

ДНК-ТЕХНОЛОГИИ В ИЗУЧЕНИИ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО РОДСТВА ПОПУЛЯЦИИ СЕРОГО УКРАИНСКОГО СКОТА

В статье филогенетически проанализирован генофонд исследуемых животных, произведен популяционно-генетический мониторинг 22 пород крупного рогатого скота, разводимых в Украине и России с использованием микросателлитных ДНК.

Ключевые слова: популяция, крупный рогатый скот, порода, генофонд, ДНК-технологии, кластер.

Постановка проблемы. Сохранению биологического разнообразия во всём мире заслуженно уделяется большое внимание. Первым этапом в сохранении генетических ресурсов должна быть их каталогизация. Ныне повсеместно ведётся активная работа по каталогизации и изучению локальных пород [1]. Большинство пород крупного рогатого скота представлены местными популяциями, довольно значительно различающимися по морфологии, а также по комплексам генов, сложившимся под действием естественного и искусственного отбора. При сохранении породы в качестве потенциального материала для последующего использования в селекции необходимы сведения о её генофонде, поскольку именно генами и их сочетаниями определяются хозяйственно важные свойства породы.

Анализ последних исследований и публикаций. Необходимость мониторинга и сохранение генетической изменчивости локальных пород обсуждались многими учеными [2–6]. Авторы сходятся во мнении, что помимо культурно-исторического и экономико-биологического аргументов в пользу изучения генофонда локальных пород, также имеется и научно-практический, поскольку появляется возможность вовлечения полученных данных в реальный селекционный процесс с целью увеличения продуктивности, а также раскрытия механизма пороодообразовательных процессов.

Генофонд локальной серой украинской породы является уникальным представителем серого степного скота. Это очень древний скот. Существует несколько версий распространения серого степного скота по Евразийскому континенту, по одной из них серый степной скот из восточных степей Украины мигрировал на запад и юго-запад Европы (великое переселение народов, 5–7-й век н.э.), через Бессарабию и степные районы Румынии до Паннонской низменности. На севере он доходил до Саратова, на востоке – до Прикаспийской низменности, где соприкасался с калмыцким скотом, и на востоке достиг Пириней в Испании, из Испании он завозился в Англию (где частично повлиял на формирование паркового скота) и Америку (скот Криолло), по второй версии в 3-2 тысячелетии до нашей эры в Риме разводили для культовых жертвоприношений серый (белый) скот, который со временем распространился по всей римской империи [7]. Рядом исследователей многократно отмечались ценные наследственно обусловленные качества серого украинского скота: исключительная приспособленность к местным условиям, крепкая конституция, выносливость, мелкоплодие, высокая жизнеспособность, устойчивость к различным заболеваниям, комбинированное направление продуктивности, высокая жирность молока, хорошие мясные качества, первосортное качество кожи и другие [7–12].

Но история мировой зоотехнии свидетельствует о том, что изменение социально-экономических условий со всей неизбежностью всегда влекло за собой и коренную перестройку типа используемых животных как основного средства производства [6,13].

По этой причине чистопородное разведение серого украинского скота прекратилось, за исключением четырех генофондных стад в Украине: П/З "Поливановка" Днепропетровской обл., ООО "Маркеево" Херсонской обл., ООО "Голосеево" Киевской обл., ООО "Фота" Донецкой обл. (отсутствие заинтересованности чиновников из министерств и ведомств, а также финансовой помощи государства может привести к исчезновению и этих стад) и одного в России: экспериментальные хозяйства Сибирского отделения РАН в Республике Алтай, О/Х "Черга".

В связи с этим, под руководством д-ра с.-х. наук, проф. Винничука Д.Т., с 2007 г. проводятся исследования генофонда серой украинской породы (Гузеев Ю.В., Демчук Н.П.), отбираются

биопробы (ткань с ушной раковины, сперма самцов) для ДНК-диагностики (сателлитные ДНК) и создания банка ДНК-биопроб.

Цель исследований – создание банка ДНК-биопроб для характеристики современной популяции серого украинского скота ООО "Голосеево" Киевской области с использованием молекулярно-генетических маркеров, установление генеалогических связей с другими породами, а также оценка возможности использования микросателлитных профилей в качестве критериев определения породной принадлежности особей, происхождение которых вызывает сомнения. Исследования проведены в лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики животных государственного национального университета Всероссийского института животноводства Российской сельскохозяйственной академии под руководством акад. Зиновьевой Н.А. (п. Дубровицы, Московская обл.).

Материалы и методы исследований. Материалом для исследований служили биопробы крупного рогатого скота серой украинской породы стада ООО «Голосеево» Киевской области. В качестве сравнения были использованы чистопородные популяции пород голштинская черно-пестрая, черно-пестрая, холмогорская, швицкая и сучевская, вазузовский тип, а также чистопородные и голштинизированные популяции ярославской, бестужевской, симментальской и костромской пород, пробы ДНК которых сохраняются в банке ДНК Центра биотехнологии и молекулярной диагностики ГНУ ВНИИЖ Россельхозакадемии.

В качестве молекулярно-генетических маркеров были выбраны микросателлиты – короткие (1–7 п.о.) tandemно расположенные участки ДНК, обладающие высокой степенью полиморфизма [14]. Исследования проводились по 13 локусам: TGLA126, TGLA122, INRA023, ILST005, ETH185, ILST006, BM1818, BM1824, BM2113, ETH10, ETH225, SPS115, TGLA227. Электрофоретическое разделение фрагментов ДНК методом капиллярного электрофореза проводили на приборе MegaBase 500. Для идентификации аллелей исследованных локусов MC использовали программное обеспечение Genetic Profiler 2.0. Данные об аллелях каждого животного суммировали в электронной таблице Microsoft Excel. Полученная матрица генотипов служила основой для статистической обработки результатов. Статистическую обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Structure, версия 2.3.1. (2009), GenAlEx, версия 6 (2006) и Phylip Tree View (2005). Породную принадлежность животных оценивали по критерию Q-коэффициента членства каждой из особей в соответствующей популяции (кластере), используя базовый метод, описанный Pritchard с соавторами [15] (Structure, версия 2,0) с модификацией для малых выборок, предложенной Hubisz с соавторами [16] (Structure, версия 2,0).

Результаты исследований и их обсуждение. Результаты анализа полиморфизма микросателлитов у серого украинского скота в сравнительном аспекте представлены на рисунке 1.

По краниологическим признакам домашний крупный рогатый скот делят на четыре основные подвиды: европейский скот степных и равнинных зон – длиннорогий (*Bos taurus primigenius*), европейский скот горных и лесных зон – короткорогий (*Bos taurus brachyceros*), центральноазиатский скот (*Bos taurus turanomonolicus*) и южно-азиатский и североафриканский горбатый скот – зебу (*Bos taurus indicus*) [17].

Согласно краниологической классификации Е.Ф. Лискуна, основанной на различиях в строении черепа, выделяют следующие типы крупного рогатого скота:

- узколобый, к которому относят голландскую, холмогорскую, серую украинскую, ярославскую, тагильскую, красную степную и др.;
- лобастый – симментальскую и все производные от нее породы;
- короткорогий – швицкую, лебединскую и др.;
- короткоголовый – тирольскую, герефордскую, красную горбатовскую, казахскую белоголовую и др.;
- пряморогий – калмыцкую, монгольский скот.
- кроме того, выделяют комолый тип – все безрогие породы Северной Европы [18].

Бурый скот относится к *Bos taurus brachyceros* (короткорогий), а пестрый скот, в свою очередь, подразделяется на два отродья: бело-палевый или симментальский и черно-пегий или фрейбургский скот и относится к типу *Bos taurus frontosus* (лобастый).

С целью изучения филогенетического родства пород России и Украины нами были выполнены исследования полиморфизма ДНК по 13 микросателлитным маркерам крупного рогатого скота. Полученные экспериментальные данные явились основой для построения дендрограммы взаимоотношений между различными породами, построенной с использованием алгоритма М. Нея [19]. Как показано на рисунке 1, все исследованные породы крупного рогатого скота России и серая украинская сгруппировались в три обширных кластера, с несколькими подкластерами внутри.

Анализ структуры генеалогического дерева показывает, что формирование кластеров и ветвей носило ярко выраженный породный характер. Первый кластер представили животные бурых и палево-пестрых пород – швицкой: российской и американской селекции, а также нового типа – смоленского внутри нее; сычевской, симментальской, костромской пород. Швицкий и симментальский скот был выведен на территории одного государства – Швейцарии, что логично объясняет их совместную кластеризацию. При создании костромской породы местный скот скрещивали со швицкими быками, что и отразилось на филогенетическом родстве пород друг с другом. По краниологической классификации, основная масса пород этого кластера относится к группе короткорогого, лобастого (коротколобого и длиннолобого) скота – *Bos taurus brachyceros*.

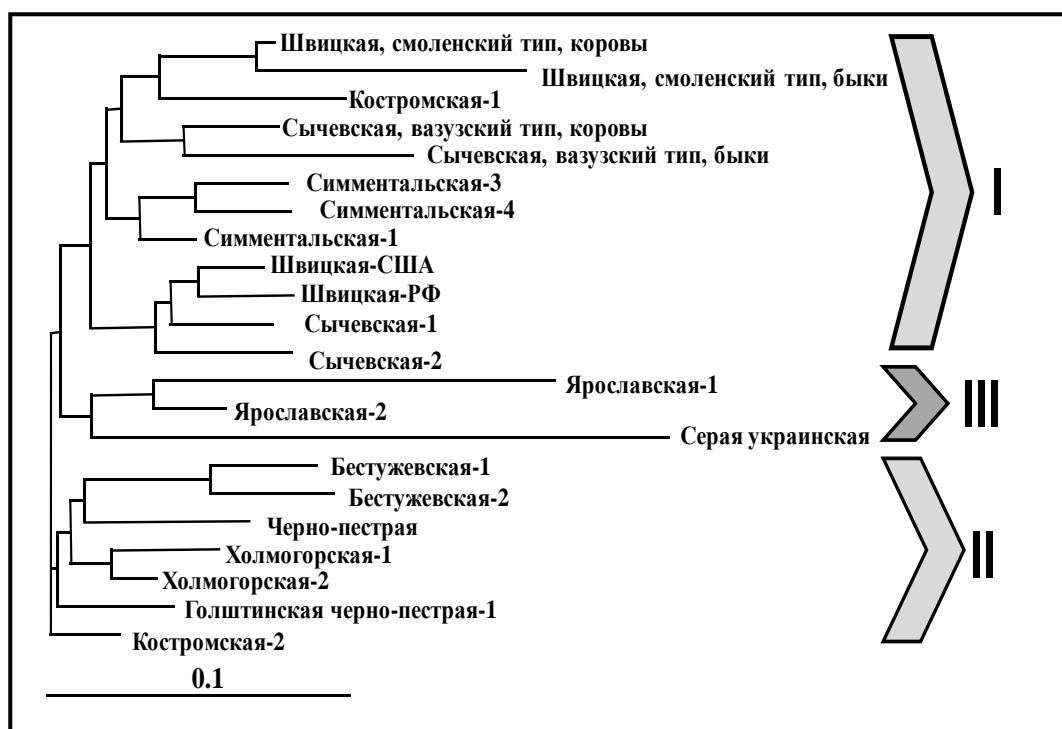


Рис.1. Дендрограмма филогенетического родства крупного рогатого скота различных пород (по Nei, 1983).

Сычевская порода создана в результате скрещивания западно-русского скота с симментальскими производителями и длительной племенной работы с высококровными помесями. Поэтому по краниологической классификации сычевская порода относится к типу *Bos taurus frontosus* [20].

Второй кластер образуют, в основном, черно-пестрые породы, или породы, в чьем генотипе велика доля крови голштинского скота – голштинская черно-пестрая, черно-пестрая российской селекции, холмогорская.

Некоторым особняком стоит бестужевская порода, в которой подкластер образуют чистопородные и помесные с голштинской красно-пестрой породой животные. Н.Н. Колесник считает, что популяция бестужевского скота – это результат сложной метизации нескольких пород: голландской, шортгорнской, симментальской, холмогорской и местной группы скота [16]. Как

сообщает Н.Г. Дмитриев, на некоторых этапах создания породы иногда ее скрещивали с холмогорским и тирольским скотом, однако это не оказало существенного влияния на бестужевскую породу. Вместе с тем, незначительная доля крови холмогорского скота привела к объединению животных бестужевской породы с холмогорскими коровами в один общий кластер. По краниологической систематике бестужевская и холмогорская породы относятся к типу *Bos taurus primegenius* [17,18].

Костромские животные с долей кровности по голштинской черно-пестрой породе более 50 % образуют связующее звено между чистопородными животными данной породы и вторым кластером пород.

Наибольшей генетической удаленностью от всех изученных пород крупного рогатого скота, характеризуется кластер, представленный ярославской и серой украинской породами. Серая украинская порода является автентичным представителем серого степного скота. Майноне пишет: «Чума сильно сократила численность туземного скота, а подольский скот, как более устойчив к эпизоотиям, получил распространение»[20].

Н.А. Кравченко: «Существует две главные версии происхождения серого степного скота. Сторонники первой из них (Л. Адамец, А.А. Браунер, В.И. Громова и др.) считают его прямым потомком дикого европейского тура. В пользу этого говорит сходство по телосложению, крупности, строению черепа, против свидетельствует отличие в мастях (образованное смешением белых и черных шерстинок у серого скота и черно-бурой с трехцветностью каждой шерстинки у тура) и в строении рогов (у европейского тура они направлены вперед). Сторонники другой версии (О. Роде, И.О. Широких, Н.Н. Колесник и др.) считают серый степной скот коренной породой Азии и Африки, попавшей на Украину и в южные страны Европы в связи с переселением народов с востока на запад. На Украину ее предки могли попасть с половцами, печенегами, хазарами и другими воинственными кочевыми народами, переселившимися в украинские степи из Азии. Весьма показательно большое сходство в строении рогов и тела известных изображений безгорбого скота на древнеегипетских рисунках с современным серым степным скотом». По Н.Н. Колеснику (1949), южный длиннорогий степной скот разводился в древние времена персами, народами Малой Азии, египтянами. Этот скот туго поддавался переделке, но при разведении его в неодинаковых природно-хозяйственных условиях, в конце концов, дифференцировался на несколько пород и отродий.

Происходило ли скрещивание первичного серого скота со скотом другого происхождения? Очевидно, происходило и не могло не способствовать образованию различий между современными породами, представленными этим типом. По И.О. Широких (1931), наиболее вероятно, что в сером степном скоте путем скрещивания были издавна объединены полезные особенности не одной, а двух (а, может быть, и нескольких) исходных форм, но это происходило в весьма давние времена [11].

Среди пород крупного рогатого скота, разводимых в России, ярославская порода занимала большое и важное место по численности и широкому распространению. По краниологической классификации ярославская порода, как и серая украинская, относится к типу *Bos taurus primegenius*. Своими высокими продуктивными качествами – большими удоями и хорошей жирностью молока, этот скот завоевал широкую известность и издавна пользуется популярностью далеко за пределами своей родины – Ярославской области.

Впервые в специальной литературе название "ярославский скот" появилось в середине XIX в. (А. Ильинский, 1854; Д.А. Реутович, 1854, и др.). Позднее оно встречается в отчете комиссии по устройству 1-й Всероссийской выставки крупного рогатого скота в Петербурге в 1869 г., на которой был представлен ярославский скот и где он получил высокую оценку. По описанию выставочной комиссии коровы ярославской породы были среднего роста и очень молочны. Молоко их жирнее молока холмогорок, а по удою они незначительно уступают последним.

О происхождении ярославского скота в литературе второй половины XIX в. существовали различные точки зрения. Большинство исследователей и специалистов, изучавших этот скот, сходились на утверждении, что он произошел от простого местного скота путем его улучшения, без заметного влияния животных привозных пород.

Хотя в истории образования ярославского скота были такие периоды, когда завозимый помещиками иностранный скот в известной мере проникал и в крестьянские хозяйства, но влияние его было чрезвычайно незначительно и по существу не оставило никаких следов.

Профессор М.И. Придорогин, описывая великорусский скот (к которому он относит и ярославскую породу), писал, что хотя на громадной территории разведения великорусского скота, при нашей любви к скрещиванию с иностранными породами, вряд ли существуют места, за которые можно было бы поручиться, что там такого скрещивания не происходило, тем не менее нельзя преувеличивать значения влияния его на тип нашего скота. На вопрос: можно ли весь скот в целом назвать метисным? ответ может быть только отрицательным. Наблюдения показывают, что в общем великорусская порода имеет своеобразный тип, отличный от всякой иностранной породы.

Один из крупных знатоков животноводства второй половины XIX в. проф. И.Н. Чернопятков также считал, что основную роль в создании ярославской породы играют местные условия. Он писал, что ярославский скот образовался под влиянием естественных климатических и физических условий и уже в настоящем своем состоянии представляет довольно хороший молочный скот. Он считал также, что ярославский скот пригоден и для откорма. Влияние иностранного скота на создание русских пород И.Н. Чернопятков считал ничтожным.

По мнению И.Ф. Ивашкевича, всесторонне обследовавшего ярославскую породу в 1888-1890 гг. в основных районах ее возникновения, нет никакого основания утверждать, что ярославский скот своей молочностью, своей сельскохозяйственной пригодностью обязан скрещиванию с культурными породами.

К таким же выводам пришли и другие исследователи, изучавшие ярославский скот: К.Э. Линдеман, А.П. Перепелкин, Ф.В. Сокульский, А.А. Калантар, М.В. Нестеров, П.Ф. Ярославцев.

Таким образом, можно считать бесспорным факт происхождения ярославской породы от местных популяций северно-русского скота, без сколько-нибудь заметного влияния на ее образование животных иностранных пород [1, 6, 7, 10, 17, 18, 20, 21].

Выводы. 1. Микросателлитные маркеры являются объективным инструментом, позволяющим характеризовать уникальность генофонда существующих пород крупного рогатого скота, что и было показано в данном исследовании, проведенном на 22 породах и популяциях крупного рогатого скота России и серой украинской породой, разводимой в Украине. 2. Генезис отдельных популяций и пород скота может быть прослежен по дендрограммам филогенетического родства крупного рогатого скота различных пород. 3. Серый украинский скот имеет уникальную генетическую ценность и в будущем будет востребован при создании новых специализированных и комбинированных пород.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Захаров И.А. Генофонды сельскохозяйственных животных: генет. ресурсы животноводства России / Отв. ред. И.А. Захаров; ИОГен им. Н.И. Вавилова РАН. – М.: Наука, 2006 – 462 с.
2. Завертяев Б.П. Проблемы сохранения генофонда сельскохозяйственных животных. / Б.П. Завертяев // Сел. хозяйство за рубежом. – 1983. – № 11. – С. 45–47.
3. Винничук Д.Т. Сохранение генофонда сельскохозяйственных животных / Д.Т. Винничук // Молочно-мясное скотоводство. – 74 вып. – К.: Урожай, 1989. – С. 3 – 8.
4. Шавырина К.В. Сохранение биоразнообразия пород – гарантия устойчивого развития молочного скотоводства / К.В. Шавырина, Н.Г. Букаров // Эколого-генетические проблемы животноводства и экологически безопасные технологии производства продуктов питания. – Тезисы докладов. – Дубровицы, 1998. – С 73–75.
5. Введение в молекулярную генную диагностику сельскохозяйственных животных / Н.А. Зинькова, Е.А. Гладырь, Л.К. Эрнст, Г. Брем. – Дубровицы, 2002. – 212 с.
6. Эрнст Л.К. Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных в России и сопредельных странах / Л.К. Эрнст, Н.Г. Дмитриев, И.А. Паронян. – С-Пб.: АООТ «Иван Федоров», 1994. – 472 с.
7. Bonadonna T. Le razze bovine / T. Bonadonna // Edizioni "Progresso zootecnico". – Milano, 1959. – P. 1037.
8. Калантар А.А. Русские породы скота и их значение для племенного скотоводства / А.А. Калантар // В кн.: Племенное дело в крестьянском хозяйстве. – М.: Книгосоюз, 1928. – С. 352–357.
9. Щепкин М.М. Избранные сочинения / М.М. Щепкин. – М.: Сельхозгиздат., 1960. – С. 400.
10. Герчиков Н.П. Крупный рогатый скот / Н.П. Герчиков. – М., 1958. – 348 с.
11. Кравченко Н.А. Породы мясного скота / Н.А. Кравченко – К.: Вища школа, 1979. – 288 с.
12. Богданов Е.А. Общее животноводство / Е.А. Богданов – М.: Госиздат., 1928. – С 541.
13. Старцев Д.И. Селекционная работа в племенных заводах / Д.И. Старцев. – М.: Россельхозиздат. – 248 с.
14. Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers / D. Tautz – Nucl Acids Res., 1989. – 17. – P. 6463–6471.
15. Pritchard J.K. Inference of population structure using multilocus genotype data / J.K. Pritchard, M. Stephens, P. Donnelly – Genetics, 2000 – 155. – P. 945–959.

16. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. / M. Hubisz, D. Falush, M. Stephens, and J. Pritchard // *Molecular Ecology Resources*, In Press.
17. Колесник Н.Н. Эволюция крупного рогатого скота / Н.Н. Колесник. – Душанбе, 1949. – С 211.
18. Лискун Е.Ф. Русские отродья крупного рогатого скота / Е.Ф. Лискун. – В кн.: Избранные труды. – М., 1961. – С. 264–287.
19. Nei M. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data / M. Nei, F. Tajima, Y. Tateno // *J. Mol. Evol.*, 1983. – 19 – P. 153–170.
20. Харинг Ф. Руководство по разведению животных / Ф. Харинг – М.: Колос, 1963. – Т. 1–3. – С. 1965.
21. Круглов А.И. Ярославский скот / А.И. Круглов, А.С. Мухачев – М.: Сельхозиздат, 1963. –344 с.

ДНК-технології у вивченні філогенетичної спорідненості популяції сірої української худоби

Ю.В. Гузеєв

У статті філогенетично проаналізовано генофонд досліджуваних тварин, зроблений популяційно-генетичний моніторинг 22 порід великої рогатої худоби, які розводяться в Україні та Росії з використанням мікросателітних ДНК.

Ключові слова: популяція, велика рогата худоба, порода, генофонд, ДНК-технології, кластер.

Study DNA-technological of histic philogenes famsls populations of Ukrainian cattle

J. Guzeev

Execute philogenes analisis of genofunds famili populations of 22 breeds cattle which breed in Ukrainian end Russian with use DNA-technological.

Key words: populations, cattile, genofonds, DNA-techological, klasster.