Russ. J. Genet.* 2019;55(6):657-671. DOI 10.1134/S1022795419060048].
- Глинская Н.А. Анализ генетической дифференциации популяций крупного рогатого скота черно-пестрой породы белорусской селекции по STR-локусам. *Вестн. Полес. гос. ун-та.* 2013;2: 21-26.
[Glinskaya N.A. The STR analysis of genetic differentiation in Black-Pied cattle populations bred in Belarus. *Vestnik Poleskogo Gosudarstvennogo Universiteta = Bulletin of the Polesky State University.* 2013;2:21-26. (in Russian)].
- Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А., Багиров В.А., Брем Г. Динамика биоразнообразия отечественного черно-пестрого скота под воздействием кроссбридинга. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2015;19(2):222-225.
[Zinovieva N.A., Gladyr E.A., Bagirov V.A., Brem G. Dynamics of the biodiversity of Black and White cattle influenced by crossbreeding. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2015;19(2):222-225. (in Russian)].
- Клименок И.И., Яранцева С.Б., Шишкина М.А. Продуктивные и племенные качества черно-пестрого скота Сибирского региона. *Генетика и разведение животных.* 2014;2:30-33.
[Klimenok I.I., Yaranceva S.B., Shishkina M.A. Productive and breeding qualities of black and motley cattle Siberian region. *Genetika i Razvedeniye Zhivotnykh = Genetics and Breeding of Animals.* 2014;2:30-33. (in Russian)]
- Кузнецов В.М. F-статистики Райта: оценка и интерпретация. *Проблемы биологии продуктивных животных.* 2014;4:80-104.
[Kuznetsov V.M. Wright's F-statistics: evaluation and interpretation. *Problemy Biologii Produktivnykh Zhivotnykh = Problems of Productive Animal Biology.* 2014;4:80-104. (in Russian)]
- Кузнецов В.М. Методы Нея для анализа генетических различий между популяциями. *Проблемы биологии продуктивных животных.* 2020;1:91-110. DOI 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.1.91-110.
[Kuznetsov V.M. Nei's methods for analyzing genetic differences between populations. *Problemy Biologii Produktivnykh Zhivotnykh = Problems of Productive Animal Biology.* 2020;1:91-110. DOI 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2020.1.91-110. (in Russian)]
- Кузнецов В.М. Оценка генетической дифференциации популяций молекулярным дисперсионным анализом (аналитический обзор). *Аграр. наука Евро-Северо-Востока.* 2021;22(2):167-187. DOI 10.30766/2072-9081.2020.21.2.167-187.
[Kuznetsov V.M. Assessment of genetic differentiation of populations by analysis of molecular variance (analytical review). *Agrarnaya Nauka Evro-Severo-Vostoka = Agricultural Science Euro-North-East.* 2021;22(2):167-187. DOI 10.30766/2072-9081.2020.21.2.167-187. (in Russian)]
- Лукашов В.В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ. М.: Бином. Лаборатория знаний, 2009.
[Lukashov V.V. Molecular Evolution and Phylogenetic Analysis. Moscow: Binom Publ., 2009. (in Russian)]
- Модоров М.В., Ткаченко И.В., Грин А.А., Севостьянов М.Ю., Зезин Н.Н. Генетическая структура популяции голштинизированного черно-пестрого скота на территории Урала. *Генетика.* 2021;57(4):437-444. DOI 10.31857/S001667582104010X.
[Modorov M.V., Tkachenko I.V., Grin A.A., Sevost'yanov M.Yu., Zezin N.N. Population genetic structure of Ural Black Pied cattle. *Russ. J. Genet.* 2021;57(4):453-459. DOI 10.1134/S1022795421040104.]
- Мохов Б.П., Шабалина Е.П. Влияние наследственности и экогенеза на адаптацию и молочную продуктивность коров. *Вестн. Ульян. гос. с.-х. академии.* 2011;2(14):90-96.
[Mokhov B.P., Shabalina E.P. Influence of heredity and ecogenesis for adaptation and productivity of dairy cows. *Izvestiya Ul'yanskoj Gosudarstvennoy Sel'skokhozyaystvennoy Akademii = Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy.* 2011;2(14):90-96. (in Russian)]
- Смарагдов М.Г. Полногеномная оценка межстадного генетического различия крупного рогатого скота. *Достижения науки и техники АПК.* 2018;32(4):47-49. DOI 10.24411/0235-2451-2018-10411.
[Smaragdov M.G. Genome wide assessment of inter-herd genetic differences of cattle. *Dostizheniya Nauki i Tekhniki APK = Achievements of Science and Technology of AIC.* 2018;32(4):47-49. DOI 10.24411/0235-2451-2018-10411. (in Russian)]
- Справочник пород и типов сельскохозяйственных животных, разводимых в Российской Федерации. Словарь терминов по разведению, генетике, селекции и биотехнологии разведения сельскохозяйственных животных. Перечень российских и международных организаций в сфере животноводства. М.: ВНИИплем, 2013.
[Breeds and Types of Farm Animals in the Russian Federation. Dictionary of Terms Concerning the Industry, Genetics, Breeding, and Reproduction Technology of Farm Animals. List of Russian and International Organizations in the Field of Animal Husbandry. Moscow: All-Russia Research Institute of Animal Breeding, 2013. (in Russian)]
- Столповский Ю.А. Популяционно-генетические основы сохранения генофондов domestцированных видов животных. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2013;17(4/2):900-915.
[Stolpovskiy Yu.A. Population genetics studies underlying preservation of domesticated animal species gene pools. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2013;17(4/2):900-915. (in Russian)]
- Столповский Ю.А., Захаров-Гезехус И.А. Проблема сохранения генофондов domestцированных животных. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2017;21(4):477-486. DOI 10.18699/VJ17.266.
[Stolpovskiy Yu.A., Zakharov-Gezekhus I.A. The problem of conservation of gene pools of domesticated animals. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2017;21(4):477-486. DOI 10.18699/VJ17.266. (in Russian)]
- Юдин Н.С., Ларкин Д.М. Происхождение, селекция и адаптация российских пород крупного рогатого скота по данным полногеномных исследований. *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2019;23(5):559-568. DOI 10.18699/VJ19.525.
[Yudin N.S., Larkin D.M. Whole genome studies of origin, selection and adaptation of the Russian cattle breeds. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2019;23(5):559-568. DOI 10.18699/VJ19.525. (in Russian)]
- Яранцева С.Б., Герасимчук Л.Д., Шишкина М.А. Новая порода крупного рогатого скота молочного направления Сибирячка. *Сиб. вестн. с.-х. науки.* 2019;49(6):62-70. DOI 10.26898/0370-8799-2019-6-7.
[Yarantseva S.B., Gerasimchuk L.D., Shishkina M.A. New breed of dairy cattle Sibir'yachka. *Sibirskii Vestnik Sel'skokhozyaystvennoy Nauki = Siberian Herald of Agricultural Science.* 2019;49(6): 62-70. DOI 10.26898/0370-8799-2019-6-7. (in Russian)]
- Agung P.P., Saputra F., Septian W.A., Lusiana Zein M.S., Sulandari S., Anwar S., Wulandari A.S., Said S., Tappa B. Study of genetic diversity among Simmental cross cattle in West Sumatra based on microsatellite markers. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 2016;29(2): 176-183. DOI 10.5713/ajas.15.0155.
- Bevacqua R.J., Fernandez-Martín R., Savy V., Canel N.G., Gismondi M.I., Kues W.A., Carlson D.F., Fahrenkrug S.C., Niemann H., Taboga O.A., Ferraris S., Salamone D.F. Efficient edition of the bo-

- vine PRNP prion gene in somatic cells and IVF embryos using the CRISPR/Cas9 system. *Theriogenology*. 2016;86(8):1886-1896.e1. DOI 10.1016/j.theriogenology.2016.06.010.
- Buchanan D.S., Lenstra J.A. Breeds of cattle. In: Garrick D.J., Ruvinsky A. (Eds.) *The Genetics of Cattle*. 2nd ed. CABI: Wallingford, UK, 2015;33-66. DOI 10.1079/9781780642215.0033.
- Buggiotti L., Yurchenko A.A., Yudin N.S., Vander Jagt C.J., Vorobieva N.V., Kusliy M.A., Vasiliev S.K., Rodionov A.N., Boronetskaya O.I., Zinovieva N.A., Graphodatsky A.S., Daetwyler H.D., Larkin D.M. Demographic history, adaptation, and NRAP convergent evolution at amino acid residue 100 in the world northernmost cattle from Siberia. *Mol. Biol. Evol.* 2021;38(8):3093-3110. DOI 10.1093/molbev/msab078.
- Cooper T.A., Eaglen S.A.E., Wiggans G.R., Jenko J., Huson H.J., Morrice D.R., Bichard M., Luff W.G.L., Woolliams J.A. Genomic evaluation, breed identification, and population structure of Guernsey cattle in North America, Great Britain, and the Isle of Guernsey. *J. Dairy Sci.* 2016;99(7):5508-5515. DOI 10.3168/jds.2015-10445.
- Goudet J. Fstat (ver. 2.9.4). a program to estimate and test population genetics parameters. 2003. Available from: <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Guichoux E., Lagache L., Wagner S., Chaumeil P., Léger P., Lepais O., Lepoittevin C., Malausa T., Revardel E., Salin F., Petit R.J. Current trends in microsatellite genotyping. *Mol. Ecol. Resour.* 2011; 11(4):591-611. DOI 10.1111/j.1755-0998.2011.03014.x.
- Hale M.L., Burg T.M., Steeves T.E. Sampling for microsatellite-based population genetic studies: 25 to 30 individuals per population is enough to accurately estimate allele frequencies. *PLoS One*. 2012; 7(9):e45170. DOI 10.1371/journal.pone.0045170.
- Hubisz M.J., Falush D., Stephens M., Pritchard J.K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Mol. Ecol. Resour.* 2009;9(5):1322-1332. DOI 10.1111/j.1755-0998.2009.02591.x.
- Ikeda M., Matsuyama S., Akagi S., Ohkoshi K., Nakamura S., Minabe S., Kimura K., Hosoe M. Correction of a disease mutation using CRISPR/Cas9-assisted genome editing in Japanese Black cattle. *Sci. Rep.* 2017;7(1):17827. DOI 10.1038/s41598-017-17968-w.
- Jost L., Archer F., Flanagan S., Gaggiotti O., Hoban S., Latch E. Differentiation measures for conservation genetics. *Evol. Appl.* 2018; 11(7):1139-1148. DOI 10.1111/eva.12590.
- Kalinowski S.T. HP-Rare: a computer program for performing rarefaction on measures of allelic diversity. *Mol. Ecol. Notes*. 2005;5(1): 187-189. DOI 10.1111/j.1471-8286.2004.00845.x.
- Leberg P.L. Estimating allelic richness: effects of sample size and bottle-necks. *Mol. Ecol.* 2002;11(11):2445-2449. DOI 10.1046/j.1365-294x.2002.01612.x.
- Madan M.L. Animal biotechnology: applications and economic implications in developing countries. *Rev. Sci. Tech.* 2005;24(1):127-139. DOI 10.20506/rst.24.1.1555.
- Meirmans P.G., Hedrick P.W. Assessing population structure: F_{ST} and related measures. *Mol. Ecol. Resour.* 2011;11(1):5-18. DOI 10.1111/j.1755-0998.2010.02927.x.
- Olschewsky A., Hinrichs D. An overview of the use of genotyping techniques for assessing genetic diversity in local farm animal breeds. *Animals (Basel)*. 2021;11(7):2016. DOI 10.3390/ani11072016.
- Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update. *Bioinformatics*. 2012;28(19):2537-2539. DOI 10.1093/bioinformatics/bts460.
- Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*. 2000;155(2):945-959.
- Radko A., Zyga A., Zabek T., Słota E. Genetic variability among Polish Red, Hereford and Holstein-Friesian cattle raised in Poland based on analysis of microsatellite DNA sequences. *J. Appl. Genet.* 2005; 46(1):89-91.
- Städele V., Vigilant L. Strategies for determining kinship in wild populations using genetic data. *Ecol. Evol.* 2016;6(17):6107-6120. DOI 10.1002/ece3.2346.
- Szucs M., Szabó F., Bán B., Józsa C., Rózsa L., Zsolnai A., Anton I. Assessment of genetic diversity and phylogenetic relationship of Limousin herds in Hungary using microsatellite markers. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 2019;32(2):176-182. DOI 10.5713/ajas.18.0164.
- Takezaki N., Nei M., Tamura K. POPTREEW: web version of POP-TREE for constructing population trees from allele frequency data and computing some other quantities. *Mol. Biol. Evol.* 2014; 31(6):1622-1624. DOI 10.1093/molbev/msu093.
- van de Goor L.H., Koskinen M.T., van Haeringen W.A. Population studies of 16 bovine STR loci for forensic purposes. *Int. J. Legal. Med.* 2011;125(1):111-119. DOI 10.1007/s00414-009-0353-8.
- Wright S. *Evolution and the Genetics of Population*. Vol. 4. Variability within and Among Natural Populations. Chicago: Univ. Chicago Press, 1978.
- Yurchenko A., Yudin N., Aitnazarov R., Plyusnina A., Brukhin V., Soloshenko V., Lhasaranov B., Popov R., Paronyan I.A., Plemyshev K.V., Larkin D.M. Genome-wide genotyping uncovers genetic profiles and history of the Russian cattle breeds. *Heredity*. 2018; 120(2):125-137. DOI 10.1038/s41437-017-0024-3.
- Zsolnai A., Kovács A., Anton I., Rátky J., Brüssow K.P., Józsa C., Bán B., Gyurmán A. Comparison of different Hungarian Grey herds as based on microsatellite analysis. *Anim. Sci. Pap. Rep.* 2014; 32(2):121-130.

ORCID ID

R.B. Aitnazarov orcid.org/0000-0001-6929-7648
N.S. Yudin orcid.org/0000-0002-1947-5554

Благодарности. Исследование выполнено при поддержке бюджетного проекта № 0259-2021-0015.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 06.09.2021. После доработки 17.10.2021. Принята к публикации 17.10.2021.