



УДК 636.127.1.082.252:575

ВЛИЯНИЕ ИНБРИДИНГА НА ГОМОЗИГОТНОСТЬ ЛОШАДЕЙ ОРЛОВСКОЙ РЫСИСТОЙ ПОРОДЫ

Храброва Л. А., д. с.-х. н.,

Блохина Н.В., к. с.-х. н.

ГНУ ВНИИ коневодства Россельхозакадемии

Проведен анализ взаимосвязи степени гомозиготности микросателлитных локусов и уровня инбридинга у 1194 лошадей орловской рысистой породы. Определено, что степень гомозиготности орловских рысаков варьирует в очень широком интервале (от 0 до 75 %) и имеет нормальное распределение при положительном коэффициенте асимметрии $A_s = 0,186$ и небольшом отрицательном эксцессе $E_x = -0,039$. Средний уровень инбридинга протестированного поголовья лошадей составил 1,61 % по Райту и практически не изменился за четыре последних десятилетия. При этом средний коэффициент инбридинга продуцирующих жеребцов и маток достиг 1,65 % и 1,67 % соответственно, тогда как у рысистого молодняка этот показатель составил 1,45 %. Во всех сравниваемых половозрастных группах лошадей наблюдалась тенденция небольшого увеличения степени гомозиготности по мере увеличения коэффициента инбридинга. Заметное повышение степени гомозиготности лошадей было отмечено только при уровне инбридинга 6,1 % и выше, на границе инбредной депрессии по хозяйственно-полезным признакам. Коэффициент корреляции между степенью гомозиготности микросателлитных локусов и уровнем инбридинга составил 0,079, коэффициент регрессии – 0,546. Во всех группах лошадей было отмечено снижение степени гомозиготности орловских рысаков при инбридинге на уровне 5,1-6,0 %, что обусловлено применением комплексного инбридинга на двух и более предков.

Ключевые слова: генетический маркер, гомозиготность, инбридинг, микросателлиты ДНК, орловская рысистая порода лошадей.

Главное стратегическое направление генетических исследований в животноводстве – это совершенствование оценки племенных качеств животных на основании полученной генетической информации, которая связана с определенными генами или генными комплексами (генетическими маркерами). Благодаря быстрому развитию и совершенствованию ДНК-технологий, общее число определяемых у лошадей маркерных генов уже достигло нескольких сотен. Разработаны методы полного геномного сканирования, что позволяет надежно контролировать значительную часть генома животных и совершенствовать селекционные программы.

Одним из перспективных методов ДНК-тестирования животных является использование полиморфизма микросателлитных локусов, что уже широко практикуется при контроле происхождения и оценке генетического разнообразия популяций. Переход большинства генетических лабораторий на тестирование и контроль происхождения лошадей по полиморфным локусам микросателлитов ДНК существенно расширил круг генетических маркеров, имеющих в распоряжении селекционеров. Для практической селекции сельскохозяйственных животных особенно важно, что широко распространенные в геноме локусы сателлитной ДНК могут быть использованы в качестве генетических маркеров для оценки степени гетерозиготности животных, что является важной составной частью геномной оценки на индивидуальном уровне.

Изучение генетической структуры заводских и местных пород РФ, проведенное в нашей лаборатории по локусам микросателлитов ДНК, показало наличие у них высо-



кого уровня аллельного разнообразия, включающего редкие и уникальные аллели. Сравнительный генетический анализ разных пород подтвердил, что орловский рысак является достаточно уникальной породой, для которой характерны высокий уровень генетического разнообразия, наряду со стабильностью сохранения аллелофонда. В наших исследованиях была поставлена задача изучения возможностей использования 17-ти микросателлитных локусов, используемых при контроле происхождения, для оценки степени гетерозиготности лошадей орловской рысистой породы на индивидуальном уровне, а также влияния инбридинга на степень гомозиготности рысаков.

Наши предыдущие исследования на лошадях чистокровной верховой породы показали, что степень их гомозиготности зачастую не зависит от наличия инбридинга в родословной, и самый большой размах variability этого показателя наблюдается в группе инбредных лошадей (Храброва Л.А., 2010).

Материалы и методы исследований. При проведении работы были использованы результаты тестирования 1194 орловских рысаков по 16-ти локусам микросателлитной ДНК, включая АНТ4, АНТ5, ASB2, ASB17, ASB23, СА425, HMS1, HMS2, HMS3, HMS6, HMS7, НТГ4, НТГ6, НТГ7, НТГ10, VHL20. Тестирование лошадей по локусам микросателлитов ДНК проводили в лаборатории генетики ВНИИ коневодства. ДНК из волосяных луковиц и крови лошадей выделяли с использованием наборов «ExtraGene™ DNA Prep 200» и «Diatom™ DNA Prep 200», производства ООО «Лаборатория Изоген», Россия. Амплификацию ДНК проводили методом ПЦР с использованием мультиплексного набора праймеров StockMarks®. Для электрофоретического разделения продуктов амплификации использовали 4-х канальный автоматический анализатор ABI 3130 производства Applied Biosystems. Данные по локусу LEX 3, локализованному в X-хромосоме, не были включены в обработку, чтобы получить сопоставимые данные о степени гомо/гетерозиготности лошадей разного пола. Учитывая разную интенсивность отбора, генетико-популяционный анализ проводили в трех группах лошадей, включающих 190 жеребцов-производителей, 688 маток и 316 голов молодняка орловской рысистой породы. Определение степени гомозиготности лошадей (Ca) проводили как средний суммарный показатель по протестированным микросателлитным локусам. Коэффициент инбридинга рассчитывали по формуле Райта в модификации А. Д. Кисловского с использованием программного обеспечения ИПС КОНИ-3, с учетом 5 поколений родословной. Инбредные лошади были подразделены на группы в зависимости от коэффициента инбридинга с интервалом, равным 1,0 %. Характер нормальности распределения степени гомозиготности микросателлитных локусов лошадей оценивали по алгоритму Пирсона и другим критериям (Меркурьева, Е. К., 1970). Математическую обработку данных проводили при помощи программ MS Excel и Statistica 6.0.

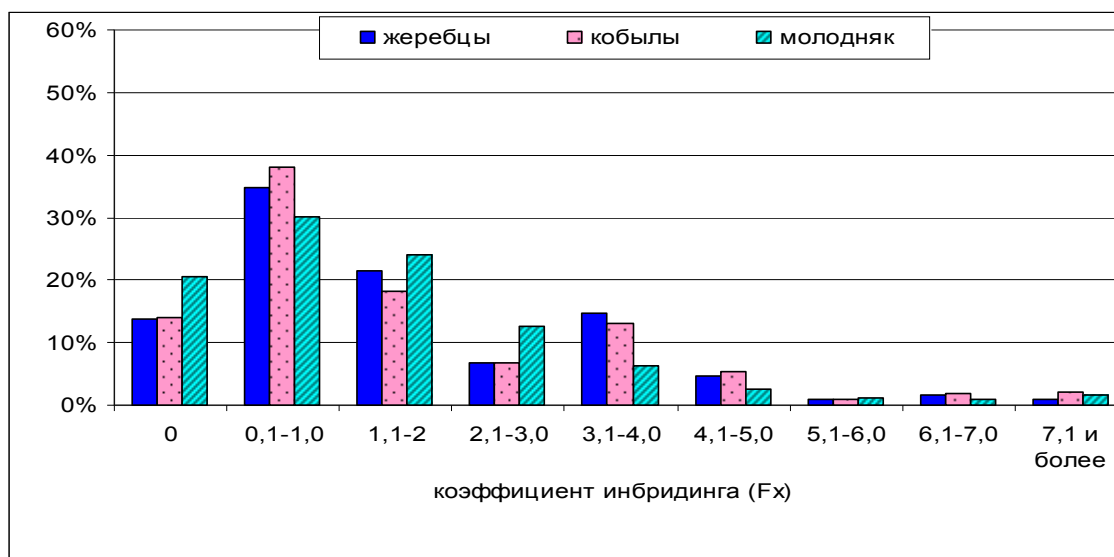
Результаты исследований. При анализе родословных 1194 орловских рысистых лошадей было установлено, что только 13,7 % жеребцов-производителей, 14,0 % маток и 20,6 % молодняка были получены методом неродственного спаривания, или аутбридинга (табл. 1), и не имели повторяющихся кличек предков в пяти рядах родословной.



**Распределение лошадей орловской рысистой породы
с разным уровнем инбридинга (%)**

Группа лошадей	n	Коэффициент инбридинга (%)								
		0	0,1-1,0	1,1-2	2,1-3,0	3,1-4,0	4,1-5,0	5,1-6,0	6,1-7,0	7,1 и более
Жеребцы	190	13,68	34,74	21,58	6,84	14,74	4,74	1,05	1,58	1,05
Кобылы	688	13,95	37,94	18,17	6,69	13,08	5,38	0,87	1,89	2,03
Молодняк	316	20,57	30,06	24,05	12,66	6,33	2,53	1,27	0,95	1,58
Всего	1194	15,66	35,34	20,27	8,29	11,56	4,52	1,01	1,59	1,76

В структуре поголовья инбредных лошадей всех половозрастных групп явно преобладали особи с отдаленным инбридингом $F_x=0,1-1,0$ (рис. 1).



**Рис. 1. Распределение лошадей орловской рысистой породы
с разным уровнем инбридинга.**

С использованием такого инбридинга были получены 422 лошади, что в целом составило 35,3 % от всего проанализированного поголовья (см. табл. 1). К этой группе были отнесены 66 жеребцов-производителей (34,7 %), 261 матка (37,9 %) и почти треть часть поголовья молодняка (30,1 %).

Практически пятая часть всех орловских рысаков (20,3 %) имела коэффициент инбридинга на уровне 1,1-2,0 % по Райту, и в их родословных повторялись клички предков в III-IV и II-V рядах родословной или встречался комплексный инбридинг в степени IV-IV и далее. При этом различия между разными группами лошадей были несущественными

Более высокий уровень инбридинга (2,1-3,0 %), был отмечен в родословных 8,3 % лошадей, такой инбридинг встречался у 6,7-6,8 % жеребцов и маток и более часто у молодняка (12,7 %). Инбридинг на уровне $F_x=3,1-4,0$ % в среднем имели 11,6 % лошадей, в родословных которых повторялись клички предков в III-IV и II-V рядах родо-



словных или встречался комплексный инбридинг в степени IV-IV и далее.

Доля орловских рысаков, имеющих коэффициент инбридинга 4,1% и выше, в дальнейшем постепенно снижалась (см. на рис. 1). Только 1,8 % лошадей этой породы были получены с использованием комплексного инбридинга на уровне 7,1 % и более. Средний уровень инбридинга по всему поголовью лошадей составил 1,61 % по Райту и практически не увеличился за последние десятилетия. При этом средний коэффициент инбридинга продуцирующих жеребцов и маток составил 1,65 и 1,67 % соответственно, тогда как у рысистого молодняка – только 1,45 %.

Анализ структуры поголовья лошадей орловской рысистой породы по средней степени гомозиготности показал, что во всех группах и в целом по популяции она соответствует нормальному распределению ($P > 0,999$) при положительном коэффициенте асимметрии $A_s = 0,186$ и небольшом отрицательном эксцессе $E_x = -0,039$. При этом самая многочисленная группа из 260 лошадей (21,8 %) образовала модальный класс со степенью гомозиготности 31,25 %. Важно отметить, что самый большой разброс показателей степени гомозиготности был зарегистрирован в группе лошадей с умеренным инбридингом ($F_x = 0,1-1,0$). В этой группе был зарегистрирован широкий интервал колебаний от 0 до 75,0 %. Степень гомозиготности аутбредных лошадей также варьировала в большом диапазоне от 0 (100 % гетерозиготы) до 56,3 %, то есть достигала значений гораздо выше и ниже среднего популяционного уровня. В предыдущих исследованиях такая же закономерность была отмечена у лошадей чистокровной верховой породы.

У жеребцов-производителей при увеличении уровня инбридинга не было отмечено заметного роста степени гомозиготности, анализируемый показатель менялся зигзагообразно (табл. 2).

Таблица 2

**Степень гомозиготности лошадей орловской рысистой породы
с разным уровнем инбридинга**

Са (%)	Уровень инбридинга (F_x %)									Всего голов
	0	0,1-1,0	1,1-2	2,1-3,0	3,1-4,0	4,1-5,0	5,1-6,0	6,1-7,0	7,1 и более	
0,00	1	1								2
6,25	7	14	5	5	1	1		1	1	35
12,50	9	34	6	5	3	5				62
18,75	25	51	29	15	21	5	4		2	152
25,00	38	73	57	19	22	8	2	3	2	224
31,25	41	90	51	23	36	11	2	2	4	260
37,50	29	65	46	12	19	10	2	4	6	193
43,75	25	58	25	11	19	5	2	6	4	155
50,00	7	23	13	3	9	5		2	1	63
56,25	5	7	6	5	7	4				34
62,50		4	4					1	1	10
68,75		1			1					2
75,00		1		1						2
81,25										
Итого	187	422	242	99	138	54	12	19	21	1194
В %	15,66	35,34	20,27	8,29	11,56	4,52	1,01	1,59	1,76	100,0
Са _{ср.} %	30,3	30,85	31,92	30,37	33,11	32,87	29,17	37,83	34,82	31,46
±m	0,008	0,006	0,007	0,013	0,010	0,017	0,028	0,028	0,026	0,003



При этом высокие коэффициенты инбридинга на уровне $F_x = 6\%$ и выше были выявлены только у 5 производителей, двое из которых имели достаточно высокую степень гетерозиготности на уровне 75% при средней степени гетерозиготности лошадей орловской рысистой породы 68,54%.

Самым гомозиготным среди производителей оказался жер. Илвач 2005 г.р. (Листопад – Излучина), инбредный на жер. Первач в степени III,IV-IV и коб. Излучина в степени IV-IV ($F_x = 3,125\%$).

Средняя степень гетерозиготности жеребцов составила 68,4% и оказалась даже несколько выше, чем у маток (68,1%). Самый высокий уровень гетерозиготности микросателлитных локусов был зарегистрирован у молодняка (69,58%), но в целом различия между группами были недостоверными.

По сравнению с аутбредной группой степень гомозиготности инбредных кобыл по мере увеличения коэффициента инбридинга также менялась незначительно и увеличивалась только при $F_x > 6,1$ и более, что наглядно видно на графике (рис. 2).

В группе рысистого молодняка максимальная степень гомозиготности была отмечена на уровне 62,5% и наблюдалась менее выраженная вариабельность лошадей по степени гетерозиготности микросателлитных локусов (см. табл. 2). Практически 40% лошадей этой группы характеризовались степенью гомозиготности на уровне 25,0-31,3%, и только 3,8% молодых рысаков имели коэффициент инбридинга 5% и более.

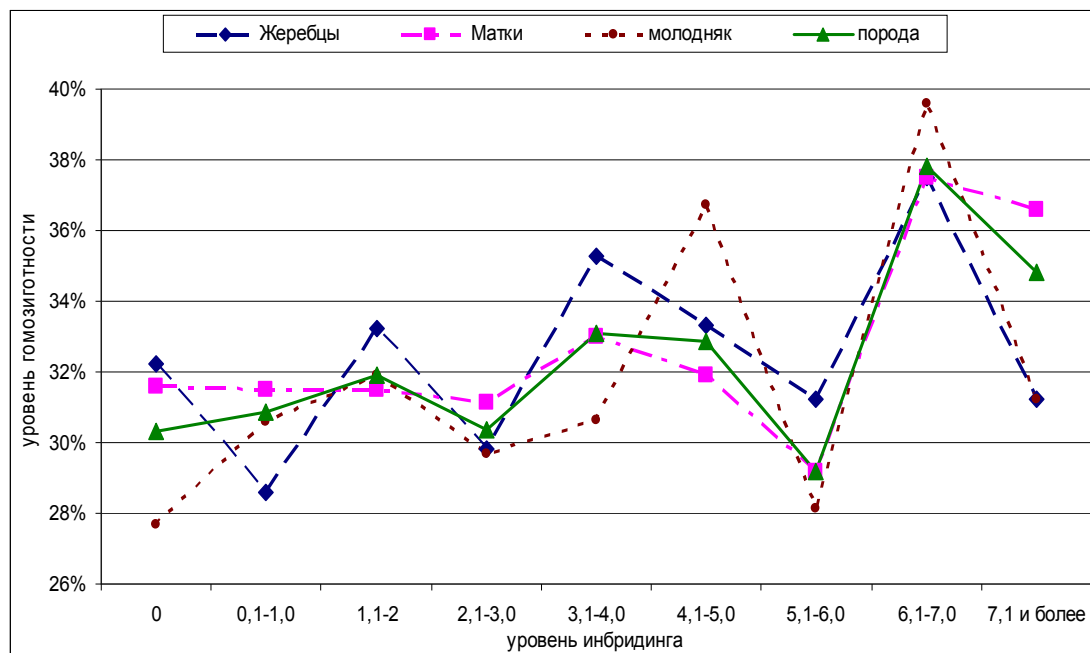


Рис. 2. Степень гомозиготности лошадей орловской рысистой породы с разным уровнем инбридинга.

При анализе изменений степени гомозиготности по мере повышения коэффициента инбридинга было установлено, что во всех половозрастных группах лошадей и по всему поголовью в целом прослеживается небольшая положительная динамика увеличения этого показателя (см. рис. 2). Несмотря на колебания средней степени гомозиготности инбредных лошадей разных групп в интервале 28,6 – 39,6%, этот показатель имел явную тенденцию к повышению при близкородственных спариваниях.

Коэффициент корреляции между коэффициентом инбридинга и степенью гомо-



зиготности по локусам микросателлитов ДНК оказался положительным, но незначительным по своей величине (0,079). Зато регрессионный анализ выявил весомую зависимость между этими показателями – 0,546.

Во всех группах лошадей и в породе в целом была отмечена закономерность некоторого снижения степени гомозиготности рысаков при коэффициенте инбридинга на уровне $F_x = 5,1-6,0$ % и $F_x > 7,1$ и более, что может быть обусловлено его комплексным характером и самим алгоритмом вычисления величины F_x по формуле Райта.

В целом динамика изменений степени гомозиготности во всех сравниваемых половозрастных группах лошадей имела однонаправленную тенденцию, и различия между группами были статистически недостоверными.

Полученные результаты свидетельствуют, что уровень инбридинга, рассчитанный по формуле Райта и используемый в селекционных программах, характеризует лишь вероятность перехода части генов в гомозиготное состояние. Поэтому очень часто этот показатель не соответствует фактической гомозиготности животных, для определения которой могут быть использованы микросателлитные локусы и другие ДНК-маркеры, характеризующиеся высоким уровнем полиморфизма.

Выводы:

1. Степень гомозиготности аутбредных и умеренно инбредных лошадей может варьировать в очень широком интервале (от 0 до 75 %) и имеет нормальное распределение с модальным классом 31,25 %. Повышение степени гомозиготности орловских рысаков было отмечено только при уровне инбридинга 6,1 % и выше, на границе инбредной депрессии по хозяйственно-полезным признакам.

2. Динамика изменений степени гомозиготности по мере увеличения коэффициента инбридинга во всех сравниваемых половозрастных группах лошадей имела однонаправленную тенденцию. При этом во всех группах лошадей была отмечена закономерность резкого снижения степени гомозиготности орловских рысаков при коэффициенте инбридинга на уровне $F_x = 5,1-6,0$ %.

3. Коэффициент корреляции между степенью гомозиготности микросателлитных локусов и уровнем инбридинга составил 0,079, коэффициент регрессии – 0,546. Это свидетельствует, что данные тестирования лошадей по локусам микросателлитов ДНК и полиморфных систем крови, могут быть использованы для оценки степени гетерозиготности на индивидуальном и популяционном уровнях.

Библиографический список

1. Антипов Г. П. О научной обоснованности метода определения инбридинга / Г. П. Антипов // Зоотехния. – 2003. – № 2. – С.2-5.
2. Ерохин А. И. Инбридинг и селекция животных / Ерохин А. И., Солдатов А. П., Филатов А. М. – М.: Агропромиздат, 1985. – 164 с.
3. Меркурьева Е. К. Биометрия в селекции и генетике сельскохозяйственных животных / Меркурьева Е. К. – М.: Колос, 1970. – 423 с.
4. Рождественская Г. А. Орловская рысистая порода и методы ее совершенствования / Г. А. Рождественская // Совершенствование заводских пород лошадей : сб. науч. тр. ВНИИ коневодства. – 1978. – Т. XXXI. – С. 3 – 125.
5. ДНК-маркеры в исследовании генофонда лошади / [Г. У. Сулимова, А. В. Юдин, Т. А.Коваленко и др.] // Наука о коневодстве на рубеже веков : сб. науч. тр. / ВНИИ коневодства. – Дивово, 2005. – С. 146-165.
6. Храброва Л. А. Влияние инбридинга на степень гомозиготности чистокровных верховых лошадей по локусам микросателлитов ДНК / Л.А. Храброва // Коневодство и кон. спорт. – 2010. – № 5. – С.7-8.
7. Bowling A. T. The genetics of the horse // A. T. Bowling, A. Ruyinsky – CABI



Publishin, Wallington, UK. – 2000. – 528 p.

8. Curik J. Inbreeding, microsatellite heterozygosity and morphological traits in Lipizzan horses / J. Curic, P. Zechner, J. Solkner [et all.] // J. Heredity, 2003. – Vol. 94, N 2. – P.125-132.

ВПЛИВ ІНБРИДИНГУ НА ГОМОЗИГОТНІСТЬ КОНЕЙ ОРЛОВСЬКОЇ РИСИСТОЇ ПОРОДИ

Храброва Л. А., Блохіна Н.В., ГНУ ВНДІ конярства Россільгоспакадемії

Проведено аналіз взаємозв'язку ступеня гомозиготності мікросателітних локусів та рівня інбридингу у 1194 коней орловської рисистої породи. Визначено, що ступінь гомозиготності орловських рисаків варіює в дуже широкому інтервалі (від 0 до 75 %) і має нормальний розподіл при додатному коефіцієнті асиметрії $As = 0,186$ і невеликому від'ємному ексцесі $Ex = -0,039$. Середній рівень інбридингу протестованого поголів'я коней становить 1,61 % за Райтом і практично не змінився за чотири останні десятиліття. При цьому середній коефіцієнт інбридингу продукуючих жеребців і маток досяг 1,65 % і 1,67 % відповідно, тоді як у рисистого молодняка цей показник становить 1,45 %. У всіх порівнюваних статевовікових групах коней спостерігалася тенденція до невеликого збільшення ступеня гомозиготності у міру збільшення коефіцієнта інбридингу. Помітне підвищення ступеня гомозиготності коней було відзначено тільки при рівні інбридингу 6,1% і вище, на межі інбредної депресії за господарсько-корисними ознаками. Коефіцієнт кореляції між ступенем гомозиготності мікросателітних локусів і рівнем інбридингу становив 0,079, коефіцієнт регресії - 0,546. У всіх групах коней було відзначено зниження ступеня гомозиготності орловських рисаків при інбридингу на рівні 5,1-6,0 %, що обумовлено застосуванням комплексного інбридингу на двох і більше предків.

Ключові слова: генетичний маркер, гомозиготність, інбридинг, мікросателіти ДНК, орловська рисиста порода коней.

THE INFLUENCE OF INBREEDING ON THE HOMOZYGOSITY IN ORLOV TROTTER

Khrabrova L.A., Blohina N.V.; The All-Russian Research Institute for Horse Breeding

It has been analyzed the interrelation of the degree of homozygosity of microsatellite loci and the level of inbreeding in 1194 Orlov Trotter horses. It has been determined that the degree of homozygosity of Orlov Trotters varies within a wide range (from 0 up to 75%) and has a normal distribution with a positive coefficient of asymmetry $As = 0,186$ and a small negative excess $Ex = -0,039$.

The average level of inbreeding of the tested horses amounted to 1.61% by Wright's inbreeding coefficient (F_x) in 5 generations in pedigrees and practically has not changed over the past four decades. The average coefficient of inbreeding in sires and mares reached 1,65% and 1.67%, respectively, while in young stock - only 1,45%.

Dynamics of changes in the degree of homozygosity with increase of inbreeding coefficient in all sex and age groups of compared horses had unidirectional trend of slowly increasing. The significant increase of the degree of homozygosity horses was noted only at the level of 6.1% coefficient of inbreeding and more, on the margin of inbred depression for economically valuable traits. The coefficient of correlation between the degree of homozygosity of microsatellite loci and the level of inbreeding was 0,079, the regression coefficient - 0,546. In all groups of horses it has been found an evident decline in the degree of homozygosity in Orlov Trotters with inbreeding at the level of 5.1-6.0, due to complex inbreeding on two or more ancestors.