

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ 29 ПОРОД ЛОШАДЕЙ РОССИЙСКОЙ СЕЛЕКЦИИ ПО STR-МАРКЕРАМ

© 2024 г. Н. В. Блохина^{1,*}, Л. А. Храброва¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства,
Рязанская область, пос. Дивово, 391105 Россия
*e-mail: nbloh16@yandex.ru

Поступила в редакцию 12.01.2024 г.
После доработки 31.01.2024 г.
Принята к публикации 12.02.2024 г.

Современный этап генетической сертификации лошадей заводских и местных пород на основе микросателлитного анализа позволяет достаточно эффективно проводить идентификацию и генетическую экспертизу происхождения племенных животных, а также решать проблему оценки, паспортизации и сохранения генетических ресурсов. При сокращении численности племенного поголовья до 200–300 кобыл, наблюдаемом в ряде пород, возрастает угроза снижения генетического разнообразия популяций и накопления генетического груза, что обуславливает необходимость изучения и мониторинга генетической структуры конских пород. В связи с этим проведенный нами сравнительный генетический анализ полиморфизма 17 микросателлитных локусов у 20541 лошадей 29 заводских и местных пород позволяет провести паспортизацию базовой части генетических ресурсов коневодства Российской Федерации, включая верховые, рысистые, тяжелоупряжные и местные породы. При генетико-популяционном анализе исследуемых пород оценивали базовые параметры: общее количество вариантов аллелей (N_a), эффективное количество аллелей (A_e), среднее количество аллелей на локус (MNA), уровень наблюдаемой (H_o) и ожидаемой (H_e) гетерозиготности, а также коэффициент внутривидового инбридинга F_{is} . Филогенетические связи пород оценивали с помощью пакета программ R и R Studio. Среди пород лошадей разной специализации наибольшие значения всех показателей генетического разнообразия (A_e , H_o , H_e и N_a) были определены у аборигенных популяций. В аллелофонде местных пород лошадей встречались редкие аллели *ASB2T*, *HMS7S*, *HMS6J*, *HMS6H*, *HMS2T*, *HMS1O*, *HTG7L*, *HTG6L*, *HTG6H*, *VHL20S*, *ASB17Z*, *ASB17X*, *ASB17U*, *LEX3S*, *LEX3R* и *C4425E*, которые отсутствовали у лошадей заводских пород. Среди верховых пород лошадей, созданных в России, наличием редких аллелей выделялись буденновская, донская и кабардинская породы лошадей. У рысистых лошадей были обнаружены аллели *ASB2G*, *ASB2F*, *HMS2F*, *HTG7Q* и *ASB23O*, не выявленные в генетической структуре других пород. Проведенный филогенетический анализ показал разделение конских пород на два четких субкластера, в первый из которых вошли только заводские породы. Второй кластер объединил все аборигенные породы, а также орловского рысака и группу тяжелоупряжных пород, которые использовались на протяжении многих лет в качестве улучшателей местного поголовья лошадей. Проведенный анализ генетической структуры отечественных пород лошадей выявил достаточно высокий резерв разнообразия даже в малочисленных популяциях, который является непременным условием успешной селекции в коневодстве.

Ключевые слова: *Equus caballus*, генетическое разнообразие, микросателлиты ДНК, порода, лошадь.

DOI: 10.31857/S0016675824080057 **EDN:** BFPWDI

В прошлые века развитие коневодства во многом определяло объемы производства сельскохозяйственной продукции и имело особое значение для животноводства России. Лошадь была не только символом мощи и престижа страны, но и спасала народы в трудные времена истории. Однако с развитием механизации в сельском хозяйстве, армии и индустрии подход к использованию

лошадей изменился. К середине XX в. численность лошадей резко сократилась, но затем стабилизировалась и даже начала расти во многих странах. Сейчас лошади играют важную роль в туризме, спорте, ипподромном бизнесе, а также в производстве продуктов питания (молоко, мясо, кумыс и др.). Лошади заводских пород отличаются самой высокой стоимостью на современном мировом

рынке племенных ресурсов сельскохозяйственных животных. Поэтому ключевым условием эффективной селекции племенных животных является неоспоримая достоверность происхождения каждого животного, которое вовлечено в процесс воспроизводства. Объективная и точная идентификация лошадей и паспортизация поголовья являются весьма актуальной задачей. Для решения этой задачи применяются молекулярно-генетические методы, которые в свою очередь позволяют углубленно исследовать идентичность и полиморфизм генетических структур популяций в целях их сохранения и эффективного управления селекционным процессом во всех направлениях совершенствования пород лошадей [1–6].

В настоящее время ДНК-технологии широко используются в разноплановых генетических и геномных исследованиях, при контроле происхождения животных, для изучения филогенетических связей и микроэволюции пород, а также совершенствования генотипической оценки животных на индивидуальном и популяционном уровнях [5–13]. В качестве генетических маркеров микросателлиты интересны тем, что они подвержены более высокому уровню мутирования, чем остальная часть генома [1, 4, 14–16].

В реестр селекционных достижений Российской Федерации включены 44 породы лошадей, которые уникальны по своей универсальности в использовании и высоким адаптивным качествам и являются ценным генетическим ресурсом для мирового коневодства. Уже первые исследования по изучению генетической структуры заводских и местных пород лошадей отечественной селекции с использованием микросателлитных маркеров [6, 9, 17] показали высокий уровень аллельной вариабельности в обследованных популяциях. Последующие исследования подтвердили наличие генетической специфики многих пород лошадей, особенно имеющих ограниченный ареал разведения [1–3, 18–20].

Цель наших исследований — сравнительная оценка генетического разнообразия микросателлитных локусов в геномах лошадей 29 пород и популяций, разводимых в Российской Федерации, а также изучение их филогенетических связей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для проведения исследований служили биопробы волос, крови и спермы 20541 лошади 29 заводских и местных пород, разводимых на территории Российской Федерации. В исследования были включены лошади следующих верховых пород: ахалтекинские ($n = 1040$), буденновские ($n = 93$), арабские ($n = 2971$), донские ($n = 21$), ганновские ($n = 33$), тракененские ($n = 93$), кабардинские ($n = 289$), чистокровные верховые ($n = 9600$); четырех рысистых пород: орловские

рысистые ($n = 4177$), французские рысистые ($n = 381$), русские рысистые ($n = 975$), американские стандартbredные ($n = 434$) и четырех тяжелоупряжных пород: русские тяжеловозные ($n = 71$), владимирские ($n = 233$), советские тяжелоупряжные ($n = 51$), першероны ($n = 57$), а также шетлендские пони ($n = 46$). Местные породы и популяции представляли хакаские ($n = 25$) и якутские ($n = 24$), бурятские ($n = 20$), башкирские ($n = 100$), забайкальские ($n = 24$), вятские ($n = 219$), мезенские ($n = 97$), приобские ($n = 25$), печорские ($n = 17$), новоалтайские ($n = 150$), мугалжарские ($n = 94$), тувинские ($n = 569$), алтайские лошади ($n = 39$).

Тестирование всего поголовья лошадей по 17 микросателлитным локусам ДНК: *VHL20*, *AHT4*, *HMS2*, *HMS3*, *HMS1*, *AHT5*, *HTG7*, *HTG6*, *HTG4*, *HTG10*, *HMS7*, *HMS6*, *ASB23*, *ASB2*, *ASB17*, *LEX3* и *CA425* осуществляли в лаборатории генетики ФГБНУ “ВНИИ коневодства”, используя протоколы и оборудование, рекомендуемые Международным обществом по изучению генетики животных (ISAG). Период выполнения исследований 2009–2021 гг.

Выделение ДНК из разных видов биоматериала (волосы, кровь, сперма и др.) осуществляли с использованием реагентов ExtraGene DNA Prep 200 (ООО “Лаборатория Изоген”, Россия). Амплификацию полученной ДНК проводили с помощью 17 плексных наборов праймеров для генотипирования лошадей StockMarks® for Horses производства США и COrDIS S550 (ООО “ГОРДИЗ”, Россия) на ДНК-амплификаторе Thermocycler 2730 (Германия). Разделение и детекцию продуктов амплификации проводили методом капиллярного электрофореза на автоматическом 4-х капиллярном генетическом анализаторе AB 3130 (США). Размеры амплифицированных фрагментов ДНК определяли с помощью программы GeneMapper™ V4.0. Для обозначения аллелей использовали международную номенклатуру, принятую ISAG при проведении сравнительных испытаний по тестированию ДНК лошадей (НСТ), в которых наша лаборатория регулярно принимала участие с получением сертификатов I степени.

При оценке генетико-популяционных параметров учитывали частоты встречаемости генотипов, аллелей, уровень полиморфности (A_c), а также степень ожидаемой (H_e) и наблюдаемой (H_o) гетерозиготности, которые были рассчитаны по алгоритму программ PLINK 1.9 [21], MS Excel 2010. Оценка генетического сходства и генетических дистанций осуществлялась с помощью программы Statistics 12 (<https://statsoft-statistica.ru/>). Для расчета генетических расстояний и построения филогенетического дерева использовали пакет R программы и R Studio 1.3.1093 [22].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В ходе проведенных исследований вариабельности 17 локусов микросателлитов ДНК у лошадей восьми верховых пород было обнаружено 169 аллелей, с колебаниями от 4 до 13. Наиболее богатый спектр аллелей был зафиксирован у лошадей кабардинской и ахалтекинской пород, каждая из которых имела соответственно 147 и 126 аллелей, в то время как у лошадей донской породы было протестировано всего 96 аллелей. Протестированные лошади арабской породы имели 104 аллеля в 17 STR-локусах, среди которых *CA425F* и *CA425P* были уникальными для этой породы и не встречались у представителей других верховых пород, а *ASB2C* был обнаружен только у арабских и кабардинских лошадей.

У лошадей древнейшей ахалтекинской породы было выявлено 126 аллелей, наиболее типичными из которых являются *HMS1M* – 0,581, *АНТ4Н* – 0,544, *ASB23J* – 0,427, *HMS7J* – 0,461, *HMS6O* – 0,489, *HTG7O* – 0,665, *HTG6G* – 0,526, *HTG10O* – 0,503 и *CA425N* – 0,499. В генотипах лошадей кабардинской и ахалтекинской пород были обнаружены уникальные аллели *ASB2J* и *HTG4Q* в отличие от других верховых пород. Аллель *HTG10Q* был обнаружен у лошадей буденновской, ахалтекинской и кабардинской пород, а аллель *ASB23R* – только у донских, ахалтекинских и кабардинских лошадей.

В генотипах лошадей чистокровной верховой породы наиболее часто встречались аллели *АНТ4O*, *АНТ5K*, *HMS1J*, *HMS2L*, *HMS3I*, *HMS6P*, *HTG4K*, *HTG4M*, *HTG6J*, *HTG7O* и *CA425N*, при этом среднее количество аллелей на локус составило 5.88 с колебаниями от 4 до 9.

На рис. 1 представлена вариабельность частот аллелей в локусе *АНТ4*, демонстрирующая существенные различия между породами лошадей.

При анализе полиморфности локуса *АНТ4* у лошадей верховых пород было обнаружено, что широко распространенный аллель *АНТ4Н* типичен для всех пород, аллель *АНТ4J* характерен для арабской и ахалтекинской, а аллель *АНТ4O* для чистокровной верховой и других полукровных пород.

Сравнительно невысоким уровнем генетического разнообразия характеризовались лошади ганноверской и тракененской пород с суммарным количеством 100 и 105 аллелей соответственно. Генетическое сходство тракененской породы с лошадьми чистокровной верховой достигало 0.922, что конечно закономерно, так как в разведении тракененской лошади всегда использовали жеребцов-производителей чистокровной верховой породы.

Одним из наиболее информативных панельных STR-локусов является *LEX3*, расположенный на X-хромосоме, так как он характеризует

разнообразие и связи популяций по материнской линии. Изучение этого локуса у верховых пород показало наличие 11 аллелей из 14 зарегистрированных ISAG. При этом максимальная частота аллеля *LEX3M* была установлена в арабской породе – 0.366, *LEX3P* – в чистокровной верховой – 0.330, а *LEX3K* – 0.108 – у лошадей кабардинской породы. У кабардинских лошадей были обнаружены редкие аллели *LEX3Q* и *LEX3G*, что наводит на мысль о наличии оригинальных женских линий в этой популяции (рис. 2).

У лошадей отечественных пород был определен весь спектр стандартных аллелей, зарегистрированных Международным обществом генетики животных (ISAG). Дополнительно в локусах *ASB2*, *ASB17*, *CA425*, *HMS2*, *HMS6*, *HMS7*, *HMS10*, *HTG6*, *HTG7*, *LEX3* и *VHL20*, были выявлены 16 новых аллелей, не встречающихся у лошадей Западной Европы (табл. 1).

Дополнительные аллели обнаружены у лошадей: *ASB2T* – новоалтайская; *ASB17U* – башкирская, тувинская; *ASB17X* – мезенская, тувинская; *ASB17Z* – тувинская; *HMS10* – алтайская; *HMS2T* – алтайская; *HMS6* – тувинская; *HMS6J* – американская рысистая, мезенская; *HMS7S* – приобская; *HTG6H* – бурятская; *HTG6L* – бурятская, вятская, тувинская; *HTG7L* – мугалжарская; *LEX3R* – французская рысистая, мезенская; *LEX3S* – мезенская; *VHL20S* – новоалтайская, мугалжарская, тувинская.

Анализ генетико-популяционных параметров верховых пород лошадей свидетельствует, что лидерство по уровню генетического разнообразия принадлежит кабардинской породе, в то время как у арабских лошадей был зафиксирован низкий уровень полиморфности – 3.18. Самое большое значение степени фактической гетерозиготности H_o – 0.727 наблюдалось у тракененской породы, тогда как ее минимальное значение – 0.631 было установлено у лошадей арабской породы (табл. 2).

Полученные данные генетического сходства между верховыми породами лошадей свидетельствуют о наличии близкого сходства (0.961) между буденновской и чистокровной верховой породами, в то время как родственная связь между буденновской и ахалтекинской породами была минимальной (0.732). Анализ генетических дистанций также подтвердил эти результаты, показав наибольшее различие между ахалтекинской и чистокровной верховой породами (0.495), а наименьшее между буденновской и чистокровной верховой (0.194) (рис. 3, а). Полученные данные позволяют лучше понять генетическую природу различных пород лошадей и способствуют их более эффективному разведению.

При проведении компаративного анализа полиморфизма 17 STR-локусов четырех рысистых пород

было обнаружено 157 аллелей, при этом лидерство по числу аллелей принадлежало русской рысистой породе с широким спектром аллелей.

Орловские рысаки продемонстрировали наличие 128 аллелей с вариантами от четырех аллелей в локусе *HMS3* до 12 — в локусе *ASB17*. Генетическая структура этой рысистой породы характеризовалась высокой частотой встречаемости аллелей *HMS6P* — 0.476, *HMS3O* — 0.553, *HMS1M* — 0.577, *HTG7O* — 0.553, *HTG6O* — 0.700 и *HTG4M* — 0.572. Вместе с тем редкие аллельные варианты *HTG7I*, *AHT5P* и *CA425G* отмечены только у лошадей орловской рысистой породы.

У рысаков стандартbredной породы были обнаружены редкие аллели *ASB2J*, *ASB2F*, *HMS6J*, *HMS2F*, *HTG7Q*, *HTG7P* и *ASB23O*, которые не встречались у лошадей других рысистых пород.

У французского рысак высокую частоту встречаемости имели аллели *AHT4O* — 0.571, *HMS3P* — 0.514, *HMS1J* — 0.507, *HTG10I* — 0.536, *HTG7O* — 0.627, *HTG6J* — 0.629 и *LEX3M* — 0.358. И только у лошадей этой рысистой породы были обнаружены аллели *ASB17U*, *ASB17V*, *ASB2G*, *HMS2N*, *HTG6L* и *LEX3R*.

Среди рысистых пород лошадей французский рысак выделялся максимальными значениями уровня полиморфности A_e (3.81) и степени гетерозиготности H_e (0.72), тогда как стандартbredные лошади имели самый низкий уровень генетического разнообразия (A_e (3.457), H_o (0.663), H_e (0.679) при положительном значении F_{is} (0.016).

Самые высокие генетические отличия и наименьший коэффициент генетического сходства (0.577) были отмечены между орловскими и стандартbredными рысаками. Русский рысак, постоянно улучшаемый стандартbredным, имел очень высокий коэффициент генетического сходства (0.978) с этой американской породой.

На основании характеристики лошадей четырех рысистых пород по STR-локусам нами была построена дендрограмма их филогенетических связей (рис. 3, б), на которой продемонстрировано, что орловская рысистая порода является наиболее генетически обособленной и образует отдельную ветвь. Лошади призовых пород (русская рысистая, французская и стандартbredная) образуют общий кластер, который подтверждает их тесную генетическую связь.

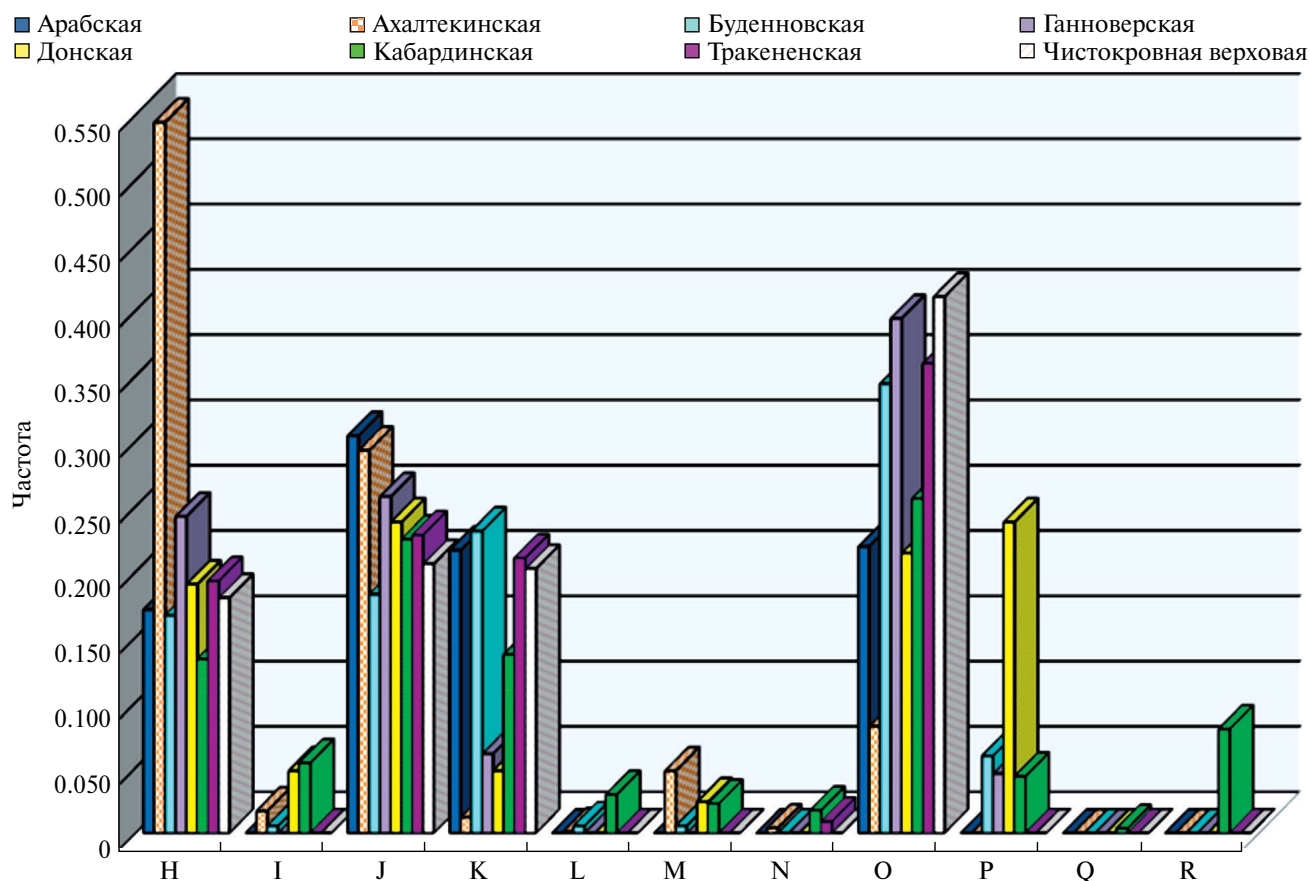


Рис. 1. Гистограмма частот встречаемости аллелей в локусе *AHT4* у лошадей верховых пород.

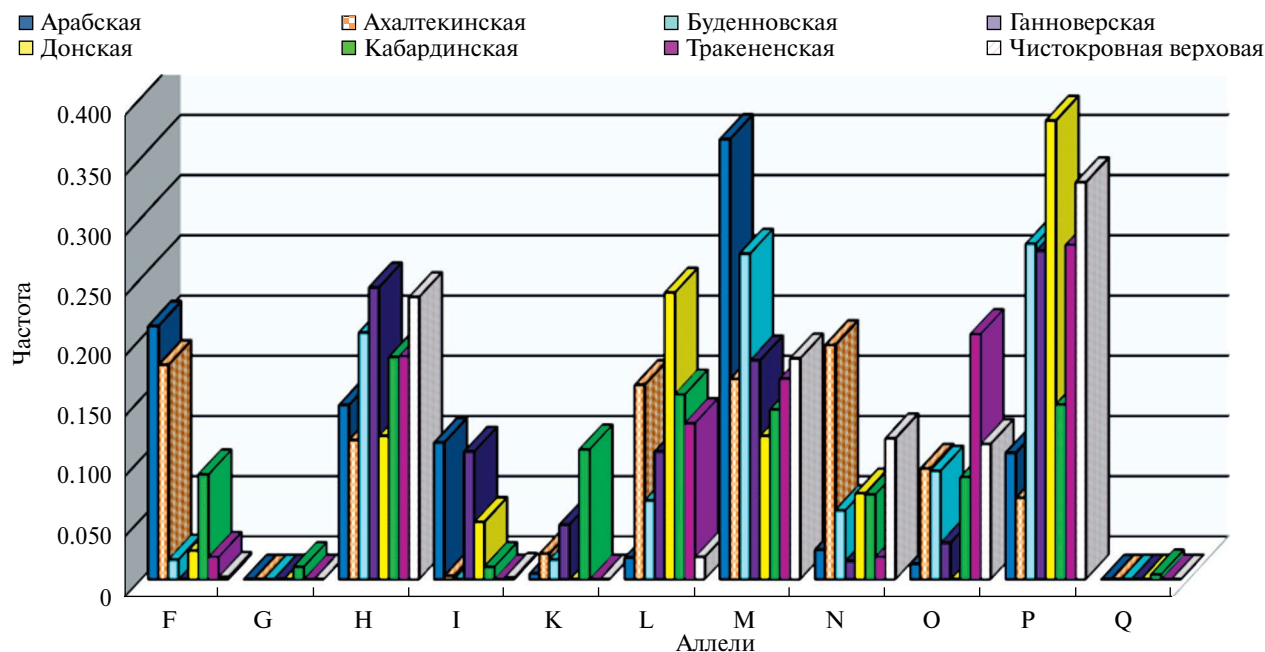


Рис. 2. Гистограмма частот встречаемости аллелей в локусе *LEX3* у лошадей верховых пород.

При тестировании лошадей четырех тяжелоупряжных пород по локусам микросателлитной ДНК был выявлен достаточно широкий спектр аллелей (143). Наибольшая вариабельность аллелей была подтверждена у лошадей русской и советской тяжеловозной пород (табл. 2). Число аллелей в изученных STR-локусах варьировало от 4 до 12, при среднем значении 6.41–7.12 на локус. Максимальное число аллелей было выявлено в локусе *ASB17* (9–12), наименьшая вариабельность была отмечена в локусах *HTG6* (4–6), *HTG7* (4) и *HMS1* (4–6).

У лошадей владимирской породы было выявлено 112 аллелей, два из которых – *HMS1Q* и *HTG4Q* – не встречались у других тяжелоупряжных пород. Генетическая структура владимирской породы лошадей характеризовалась сравнительно высокой частотой встречаемости аллелей *HMS1M* (0.699), *HTG10R* (0.488), *HTG7O* (0.529), *HTG6O* (0.433), *ANT4L* (0.507) и *LEX3L* (0.588).

У лошадей русской тяжеловозной породы были определены аллели *ANT4M*, *HMS7G*, *HMS2O*, *HMS6Q*, *HMS7P* и *HMS2P*, отсутствующие в аллелофонде других пород этой группы. Особенностью для этих некрупных лошадей была максимальная частота встречаемости аллелей, таких как *HMS3P*, *HMS1M*, *HTG10M*, *HTG7O*, *HTG6O*, *HTG4M* и *CA425N*.

В генофонде лошадей советской тяжеловозной породы было обнаружено два особых редких аллеля – *HMS1I* и *HMS6N*. Анализ генетической структуры этой породы выявил высокую концентрацию таких аллелей, как *HMS2H* – 0.406, *HMS1M*

– 0.422, *HTG10M* – 0.422, *HTG6O* – 0.833, *HTG4M* – 0.559, *ASB17M* – 0.400 и *CA425N* – 0.500.

В генотипах лошадей першеронской породы, в основном представленных привезенными из Франции животными, было обнаружено 109 аллелей, среди которых *VHL20K*, *ASB23H* и *ASB23Q* отсутствовали у лошадей отечественных пород.

Интересно отметить, что лошади владимирской и советской тяжеловозной пород обладали наибольшим количеством аллелей в локусе *LEX3*. В целом четыре тяжелоупряжные породы значительно различались по аллельной структуре данного локуса. Лошади владимирской породы характеризовались высокой частотой встречаемости аллелей *LEX3H* – 0.203 и *LEX3L* – 0.588, тогда как для советских и русских тяжеловозов было типично доминирование предков с *LEX3P* в X-хромосоме (0.284 и 0.310 соответственно).

По показателям генетического разнообразия (A_e 3.982 и H_o 0.723) среди тяжеловозных лошадей лидировала советская тяжеловозная порода (табл. 2). Даже в условиях сокращения численности заводских маток в этой породе до 200 голов популяция сохраняет достаточно высокий генетический ресурс и гетерозиготность, что подтверждает отрицательное значение коэффициента F_{is} – (–0.002). Лошади русской тяжелоупряжной породы характеризовались невысокой степенью H_o (0.676) в сочетании с внутривидовым инбридингом (F_{is} – 0.036).

Самый высокий коэффициент генетического сходства (0.941) был установлен между русскими и

Таблица 1. Номенклатура аллелей для STR-локусов ISAG [22]

Реф. номер	<i>AHT4</i>	<i>AHT5</i>	<i>ASB2</i>	<i>ASB17</i>	<i>ASB23</i>	<i>CA425</i>	<i>HMS1</i>	<i>HMS2</i>	<i>HMS3</i>	<i>HMS6</i>	<i>HMS7</i>	<i>HTG4</i>	<i>HTG6</i>	<i>HTG7</i>	<i>HTG10</i>	<i>LEX3</i>	<i>VHL20</i>
9			B														
10			C							H*							
11				D		E*											
12					D	F				J*			G				
13			F	F		G				K	G		H*			F	I
14		H	G	G		H	I			L			I			G	J
15		I		H	G	I	J	H		M			J	K		H	K
16		J	I	I	H	J	K	I		N	J		K	L*	H	I	L
17		K	J	J	I	K	L	J		O	K		L*	M	I	J	M
18		L	K	K	J	L	M	K		P	L		M	N	J	K	N
19		M	L	L	K	M	N	L		Q	M		N	O	K	L	O
20		N	M	M	L	N	O*	M	H		N		O	P	L	M	P
21		O	N	N		O			I		O		P		M	N	Q
22			O	O		P	Q	O			P		Q		N	O	R
23		Q	P	P				P			Q				O	P	S*
24			Q	Q	P			Q	L						P	Q	
25	H		R	R	Q			R	M		S*				Q	R*	
26	I		S	S	R			S	N						R	S*	
27	J		T*	T	S			T*	O						S		
28	K			U*	T			U	P						T		
29	L			V	U				Q								
30	M			W	V				R			K					
31	N			X**					S			L					
32	O			Y								M					
33	P			Z*								N					
34	Q											O					
35	R											P					
36												Q					

Примечание. * – новые аллели, выявленные у лошадей отечественных пород.

советскими тяжеловозами. В то же время родство между владимирской и советской тяжеловозной породами оказалось минимальным (0.680). Дерево филогенетического родства (рис. 3, в) наглядно продемонстрировало сходство между изученными тяжеловозными породами, разделяющимися на

две ветви континентальных (першеронов и бельгийских тяжеловозов) и английских пород (клайдсдалей и шайров).

Результаты анализа лошадей 14 аборигенных пород выявили широчайший спектр аллелей 17 панельных ($n = 195$), включая ряд частных аллелей

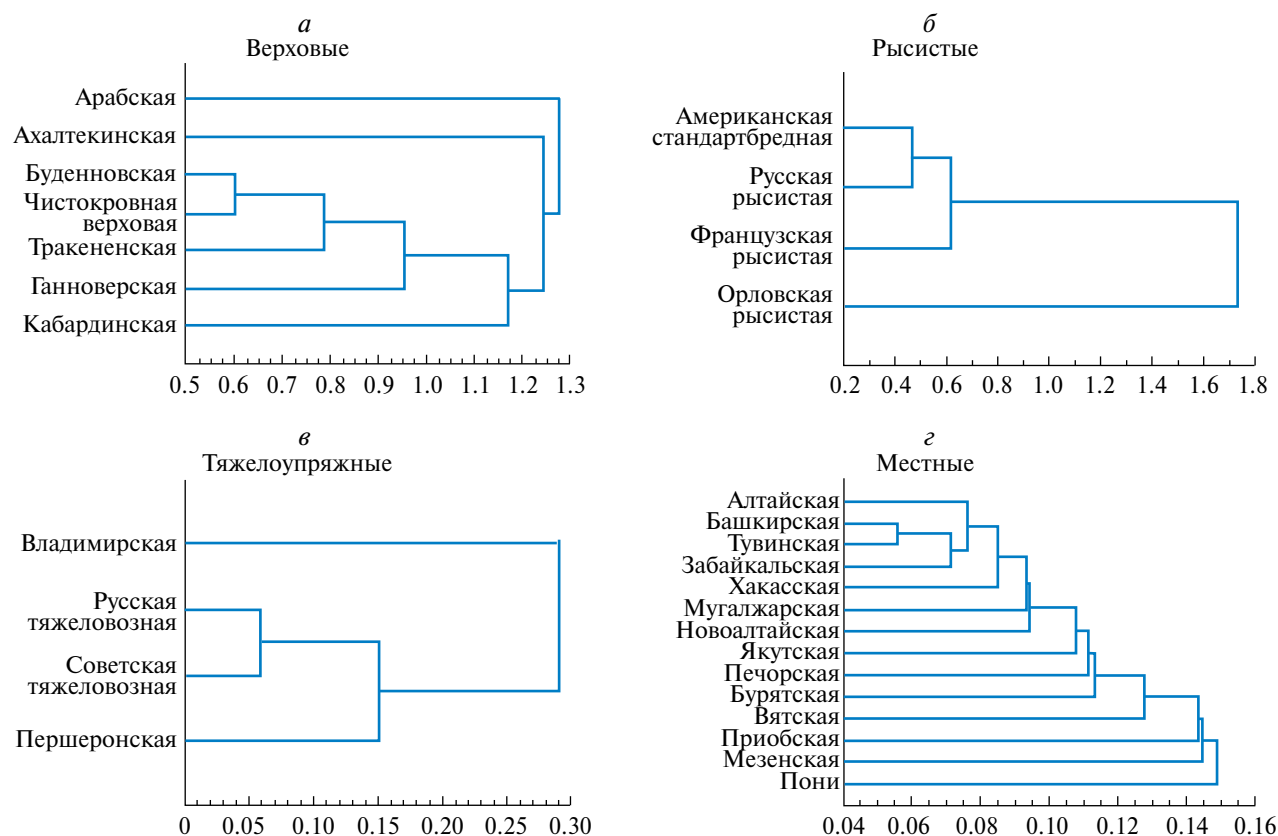


Рис. 3. Генетическая идентификация и кластеризация лошадей разных пород по Nei [24].

(табл. 1). Наибольшее количество аллельных вариантов было выявлено у тувинской лошади ($n = 170$), а наименьшее у бурятской породы ($n = 117$). Местные породы лошадей различались между собой по базовым популяционным параметрам, включая N_a , A_e , H_o , H_e и F_{is} , а также наличием уникальных аллелей, отсутствующих в стандартизированной номенклатуре (табл. 1), включая *HMS7S*, *HMS6J*, *HMS6H*, *HMS2T*, *HMS10*, *ASB2T*, *HTG7L*, *HTG6L*, *HTG6H*, *ASB17Z*, *ASB17X*, *ASB17U*, *VHL20S*, *LEX3S*, *LEX3R* и *CA425E*.

Аллелофонд лошадей мезенской породы, разводимой в Архангельской области, включал сразу пять приватных аллелей: *HMS6J*, *ASB17Y*, *ASB17X*, *LEX3S* и *LEX3R*. Наибольшую концентрацию в этой породе лошадей имели аллели *HMS7L* – 0.670, *HMS3M* – 0.426, *AHT4O* – 0.407, *HTG7O* – 0.407, *HTG7K* – 0.418, *HTG6O* – 0.789, *HTG4M* – 0.443 и *LEX3M* – 0.528.

Вятская порода лошадей выделялась наличием двух приватных аллелей *HTG6L* и *AHT5P*; типичными для этой породы являлись *HMS7L* (0.449), *HMS2H* (0.448), *HMS1M* (0.481), *AHT5J* (0.412), *HTG7* (0.548), *HTG6O* (0.708) и *HTG4M* (0.680).

В генетической структуре башкирских лошадей наблюдается высокая частота встречаемости

определенных аллелей (*HTG10O* – 0.439, *HTG6O* – 0.510, *HTG4M* – 0.590 и *HMS7L* – 0.490) на фоне редких аллелей *ASB17S* и *ASB17U*.

Разводимая в Сибири тувинская порода лошадей отличалась высоким уровнем генетического разнообразия ($N_a = 170$, $A_e = 5.197$, $H_o = 0.782$). Генетическая структура этой породы характеризовалась высокой концентрацией аллелей *HTG6O* (0.545), *HTG4M* (0.630), *HMS7L* (0.419) и наличием очень редких аллелей *HMS6H*, *HMS3L*, *VHL20K*, *ASB23N*, *ASB17Z* и *LEX3J*.

Полиморфизм локуса *LEX3* у лошадей местных пород был представлен 12 аллелями, при этом варианты *LEX3F*, *LEX3L* и *LEX3M* были определены во всех обследованных популяциях. Аллель *LEX3G* изредка встречался у лошадей Западной и Южной Сибири (новоалтайской и тувинской). Лошади алтайской породы выделялись наличием редких аллелей *LEX3J* и *LEX3I*. И только в генотипах мезенских лошадей были определены приватные аллели *LEX3S* (0.042) и *LEX3R* (0.014), отсутствующие у представителей других пород.

Показатели уровня полиморфности и степени гетерозиготности аборигенных популяций в целом были несколько выше, чем у заводских пород лошадей, при отрицательных значениях F_{is} , что

Таблица 2. Генетико-популяционная характеристика 29 пород лошадей по 17 STR-локусам ДНК ($n = 20541$)

Порода	N	MNA	A_e	H_o	H_e	F_{is}	N_a	
Арабская	2978	6.118	3.180	0.631	0.655	0.032	104	Верховые
Ахалтекинская	1040	7.412	3.442	0.649	0.643	-0.010	126	
Буденновская	93	7.000	3.793	0.722	0.713	-0.013	119	
Ганноверская	33	5.882	3.863	0.702	0.704	0.003	100	
Донская	21	5.647	3.426	0.677	0.678	0.007	96	
Кабардинская	289	8.647	5.140	0.723	0.782	0.071	147	
Тракененская	59	6.176	3.904	0.727	0.715	-0.018	105	
Чистокровная верховая	8179	5.882	3.488	0.681	0.682	0.001	100	
Американская стандартбредная	434	7.647	3.457	0.663	0.679	0.016	130	Рысистые
Орловская рысистая	4177	7.529	3.748	0.700	0.702	0.003	128	
Русская рысистая	975	8.059	3.771	0.686	0.706	0.020	137	
Французская	381	7.647	3.810	0.703	0.715	0.017	130	
Владимирская	233	6.765	3.630	0.707	0.704	-0.005	115	Тяжелопряжные
Першерон	57	6.412	3.966	0.711	0.704	-0.007	109	
Русская тяжеловозная	71	7.118	3.753	0.676	0.705	0.036	121	
Советская тяжеловозная	51	7.118	3.982	0.723	0.720	-0.002	121	
Алтайская	39	7.882	4.750	0.772	0.759	-0.020	134	Местные
Башкирская	100	9.000	4.847	0.776	0.773	-0.002	153	
Бурятская	20	6.882	4.288	0.736	0.746	0.012	117	
Вятка	297	8.000	3.763	0.691	0.676	8.000	136	
Забайкальская	24	7.471	4.602	0.752	0.762	0.006	127	
Мезенская	97	7.765	4.189	0.738	0.725	-0.020	132	
Мугалжарская	94	9.059	5.056	0.797	0.780	-0.021	154	
Новоалтайская	150	8.706	4.904	0.764	0.757	-0.009	148	
Печорская	17	7.118	4.173	0.732	0.705	-0.038	121	
Пони	46	7.706	4.338	0.713	0.749	0.047	131	
Приобская	25	7.118	4.157	0.741	0.731	-0.017	121	
Тувинская	569	10.00	5.197	0.753	0.782	0.029	170	
Хакасская	25	7.235	4.315	0.731	0.747	0.025	123	
Якутская	24	6.706	4.177	0.730	0.725	-0.019	114	

Примечание. N – количество голов, MNA – среднее количество аллелей на локус, N_a – количество аллелей, A_e – эффективное число аллелей, H_o – наблюдаемая гетерозиготность, H_e – ожидаемая гетерозиготность, F_{is} – уровень внутрипопуляционного инбридинга.

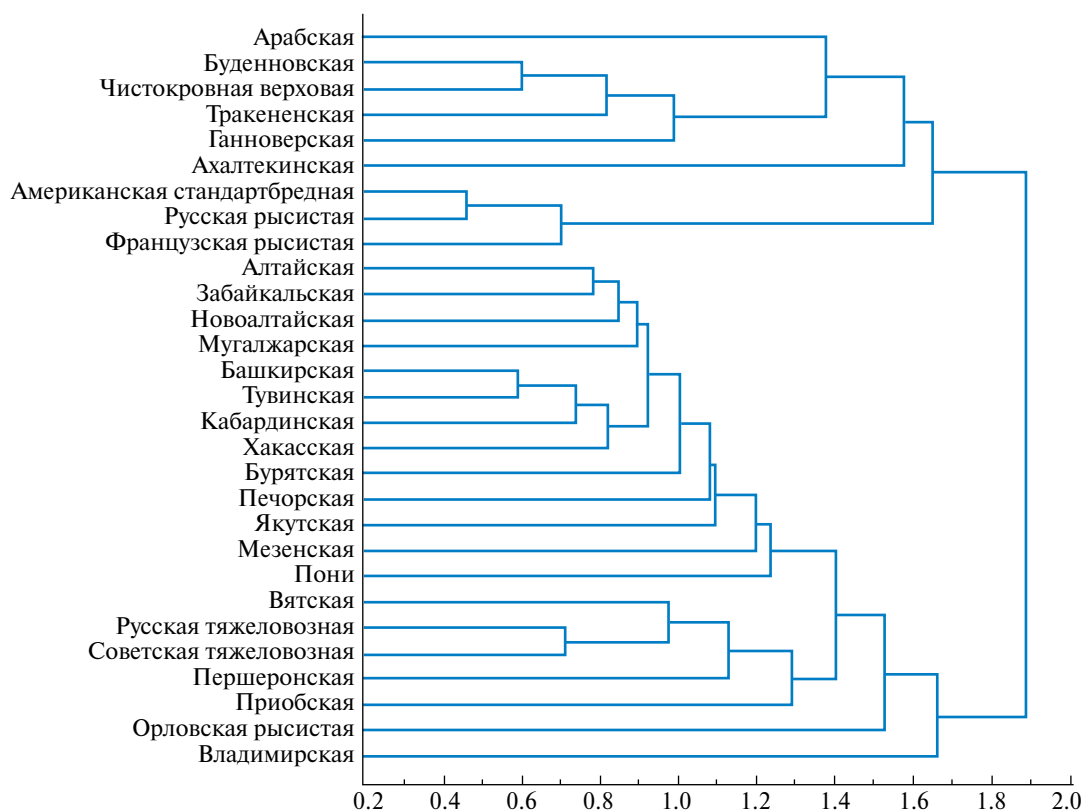


Рис. 4. Дендрограмма генетических дистанций лошадей разных пород, разводимых на территории Российской Федерации.

свидетельствует о генетическом балансе гетерозигот в исследуемых популяциях (табл. 2).

Сравнительно высокие коэффициенты генетического сходства были выявлены между лошадьми степных пород: башкирской и тувинской (0.945), хакасской и башкирской (0.915), и забайкальской и башкирской (0.903) пород. На дендрограмме, отражающей генетические дистанции между аборигенными породами лошадей (рис. 3, г), продемонстрировано, что лошади хакасской, забайкальской, тувинской и башкирской пород объединяются в отдельный кластер степных пород. Наиболее отдаленной оказалась ветвь шетлендских пони, имеющих иностранное происхождение.

Филогенетический анализ 29 пород лошадей разной специализации показал наличие двух четких субкластеров (рис. 4).

Первый кластер объединил лошадей заводских пород, в то время как во второй вошли все аборигенные популяции, а также орловская рысистая и тяжелоупряжные породы, которые длительное время использовались в качестве улучшателей местного поголовья лошадей.

ОБСУЖДЕНИЕ

Наша страна обладает уникальными генетическими ресурсами коневодства, изучение биологических особенностей которых является основой для программ по их сохранению и совершенствованию. В результате исследований молекулярно-генетических особенностей 29 пород лошадей разной специализации нами был выявлен достаточно высокий уровень полиморфизма микросателлитных локусов практически во всех обследованных популяциях ($A_e = 3.2-5.2$) и показана их высокая информативность в качестве генетических маркеров.

При анализе полиморфизма 17 микросателлитных локусов у лошадей отечественных пород были обнаружены все стандартные аллели, которые встречаются у лошадей Европы [23, 25]. Кроме этого, были выявлены новые аллели, которые могли сохраниться в очагах одомашнивания древних лошадей на территории, а также появиться в результате геномных мутаций или интродукции генов с лошадьми кочевников из разных регионов Азии. Дополнительным подтверждением этой гипотезы является изучение генетических характеристик местных китайских лошадей, у которых были выявлены широкий спектр аллелей STR-локусов, а

также наличие общих гаплогрупп мтДНК восточного происхождения.

Сравнительный анализ генетической структуры лошадей разной специализации выявил значительные различия по параметрам: общее количество вариантов аллелей, эффективное количество аллелей (A_e) и количество аллелей на локус. По средним показателям всех исследуемых популяций наибольшие значения (A_e , H_o , H_e и N_a) были выявлены у лошадей аборигенных пород. Среди верховых пород наиболее контрастно выделялись кабардинские лошади наличием аллелей *AHT4R*, *ANG4Q*, *LEX3Q* и *CA425P*, которые были обнаружены только у лошадей местных пород. Возможно, это связано с тем, что эта порода, разводимая в предгорьях территории Северного Кавказа, была сформирована с участием лошадей кочевых племен и улучшалась персидскими, туркменскими и карабахскими лошадьми (черкесская лошадь).

Особенностью аллелофонда рысистых пород являются аллели *ASB2G*, *ASB2F*, *HMS2F*, *HTG7Q* и *ASB23O*, не выявленные у других лошадей. Высокий коэффициент генетического сходства между русским и стандартбредными рысаками (0.978) наглядно отражает результаты селекционной стратегии повышения кровности и резвости призовых пород. Различия между американской стандартбредной и орловской рысистой породой по генетическим маркерам обусловлены как аллелофондом исходных пород, использованным в процессе формирования, так и направлением племенной работы. В орловской рысистой породе высокий уровень генетического разнообразия сохранился благодаря тому, что в породе планомерно проводился отбор по комплексу хозяйственно полезных признаков. Помимо высокой степени генетической вариативности характерной особенностью местных пород было наличие ряда уникальных аллелей *ASB2T*, *HMS7S*, *HMS6J*, *HMS6H*, *HMS2T*, *HMS1O*, *HTG7L*, *HTG6L*, *HTG6H*, *VHL20S*, *ASB17Z*, *ASB17X*, *ASB17U*, *LEX3S*, *LEX3R* и *CA425E*, которые не встречались у лошадей отечественных заводских пород и в изученных европейских популяциях [23].

Уникальные аллели были выявлены у лошадей ряда пород, включая алтайскую – *HMS2T*, башкирскую – *ASB17U*, бурятскую – *HTG6H*, *HTG6L*, вятскую – *HTG6L* и *AHT5P*, мезенскую *ASB17X*, *ASB17Y*, *HMS6J*, *LEX3R* и *LEX3S*, тувинскую – *VHL20S*, *HMS6H*, *HTG6L*, *ASB17U*, *ASB17X* и *ASB17Z*. Среди заводских пород лошадей наличием приватных аллелей выделялись донская и буденновская – *ASB17T*, а также орловская рысистая – *AHT5P*.

Суммируя результаты кластерного анализа, можно сказать о наличии четких генетически определенных уровней фундаментальных эволюционных связей между современными представителями

подавляющего числа пород, разводящихся на территории Российской Федерации. Дендрограмма генетических дистанций между изученными породами лошадей наглядно отражает их специализацию по типу хозяйственного использования: верховые, рысистые, тяжелоупряжные и местные. При этом в кластер аборигенных пород вошли отдельные заводские породы, такие как орловский рысак и тяжеловозы, на протяжении последних веков использовавшиеся в качестве улучшателей местного поголовья.

Наиболее близкое генетическое родство было установлено между породами чистокровной верховой и буденновской, а также американской стандартбредной и русской рысистой при весоом постоянном влиянии улучшающей породы. Очевидно, что на формирование генетической структуры пород оказывают влияние многие факторы, включая интродукцию генов, векторы отбора и генетико-популяционные процессы в популяциях. Результаты наших исследований свидетельствуют, что все отечественные породы лошадей, внесенные в Реестр селекционных достижений РФ, имеют своеобразный генетический профиль и отличаются от других культурных пород. Современные аборигенные породы лошадей, даже при общности происхождения от монгольских корней, имеют свою характерную генетическую структуру с наличием приватных аллелей, несмотря на периодическое скрещивание с заводскими породами верхового, рысистого и тяжелоупряжного направлений.

Полученные нами результаты подтверждают опубликованные данные зарубежных ученых [12, 26] о том, что ареал одомашнивания лошади занимал значительную часть современной России, которая благодаря своему географическому положению была историческим перекрестком маршрутов многих кочевых народов Евразии, что способствовало интенсивному процессу формирования новых пород лошадей. Россия обладает впечатляющим породным разнообразием конских пород с уникальными генофондами, которые хорошо адаптированы к самым суровым природно-климатическим условиям, характеризуются универсальной работоспособностью, высокими продуктивными качествами и представляют существенный интерес для мирового коневодства. Отечественные породы лошадей обладают своеобразным генетическим профилем с наличием приватных аллелей, который необходимо учитывать при контроле происхождения и оценке популяционного разнообразия, а также при проведении генетического мониторинга и планировании программ по сохранению и разведению лошадей заводских и местных пород.

Авторы выражают глубокую благодарность и признательность коллегам лаборатории генетики и отдела селекции ФГБНУ ВНИИ коневодства, а

также регистраторам пород и специалистам по коневодству разных хозяйств.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, грант № 075-15-2021-1037 (внутренний № 15.БРК.21.0001).

Исследование одобрено Этическим комитетом – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства”, протокол № 35 от 14 декабря 2023 г.

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. Вдовина Н.В., Юрьева И.Б. Мониторинг генетической структуры мезенской породы лошадей по микросателлитам ДНК // Вавиловский журн. генетики и селекции. 2021. Т. 25.(2): 202–207. <https://doi.org/10.18699/VJ21.024>
2. Блохина Н.В., Храброва Л.А., Зайцев А.М., Гавриличева И.С. Оценка генетического разнообразия микросателлитных локусов у лошадей тяжелоупряжных пород // Генетика и разведение животных. 2018. № 2. С. 39–44. <https://doi.org/10.31043/2410-2733-2018-2-39-44>
3. Гавриличева И.С. Генетико-популяционная характеристика русской рысистой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК // АгроЗооТехника. 2019. Т. 2. № 3. С. 2. <https://doi.org/10.15838/alt.2019.2.3.2>
4. Глазко В.И., Косовский Г.Ю., Глазко Т.Т., Федорова Л.М. ДНК-маркеры и “микросателлитный код” (обзор) // С.-х. биология. 2023. Т. 58. № 2. С. 223–248.
5. Долматова И.Ю., Ниятшин Ф.И., Уразбахтин Р.Ф. Популяционно-генетическая характеристика лошадей башкирской породы по микросателлитам ДНК // Коневодство и конный спорт. 2017. № 4. С. 17–19.
6. Калашников В.В., Храброва Л.А., Зайцев А.М. и др.. Полиморфизм микросателлитной ДНК у лошадей заводских и локальных пород // С.-х. биология. 2011. Т. 46. № 2. С. 41–45.
7. Калашникова Л.А., Новиков А.А., Семак М.С. Развитие генетической экспертизы племенной продукции в животноводстве // Зоотехния. 2022. № 11. С. 25–28.
8. Марзанов Н.С., Насибов М.Г., Марзанова Л.К. и др. Генетические маркеры в теории и практике разведения овец. М.: Пионер, 2010. 184 с.
9. Храброва Л.А. Теоретические и практические аспекты генетического мониторинга в коневодстве: Дис. ... д-ра с.-х. наук. М.: ВНИИ коневодства, Дивово, 2011. 38 с.
10. Храброва Л.А. Стратегия использования генетических маркеров и геномной селекции в коневодстве. Дивово, 2015. 81 с.
11. Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А. Биологические проблемы животноводства в XXI веке. М.: РАСХН, 2008. 501 с.
12. Lippold S., Matzke N.J., Reissmann M. Whole mitochondrial genome sequencing of domestic horses reveals incorporation of extensive wild horse diversity during domestication // BMC Evol. Biol. 2011. V. 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-328>
13. Stock K.F., Jönsson L., Ricard A., Mark T. Genomic applications in horse breeding // Animal Frontiers. 2016. V. 6. I. 1. P. 45–52. <https://doi.org/10.2527/af.2016-0007>
14. Atroshchenko M., Dementieva N., Shcherbakov Yu. et al. The genetic diversity of horse native breeds in Russia // Genes. 2023. V. 14. <https://doi.org/10.3390/genes14122148>
15. Jarne P., Lagoda P.J.L. Microsatellites, from molecules to populations and back // Trends in Ecol. and Evol. 1996. V. 11(10). P. 424–429. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(96\)10049-5](https://doi.org/10.1016/0169-5347(96)10049-5)
16. Khaudov A.D., Duduev A.S., Kokov Z.A. et al. Diversity of Kabardian horses and their genetic relationships with selected breeds in the Russian Federation based on 17 microsatellite loci // IOP Conf. Series. Earth and Envir. Sci. 2019. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/341/1/012072>
17. Khrabrova L.A. Characterization of genetic horse breeding resources in Russia. Lambert Acad. Publishing, OmniScriptum GmbH & Co KG, 2015. 59 p. <https://www.abebooks.com/9783659808814/Characterization-genetic-horse-breeding-resources-3659808814/plp>
18. Храброва Л.А., Блохина Н.В., Белоусова Н.Ф., Котран Е.Г. Оценка генеалогической структуры вятской породы лошадей (*Equus ferus caballus*) с использованием анализа ДНК // Генетика. 2022. Т. 58. № 4. С. 457–462.
19. Blohina N.V., Khrabrova L.A., Gavrilicheva I.S. Application of modern technologies in identifying distinctive features in the subpopulation of Novoaltaiskaya horses // IOP Conf. Series: Earth and Environ. Sci. 2021. V. 624(1). 012019.
20. Zaitcev A.M., Gavrilicheva I.S., Blohina N.V. Assessment of the population structure of horses of the Priobskaya breed based on modern technologies // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 2021. V. 624. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/624/1/012032>

21. *Chang C.C., Chow C.C., Tellier L.C.A.M. et al.* Second-generation PLINK: Rising to the challenge of larger and richer datasets // (Giga)ⁿ Science 2015. V. 4. I. 1. s 13742-015-0047-8. <https://doi.org/10.1186/s13742-015-0047-8>
22. *Francis R.M.* Pophelper: An R package and web app to analyse and visualize population structure // *Mol. Ecol. Resour.* 2017. V. 17. P. 27–32.
23. *Van de Goor L.H.P., Panneman H., Haeringen W.A.* A proposal for standardization in forensic equine DNA typing: allele nomenclature for equine-specific STR loci // *Animal Genet.* 2010. V. 41. № 2. P. 122–127.
24. *Nei M.* *Molecular Evolutionary Genetics.* N.Y.: Columbia Univ. press, 1987. 512 p.
25. *Van de Goor L.H., Van Haeringen W.A., Lenstra J.A.* Population studies of 17 equine STR for forensic and phylogenetical analysis // *Animal Genet.* 2011. V. 42(6). P. 627–633. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2011.02194.x>
26. *Librado P., Khan N., Fages A.* The origins and spread of domestic horses from the Western Eurasian steppes // *Nature.* 2021. V. 598. P. 634–640. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-04018-9>

Analysis of the Genetic Structure of 29 Horse Breeds of Russian Selection by STR Markers

N. V. Blohina^{1, *}, L. A. Khrabrova¹

¹All Russian Research Institute for Horse Breeding, Ryazan oblast, p. Divovo, 391105 Russia

*e-mail: nbloh16@yandex.ru

The current stage of genetic certification of horses of factory and local breeds based on microsatellite analysis makes it possible to quite effectively carry out identification and genetic examination of the origin of breeding animals, as well as solve the problem of assessing and preserving genetic resources. With a reduction in the number of breeding stock to 200–300 mares, observed in a number of breeds, the threat of a decrease in the genetic diversity of populations and the accumulation of genetic load increases, which necessitates the need to study and monitor the genetic structure of horse breeds. In this regard, our comparative genetic analysis of polymorphism of 17 microsatellite loci in 20541 horses of 30 factory and local breeds allows us to certify the basic part of the genetic resources of the horse breeding of the Russian Federation, including riding, trotter, draft and local breeds. During the genetic population analysis of the studied breeds, basic parameters were assessed: the total number of allele variants (N_a), the effective number of alleles (A_e), the average number of alleles per locus (MNA), the level of observed (H_o) and expected heterozygosity (H_e), as well as the coefficient of intrapopulation inbreeding F_{is} . Phylogenetic relationships of breeds were assessed using the R and R Studio software packages. Among horse breeds of different specializations, the highest values of all indicators of genetic diversity (A_e , H_o , H_e and N_a) were determined in aboriginal populations. In the allele pool of local horse breeds, there were rare alleles *ASB2T*, *HMS7S*, *HMS6J*, *HMS6H*, *HMS2T*, *HMS1O*, *HTG7L*, *HTG6L*, *HTG6H*, *VHL20S*, *ASB17Z*, *ASB17X*, *ASB17U*, *LEX3S*, *LEX3R* and *CA425E*, which were absent in horses of factory breeds. Among the riding horse breeds created in Russia, the Budennovsk, Don and Kabardian horse breeds stood out due to the presence of rare alleles. Alleles *ASB2G*, *ASB2F*, *HMS2F*, *HTG7Q* and *ASB23O* were found in trotter horses, which were not identified in the genetic structure of other breeds. The phylogenetic analysis showed the division of horse breeds into two clear subclusters, the first of which included only factory breeds. The second cluster united all the native breeds, as well as the Orlov trotter and a group of draft breeds, which were used for many years as improvers of the local horse population. The analysis of the genetic structure of domestic horse breeds revealed a fairly high reserve of diversity even in small populations, which is an indispensable condition for successful selection in horse breeding.

Keywords: *Equus caballus*, genetic diversity, DNA microsatellites, breed, horse.