

УДК 636.13.082.2: 575 (571.513)

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ПАСПОРТИЗАЦИЯ ХАКАССКОЙ ЛОШАДИ ПО МАРКЕРАМ ЯДЕРНОЙ И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК

GENETIC CERTIFICATION OF THE KHAKASSKAYA HORSE BY MARKERS OF NUCLEAR AND MITOCHONDRIAL DNA

Храброва Л.А.¹, Блохина Н.В.¹, Коломеец Ю.Ю.², Гавриличева И.С.¹

¹ФГБНУ «ВНИИ коневодства»;

²Управление Россельхознадзора по Республикам Хакасия и Тыва и Кемеровской области - Кузбассу

Аннотация

В статье представлены результаты тестирования 43 хакасских лошадей по 17 локусам микросателлитов ДНК и гаплогруппам мтДНК. В популяции хакасских лошадей была выявлена значительная вариабельность микросателлитных локусов (141 аллель) и сравнительно высокий уровень генетического разнообразия ($A_e = 4,51$; $H_o = 0,751$). Секвенирование контрольного участка D-петли мтДНК (530 п.н) показало наличие 9 гаплогрупп при высоком уровне вариабельности гаплотипов. Были рассчитаны наиболее высокие коэффициенты генетического сходства хакасских лошадей с тувинской, башкирской и бурятской породами лошадей.

Ключевые слова: биоразнообразие, генетическая структура, микросателлиты, гаплогруппы мтДНК, хакасская лошадь

Summary

The article presents the results of testing of 43 Khakasskaya horses on 17 loci of DNA microsatellites and mtDNA haplogroups. A significant variability of microsatellite loci (141 alleles) and a relatively high level of genetic diversity ($A_e = 4.51$; $H_o = 0.751$) were revealed in the population of Khakasskaya horses. Sequencing of the control section of the mtDNA D-loop (530 bp) showed the presence of 9 haplogroups with a high level of haplotype variability. High coefficients of genetic similarity of Khakasskaya horses with Tuvinskaya, Bashkirskaya and Buryatskaya horse breeds were calculated.

Key words: biodiversity, genetic structure, microsatellites, mtDNA haplogroups, Khakasskaya horse

Введение. Изучение генетической структуры пород лошадей по локусам микросателлитов и гаплотипам мтДНК позволяет не только эффективно проводить экспертизу происхождения, но и оценивать степень их биоразнообразия, филогенетические отношения и пути микроэволюции. Молекулярно-генетические методы существенно расширили наши знания о генетических особенностях пород, их родственных связях и процессах пороодообразования [1], [3], [5], [6], [7], [11], [13]. Стандартизация методов типирования ДНК лошадей позволяет унифицировать ДНК-сертификаты разных лабораторий и проводить паспортзацию конских пород в сопоставимом формате [18].

Изучение полиморфизма ядерного и митохондриального геномов у лошадей отечественных пород выявило достаточно высокий уровень генетического разнообразия даже в малочисленных популяциях, насчитывающих 200-300 маток [6], [13], [20]. ДНК-маркеры подтвердили свою эффективность при оценке внутривидового генетического разнообразия на уровне популяций, линий и маточных семейств, характеризующего степень дифференциации генеалогической структуры пород [5], [8], [10], [16].

Изучение матричной структуры отечественных пород лошадей началось сравнительно недавно [3], [5], [12], [16]. Изучение вариабельности D-петли мтДНК у аборигенных пород Сибири, включая бурятскую, забайкальскую, тувинскую и якутскую [14], [15], выявило широкий спектр гаплотипов и несколько дополнительных уникальных гаплогрупп, не встречающихся в европейских популяциях [9], [12].

Современная хакасская лошадь, наряду с чертами аборигенности, несет в себе признаки улучшения заводскими породами, универсальна в использовании и прекрасно

приспособлена к суровым природным условиям Южной Сибири. История хакасской лошади насчитывает несколько тысячелетий и тесно связана с судьбой самого региона, где коневодство всегда играло важную роль в жизни местного населения. Еще во времена тагарской культуры (VIII – II вв. до н.э.) лошадей стали разводить не только для получения мяса, но и как основное транспортное средство. Лошадей запрягали в четырёхколёсные телеги и двухколёсные повозки, в войнах использовали боевые колесницы с парной конной упряжкой [2].

На рубеже II вв. до н.э. территория западной и южной Сибири была захвачена пришедшими из Китая гуннами, правление которых длилось почти два века. В I-V вв. новой эры древние хакасы (кыргызы) занимались разведением лошадей разных пород, в том числе великолепных резвых скакунов, которые поступали в Китай в качестве подарков императору и для продажи [4]. Нашествие Чингисхана в XIII в. привело к монголизации как европеоидного населения Хакасии, так и местного поголовья лошадей.

Академик П.С. Паллас, изучавшего Хакасию в 1771 – 1772 гг. свидетельствует, что большую часть поголовья составляли невысокие лошади, имевшие длинную жёсткую шерсть, выносливые и неприхотливые, с большим разнообразием мастей. Кроме них существовали ещё две разновидности: скакуны, выращиваемые специально для состязаний, и крепкие мощные лошади, способные преодолевать большие пространства с тяжёлыми вьюками.

Богатые пастбища Хакасии способствовали развитию коневодства. В середине XIX века в Минусинском округе стали появляться конезаводы и конефермы, в которых использовали жеребцов чистокровной верховой, орловской рысистой и кузнецкой пород. Тенденция улучшения мест-

РЕГИОНАЛЬНОЕ КОНЕВОДСТВО

Табл.1. Генетические параметры популяции хакасской лошади по 17-ти локусам микросателлитов ДНК

Локус	N	Na	Ae	Ho	He	Fis
VHL20	43	9	6,476	0,837	0,846	0,010
HTG4	43	7	2,944	0,651	0,660	0,014
AHT4	42	7	4,506	0,714	0,778	0,082
HMS7	42	6	3,246	0,714	0,692	-0,032
HTG6	43	6	2,747	0,651	0,636	-0,024
AHT5	43	8	5,223	0,860	0,809	-0,064
HMS6	42	6	3,524	0,786	0,716	-0,097
ASB23	41	11	6,047	0,878	0,835	-0,052
ASB2	41	9	5,362	0,854	0,814	-0,049
HTG10	43	10	4,840	0,791	0,793	0,003
HTG7	43	4	2,864	0,674	0,651	-0,036
HMS3	42	8	3,864	0,762	0,741	-0,028
HMS2	42	10	5,504	0,762	0,818	0,069
ASB17	43	13	5,861	0,791	0,829	0,047
LEX3	42	10	6,877	0,690	0,855	0,192
HMS1	42	7	3,047	0,595	0,672	0,114
CA425	42	10	3,769	0,762	0,735	-0,037
В среднем		8,294	4,512	0,751	0,758	0,007

ного поголовья заводскими породами наблюдалась и в дальнейшем. На начало 80-х годов прошлого века в хозяйствах Хакасии насчитывалось более 4 тыс. голов лошадей с табунным содержанием, а среди племенного поголовья преобладали орловские и русские рысаки. В дальнейшем для повышения живой массы табунных лошадей были использованы и жеребцы-производители тяжелоупряжных пород.

Благодаря генетическому тестированию хакасских лошадей по полиморфным системам белков и локусам микросателлитов ДНК, впервые проведенному в 2009-2011 годах, в обследованной группе животных был выявлен достаточно высокий уровень генетического разнообразия [7]. Генетические исследования хакасской лошади, продолженные в 2021 году, существенно дополнили информацию о ее геноме.

Цель исследований: изучение полиморфности микросателлитных локусов и вариативности последовательности D-петли мтДНК у хакасских лошадей. Главной задачей была паспортизация генетической структуры популяции хакасской лошади по маркерам ядерного и митохондриального генома.

Материалы и методы исследований. Для анализа ДНК были отобраны пробы и волос 43 наиболее типичных местных лошадей из фермерских хозяйств 4 районов Хакасии. Выделенную ДНК амплифицировали с праймерами CoDIS S550 (ООО «ГОРДИЗ», г. Москва). Все анализы, включая электрофорез и детекцию продуктов амплификации, проводили в лаборатории генетики Всероссийского НИИ коневодства на генетическом анализаторе ABI 3130 («Applied Biosystems», USA) согласно протоколу производителя.

При характеристике генетических параметров популяционной структуры учитывали общее число аллелей (Na), среднее число аллелей на локус (MNA), эффективное число аллелей (Ae), степень наблюдаемой (Ho) и ожидаемой (He) гетерозиготности. Генетические различия между породами оценивали с учетом коэффициентов генетического сходства и генетических дистанций между ними по Nei [17] Обработку данных проводили на базе программ Excel 2010, Statistica 12 v.10 и FSTAT 1.2.

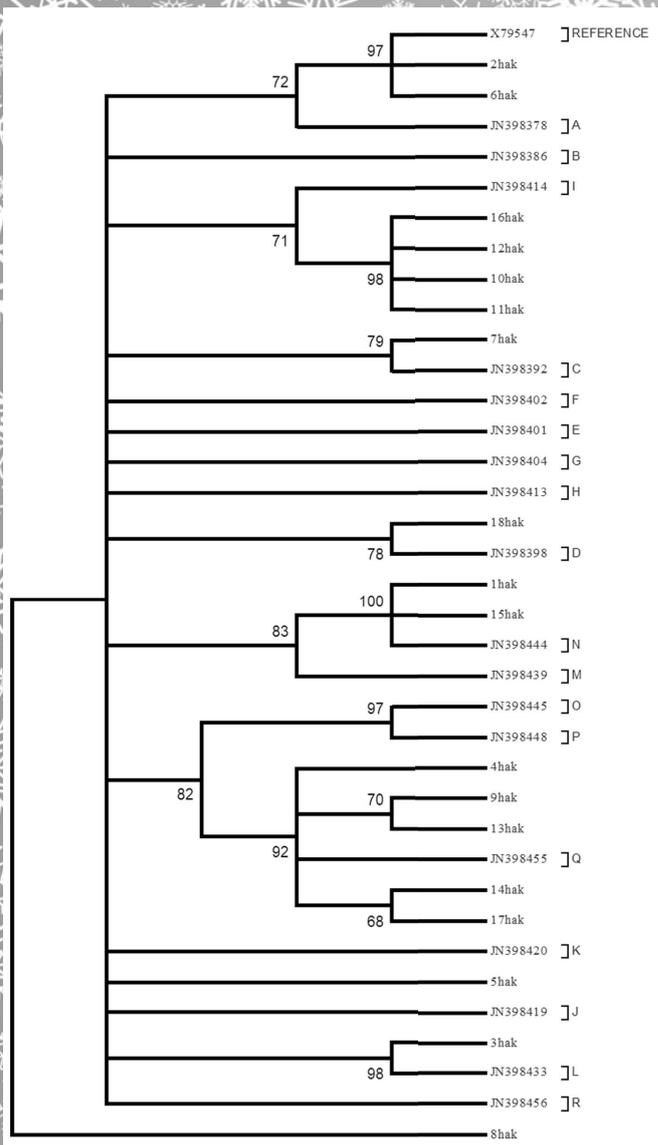


Рис. 1. Дендрограмма гаплогрупп мтДНК хакасских лошадей, построенная по методу Neighbor-Joining при бутстреп-поддержке >70%.

Перед анализом контрольного участка D-петли мтДНК выделенную ДНК очищали и амплифицировали по методу С.И. Сорокина [5] в соответствии с референсной последовательностью ископаемой шведской лошади X79547 [19]. Секвенирование амплифицированной ДНК проводили в лаборатории ООО «Генетика», г. Москва с использованием набора BigDyeTM Terminator Cycle Sequencing Kit (PE Applied Biosystems, USA) на анализаторе ABI 3130xl (PE Applied Biosystems, USA). Анализ нуклеотидных последовательностей D-петли мтДНК проводили с использованием базы данных GenBank по 18 базовым гаплогруппам (A-R), с номерами доступа JN398377-JN398457). При филогенетическом анализе контрольного участка мтДНК с 15471 по 16000 основание использовали модель максимального комплексного правдоподобия и 70% уровень бутстреп-поддержки достоверности построения дерева на базе программ BioEdit 7.2.1 и MEGA7.

Результаты исследований и обсуждение. При тестировании хакасских лошадей по 17-ти STR локусам был определен широкий спектр аллелей (141), что свидетельствует о достаточно высоком уровне вариативности микросателлитной ДНК в этой популяции. Число аллелей в локусах варьировало от 6 до 13, наибольшее число вари-

антов было представлено в локусах ASB17 (13), ASB23 (11), HTG10 и CA425 (10). Для генетической структуры популяции хакасских лошадей была характерна высокая частота встречаемости аллелей АНТ4О (0,396), ASB2М (0,261), (0,708), HTG10О (0,400), HMS2Н (0,396), LEX3Р (0,208) и VHL20М (0,220). В генотипах хакасских лошадей были выявлены редкие аллели АНТ5Р и ASB23М, не встречающиеся у лошадей Западной Европы [18].

Число эффективных аллелей в микросателлитных локусах (A_e) менялось в широком диапазоне от 1,861 (HTG6) до 6,972 (ASB17), при среднем значении 4,512 (табл. 1). В большинстве локусов наблюдался положительный баланс гетерозиготных генотипов, при среднем значении F_{is} близком к нулю (0,007). Оценка генетико-популяционных параметров хакасских лошадей свидетельствует о сравнительно высоком уровне разнообразия и генетической дифференциации обследованной популяции от других заводских и местных пород. Наиболее высокие коэффициенты генетического сходства были установлены между хакасскими и тувинскими (0,915), а также хакасскими и бурятскими лошадьми (0,865), занимающими соседние регионы.

Изучение полиморфизма гипервариабельного региона D-петли мтДНК у хакасских лошадей показало широкую индивидуальную вариабельность гаплотипов, восходящих к гаплогруппам А, С, D, I, J, L, N и Q по классификации Achilli et al. [9]. Дополнительно к этому у хакасских лошадей была обнаружена дополнительная гаплогруппа Y, также встречающаяся у лошадей бурятской и

вятской пород (Рис. 1).

Контрольный участок митохондриального генома хакасских лошадей размером 530 п.н. включал 29 нуклеотидных замен, представленных как транзициями (15), так и трансверсиями (14), при этом коэффициент нуклеотидных замен R_{si}/sv составил 1,07. Среднее число замен на сайт достигло $0,055 \pm 0,0018$, что указывает на сравнительно высокий уровень индивидуального разнообразия в этой популяции.

С помощью кластерного анализа было установлено, что контрольная последовательность мтДНК двух лошадей, относящиеся к гаплогруппе А, имела близкое родство с ископаемой шведской лошадью, представленной референсной последовательностью Х79547 [19]. В матричной структуре хакасских лошадей преобладали гаплогруппы Q (27,8%), I (22,2%), А и N (11,1%), указывающие на наличие европейских и азиатских корней в их происхождении.

Заключение. Проведенный молекулярно-генетический анализ хакасских лошадей с использованием 17-ти микросателлитных локусов и мтДНК свидетельствует о достаточно высоком уровне геномного разнообразия в популяции, уникальности ее генетической структуры. При наибольшем генетическом сходстве хакасских лошадей с тувинской, башкирской и бурятской породами (0,915-0,865) изученная популяция лошадей заметно отличалась от других заводских и местных пород.

Источники

1. Блохина, Н.В. Генетическая характеристика лошадей рысистых пород по микросателлитным локусам ДНК / Н.В. Блохина, И.С. Гавриличева // *АгроЗooТехника*. - 2020. - Т. 3, № 4. - С. 3.
2. Бутанаев, В.Я. История енисейских кыргызов / В.Я.Бутанаев, Ю.С.Худяков. – Абакан: Изд-во Хакас. гос. ун-та им. Н.Ф. Катанова, 2000. – С.116 – 117.
3. Воронкова, В.Н. Оценка генетического разнообразия аборигенных пород Саяно-Алтайского региона с использованием ядерных и митохондриальных ДНК-маркеров / В.Н. Воронкова, Ю.А. Столповский // *Аборигенное коневодство России: история, современность, перспективы: сб. науч. тр.* - Архангельск, 2018. – С.60-69.
4. История Хакасии с древнейших времен до 1917 г. – М.: Наука. Издат. фирма «Вост. лит-ра», 1993. – 525 с.
5. Сорокин, С.И. Молекулярно-генетический анализ петли митохондриальной ДНК представителей маточных семейств владимирской породы / С.И. Сорокин // *Коневодство и конный спорт*. - 2015. - № 6. - С.27-29.
6. Калашников, В.В. Изучение полиморфизма сателлитной ДНК лошадей заводских и местных пород / В.В.Калашников, Л.А.Храброва, А.М.Зайцев [и др.] // *Доклады РАСХН*. -2010. - № 6. - С.48-50.
7. Храброва, Л.А. Происхождение и генетические особенности хакасской лошади / Л.А. Храброва, Л.В. Калинкова, Н.Ю. Зыкова [и др.] // *Коневодство и конный спорт*. – 2010.- №2. - С.30-32.
8. Храброва, Л.А. Генетический мониторинг чистокровной верховой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК / Л.А. Храброва, Н.В. Блохина // *Генетика и разведение животных*. - 2018.- № 3.- С.11-16.
9. Achilli, A. Mitochondrial genomes from modern horses reveal the major haplogroups that underwent domestication / A. Achilli, A. Olivieri, P. Soares [et al.] // *Proc.National Academy Sci.* - 2012. - Vol.109, №7.- P.2449-2454.
10. Cieslak, M. Origin and history of mitochondrial DNA lineages in domestic horses / M.Cieslak, M.Pruvost, N. Benecke [et al.] // *PLoS One*. - 2010. - Vol. 5, N12. P.e15311. doi 10.1371/journal.pone.0015311.
11. Jansen, T. Mitochondrial DNA and the origin of the domestic horse / T. Jansen, P. Foster, M.A. Levine [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. - 2002. - Vol. 99, Issue 16. – P.10905-10910.
12. Khaudov, A.D. Genetic analysis of maternal and paternal lineages in Kabardian horses by uniparental molecular markers / A.D.Khaudov, A.S.Duduev, Z.A. Kokov [et al.] // *Open Vet. J.* - 2018. - Vol. 8, N 1. – P. 40-46 doi <http://dx.doi.org/10.4314/ovj.v8i1.7>.
13. Khrabrova, L.A. Characterization of genetic horse breeding resources in Russia / L.A.Khrabrova. - Saarbrucken (Germany), 2015. – 59 s.
14. Khrabrova, L. A. Variability of mitochondrial DNA D-loop sequences in Zabaikalskaya horse breed / L.A. Khrabrova, N.V. Blohina, B.Z. Bazon, T.N. Khamiruev // *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. - 2021. -Vol. 25, №5. - С. 486-491.
15. Khrabrova, L. A. Assessment of mtDNA variability and phylogenetic relationships of Siberian local horse breeds / L.A. Khrabrova, N.V. Blohina, R.B. Chysyma, B.Z. Bazon, T.N. Khamiruev // // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. - 2021. – Vol.830. – С.052009. doi:10.1088/1755-1315/839/5/052009
16. McGahern, A. Evidence for biogeographic patterning of mitochondrial DNA in Eastern horse populations/A. McGahern, M.A.M. Bower, C.J. Edwards [et al.] // *Animal Genetics*. - 2006. - Vol.37, N 5. – P.494-497.
17. Nei, M. *Molecular evolutionary genetics* / M.Nei. - N. Y.: Columbia Univ. press, 1987. - 512 p.

РЕГИОНАЛЬНОЕ КОНЕВОДСТВО

18. Van de Goor L.H.P. A proposal for standardization in forensic equine DNA typing: allele nomenclature for equine-specific STR loci / L.H.P. Van de Goor, W.A. van Haeringen // *Animal Genet.* - 2010. - Vol. 41, N 2. - P. 122-127. doi 10.1111/j.1365-2052.2009.01975.x.

19. Xu, X. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse. *Equus caballus*: extensive heteroplasmy of control region / X. Xu, U. Arnason // *Gene.* - 1994. - Vol. 148. - P. 357-362.

20. Zaitcev, A.M. Assessment of the population structure of horses of the Priobskaya breed based on modern technologies / A.M. Zaitcev, I.S. Gavriličeva, N.V. Blohina, L.A. Khrabrova, N.V. Kokorina // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science.* - 2021. - Vol. 624, №1. - C. 012032.

Храброва Людмила Александровна, докт. с.-х. наук, профессор ФГБНУ «ВНИИ коневодства»

Блохина Нина Васильевна, канд. с.-х. наук, ст. науч. сотр. лаб. генетики ФГБНУ «ВНИИ коневодства»

Коломеец Юлия Юрьевна, канд. с.-х. наук, администратор сайта «Хакасская лошадь: возродить нельзя утратить»

e-mail: khakas.horse@gmail.com; ведущий специалист-эксперт отдела административно-хозяйственной деятельности, финансов, охраны труда, мобилизационной работы и делопроизводства, Управление Россельхознадзора по Республикам Хакасия и Тыва и Кемеровской области — Кузбассу, м.т.: +7-983-259-92-13

Гавриличева Ирина Сергеевна, мл. науч. сотр. лаб. генетики ФГБНУ «ВНИИ коневодства»

УДК 636.1.082.2(470.64)

СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ ЛОШАДЕЙ КАБАРДИНСКОЙ ПОРОДЫ В РОССИИ И ЗА РУБЕЖОМ

CURRENT STATE AND PROSPECTS OF DEVELOPMENT OF KABARDIAN HORSES IN RUSSIA AND ABROAD

Амшоков Х.К.^{1,2}, **Жекамухов М.Х.**¹, **Зайцев А.М.**², **Хаудов А.Д.**³, **Бербекова Н.В.**¹, **Батырова О.А.**¹, **Таова З.Х.**¹

¹ - *Институт сельского хозяйства КБНЦ РАН, г. Нальчик*

² - *ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства», г. Рязань, п. Дивово*

³ - *ФГБНУ «Федеральный Научный Центр «Кабардино-Балкарский Научный Центр Российской Академии Наук», г. Нальчик*

Аннотация

В статье обосновывается статус кабардинской породы лошадей как, вероятно, лучшей породы для трудных дистанционных пробегов. В том числе по состоянию биохимических параметров организма лошади, генетически сформированной в сложных природных условиях.

Ключевые слова: *кабардинская порода лошадей, селекционно-племенная работа, развитие породы, дистанционные конные испытания*

Summary

The article substantiates the status of the Kabardian horse breed as probably the best breed for difficult distance runs. Including the state of biochemical parameters of the horse's body, genetically formed in difficult natural conditions.

Key words: *Kabardian horse breed, breeding work, breed development, remote equestrian tests*

Коневодство в России во все времена отличалось от других отраслей животноводства особой ролью в общественном и личном укладе жизни населения и по своей роли всегда занимало особое положение. И, хотя значимость использования лошади в кавалерии и народном хозяйстве к концу 20 века в России, как и во всем мире, существенно сократилась, в ходе развития общества коневодство прочно обосновалось в других сферах использования.

В последние годы под влиянием ряда факторов наблюдается процесс катастрофического сокращения поголовья племенных лошадей целого ряда отечественных пород и их вытеснения с коневодческого рынка, что, в свою очередь, сопровождается трансформацией их структуры и

снижением генетического разнообразия. Это, в принципе, ограничивает возможности селекционно-племенной работы с ними в будущем. Сохранение, а тем более совершенствование породы, возможно только при правильно организованной племенной работе с ней. Даже те породы, которые обладают ценными конституционными задатками, деградируют, не имея системного отбора по экстерьеру, типу и работоспособности в течение длительного времени.

Что касается кабардинской породы, которая по праву считается одной из лучших отечественных пород лошадей, несмотря на трудности и значительные потери в перестроечный период, в последние годы прослеживается тенденция к её устойчивому развитию и совершенствованию. В первую очередь, это стало возможным благодаря