

## ПОЛНОГЕНОМНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ СТРУКТУРЫ ПОПУЛЯЦИЙ РОССИЙСКИХ ЛОКАЛЬНЫХ ПОРОД ЧЕРНО-ПЕСТРОГО КОРНЯ

© 2022 г. А. С. Абдельманова<sup>1</sup>\*, А. А. Сермягин<sup>1</sup>, А. В. Доцев<sup>1</sup>,  
А. Н. Родионов<sup>1</sup>, Ю. А. Столповский<sup>2</sup>, Н. А. Зиновьева<sup>1</sup>\*\*

<sup>1</sup>Федеральный исследовательский центр животноводства им. академика Л.К. Эрнста,  
Московская область, Подольск, 142132 Россия

<sup>2</sup>Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова, Москва, 119991 Россия

\*e-mail: preevetic@mail.ru

\*\*e-mail: n\_zinovieva@mail.ru

Поступила в редакцию 28.11.2021 г.

После доработки 04.01.2022 г.

Принята к публикации 12.01.2022 г.

Дана генетическая характеристика пяти российских молочных пород крупного рогатого скота черно-пестрого корня, включая черно-пеструю, истобенскую, холмогорскую, тагильскую и ярославскую. Анализ проводился по 112526 однонуклеотидным заменам (SNP) с использованием ДНК-чипов высокой плотности BovineGGRHD (Illumina Inc., США). Установлено, что все изученные породы имеют собственную генетическую структуру, отличающую их от голштинской черно-пестрой породы и друг от друга. Во всех российских породах выявлены особи, сохранившие наибольшую долю геномных компонентов, характерных для исследуемой локальной породы, и не проявляющие видимой интрогрессии с голштинами, что делает их кандидатами для использования в программах сохранения отечественных генетических ресурсов.

**Ключевые слова:** локальные породы, крупный рогатый скот, SNP, черно-пестрый скот, сохранение биоразнообразия.

**DOI:** 10.31857/S0016675822070025

Разнообразие экологических зон на огромной территории России привело к появлению разнообразных популяций крупного рогатого скота, хорошо адаптированных к местным условиям различных регионов России [1]. Наиболее многочисленные массивы молочного скота представлены животными черно-пестрой масти, распространенными по всей территории центральных и северных областей России. Первые попытки систематического описания поголовья крупного рогатого скота этих регионов были предприняты в конце XIX в. [2], однако выделение пород среди черно-пестрого скота и их плановое разведение началось в 20–30-е годы XX в. [3]. В тот период были официально признаны несколько пород черно-пестрого скота, включая черно-пеструю (первая племенная книга вышла в 1925 г.), ярославскую (1925 г.), холмогорскую (1927 г.), тагильскую (1931 г.) и истобенскую (1935 г.). Происхождение российского черно-пестрого скота связывают с двумя различными предковыми популяциями. Малорослый северный великоросский скот, хорошо приспособленный к холодным зимам и способный выживать в условиях скудной кормовой базы, считается пер-

вым предполагаемым предком российского черно-пестрого скота. От этой группы произошли черно-пестрый, истобенский, тагильский и ярославский скот. Другая ветвь в структуре популяций российского черно-пестрого скота связана с холмогорским скотом, который с XVII в. был распространен на островах в верховьях Северной Двины на севере России [3]. Предполагают, что этот скот произошел от голландского крупного рогатого скота, известного с XVI в. Холмогорский скот использовался для улучшения истобенской [1] и тагильской [4] пород на разных этапах их развития. Некоторые авторы указывают на вклад голландского крупного рогатого скота в формирование русских пород черно-пестрого корня [4], однако другие исследователи полагают, что голландский крупный рогатый скот оказал лишь незначительное влияние на формирование генофонда вышеупомянутых пород [3, 5]. В 1990-е гг. черно-пестрый скот был самым многочисленным среди молочных пород крупного рогатого скота; его общая численность составляла 14277.8 тыс. голов.

Стремление использовать в животноводстве ограниченное число высокоудойных пород в по-

следние десятилетия привело к значительному сокращению разнообразия аборигенных пород домашнего скота во всем мире [6, 7], в том числе в России [8]. За последние 30 лет поголовье российского черно-пестрого скота значительно сократилось, в основном за счет замещения высокопродуктивной трансграничной голштинской породой. Если в 2010 г. общая численность поголовья указанных пород составляла 2394.7 тыс. голов, в том числе 1343.4 тыс. коров, то в 2020 г. она снизилась до 1419.0 и 898.1 тыс. голов соответственно. Поголовье истобенской и тагильской пород сократилось до 793 и 151 головы соответственно (включая 455 и 100 коров) [9], и сейчас эти породы крупного рогатого скота находятся на грани исчезновения. Поголовье черно-пестрого, холмогорского и ярославского скота сократилось не так резко, однако современные представители этих пород несут значительную долю генетических компонентов голштинской породы. Небольшая чистокровная популяция холмогорской породы (печорский тип), насчитывающая всего 473 головы, поддерживается в Республике Коми [9, 10]. С другой стороны, численность голштинского скота неуклонно возрастала; если в 1990 г. в России голштинский скот вообще не регистрировался, то в 2020 г. его численность достигла 692.6 тыс. голов [9, 10]. Наиболее существенным преимуществом крупного рогатого скота голштинской породы является его повышенная молочная продуктивность и адаптация к промышленной технологии производства молока. Удой российских пород черно-пестрого скота в 2020 г. варьировал от 3872 кг у чистопородных холмогорских животных до 7558 кг у представителей черно-пестрой породы по сравнению с 9334 кг у голштинской породы. Можно предположить дальнейшее сокращение численности российского черно-пестрого скота и его замену голштинскими или помесными животными с высокой кровностью по голштинской породе.

Для сохранения биоразнообразия российских пород скота черно-пестрого корня необходима разработка и реализация эффективных программ сохранения генетических ресурсов. Первым шагом в этом направлении должна стать оценка существующего генетического разнообразия и отбор животных для использования в качестве доноров генетического материала в программах сохранения. Другими словами, мы должны ответить на вопрос, присутствуют ли в современных популяциях черно-пестрого скота особи, сохранившие предковые геномные компоненты, отличающие их от голштинской и других родственных пород, которые могут рассматриваться в качестве кандидатов для использования в программах сохранения генетического материала?

Разработка высокопроизводительных методов полногеномного анализа значительно повысила информативность молекулярно-генетических ис-

следований, сделав возможным уточнение происхождения пород и их демографической истории, характеристику генетических взаимоотношений между различными популяциями крупного рогатого скота, включая российские породы черно-пестрого скота [11–15]. Проведенные ранее исследования на основе микросателлитных маркеров позволили предположить комбинированное происхождение холмогорской и ярославской пород крупного рогатого скота [11]. Недавние исследования с использованием SNP-чипов показали, что среди современных представителей этих пород встречаются особи незначительной интрогрессией других пород, в том числе голштинской [13, 14], в то время как у представителей черно-пестрого, истобенского и тагильского скота выявлена заметная доля геномных компонентов, специфичных для голштинской породы [14]. Сравнительные исследования современных и исторических (датируемых первой половиной XX в.) представителей ярославской и холмогорской пород подтвердили сохранение части исторических компонентов в современных популяциях обеих пород [16]. Из-за небольшого количества особей некоторых пород и относительно небольшого количества SNP, используемых для исследований (~40K SNP), авторы подчеркнули необходимость проведения дополнительных исследований для выяснения генетической структуры локальных российских пород крупного рогатого скота.

Цель настоящей работы – исследование генетического разнообразия и структуры современных популяций всех существующих в России пород крупного рогатого скота черно-пестрого корня с использованием Bovine GGP HD BeadChip (Illumina Inc., США), содержащего 150 тыс. SNP. Было установлено участие голштинского скота в формировании аллелофонда всех изученных пород за исключением ярославской. Вместе с тем во всех породах были выявлены особи, у которых отсутствовала видимая интрогрессия голштинов. По результатам исследований были начаты программы сохранения генетического материала, направленные на сохранение генетического разнообразия этих ценных национальных генетических ресурсов животных.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на 169 животных, относящихся к пяти российским породам черно-пестрого корня, включая черно-пеструю ( $n = 44$ , BLWT), истобенскую ( $n = 21$ , ISTOB), холмогорскую ( $n = 26$ , KHLM), тагильскую ( $n = 26$ , TAGIL) и ярославскую ( $n = 52$ , YRSL). В исследуемую выборку была дополнительно включена голштинская черно-пестрая порода ( $n = 49$ , HLST) в связи с использованием ее для улучшения российских пород черно-пестрого корня. В качестве аутгрупп

пы для некоторых анализов была использована якутская порода ( $n = 10$ , YAKUT). Общая выборка пород черно-пестрого корня составляла 218 голов.

В качестве материала для исследований были использованы образцы крови, ткани (ушной выщип) и спермы, полученные в ходе рутинных ветеринарных процедур в соответствии с соглашениями о научном сотрудничестве или в рамках оценки достоверности происхождения племенных животных.

Геномную ДНК выделяли с помощью коммерческих наборов Nexttec (Nexttec Biotechnology GmbH, Германия) в соответствии с рекомендациями производителя. Качество полученных экстрактов оценивали путем измерения концентрации двухцепочечной ДНК с помощью флуориметра Qubit™ (Invitrogen, Life Technologies, США) и определения отношения поглощения образцом света при длине волн 260 и 280 нм (соотношение OD260/280) с помощью спектрофотометра NanoDrop 8000 (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

Генотипирование образцов проводили с помощью SNP-чипа Bovine GGP BeadChip (Illumina, San Diego, CA, США), содержащего 150 тыс. однонуклеотидных замен. Фильтры для показателей GenCall (GC) и GenTrain (GT), характеризующих точность определения генотипа прибором в каждом конкретном SNP, были установлены на уровне 0.5 [17]. С использованием программы PLINK [18] из общего набора данных были удалены образцы, имевшие менее 90% успешно генотипированных SNP ( $-mind$  0.1), а также локусы, генотипированные менее чем у 90% животных ( $-geno$  0.1) или показавшие частоту минорного аллеля менее 5% ( $-maf$  0.05). Количество SNP, прошедших фильтрацию, составило 112526. Для некоторых типов анализа (оценка генетического разнообразия и структуры популяций) была проведена дополнительная фильтрация SNP по параметру неравновесия по сцеплению (linkage disequilibrium, LD). Были удалены SNP, для которых квадрат коэффициента корреляции ( $r^2$ ) между двумя соседними SNP внутри скользящего окна из 50 SNP с шагом перекрытия в 5 SNP превышал 0.5 ( $-indep-pairwise$  50 5 0.5). После фильтрации по LD было удалено 35294 SNP. Кроме того, были исключены SNP, локализованные на половых хромосомах, а также с неизвестной локализацией в геноме (сборка генома крупного рогатого скота ARS-UCD1.2 ([https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF\\_002263795.1/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_002263795.1/))). Итоговый набор данных, используемый для анализа, включал 77232 SNP.

Для оценки уровня генетического разнообразия в каждой породе были рассчитаны наблюдаемая ( $H_O$ ) и несмещенная ожидаемая ( ${}_U H_E$ ) гетерозиготность [19], коэффициент инбридинга ( ${}_U F_{IS}$ ) [20], основанный на несмещенной ожидаемой гетерозиготности, и показатель аллельного разнообра-

зия, скорректированный на размер выборки ( $A_R$ ) [21] с использованием R-пакета “diveRsity” [22].

Генетические различия между изученными породами оценивались в PLINK v1.90 с помощью анализа главных компонент (PCA), визуализированного с помощью R-пакета “ggplot2” [23]. Парные дистанции для идентичных по состоянию (identical-by-state, IBS) фрагментов были использованы для построения дендрограммы “сеть соседей” в программе SplitsTree 4.14.5 [24].

Попарные значения  $F_{ST}$  [20] были рассчитаны в R-пакете “diveRsity” [22] и использовались наряду с генетическими дистанциями, рассчитанными по Reynolds [25], для построения дендрограмм “сеть соседей” в программе SplitsTree 4.14.5 software [24].

Исследования кластерной структуры популяций было проведено в программе ADMIXTURE v1.23 [26]. Оптимальное число кластеров  $K$  было определено на основании наименьшей ошибки при процедуре перекрестной проверки, рассчитанной для значений  $K$  от 1 до 9. Визуализация результатов анализа была выполнена с использованием R-пакета “pophelper” [27].

Для оценки наличия общих предковых компонентов между исследованными породами были рассчитаны показатели  $D$ -статистики [28] и  $F_4$ -статистики [29] с использованием R-пакета, “admixr” [30]. Для набора из трех популяций  $W$ ,  $X$  и  $Y$  и аутгруппы  $Z$ , которая соответствует филогении  $((W,X),Y).Z$ , количество общих аллелей между  $W$  и  $Y$  ( $BABA$ ) или  $X$  и  $Y$  ( $ABBA$ ) рассчитывается исходя из предположения, что аллель  $A$  представляет собой предковый аллель, а аллель  $B$  — производный аллель. Значительный избыток  $BABA$  или  $ABBA$  указывает на наличие адмиксии между популяциями  $W$  и  $Y$  или  $X$  и  $Y$  соответственно. Мы использовали якутскую породу как аутгруппу  $Z$ . В первом анализе мы определили голштинскую породу как  $Y$  вследствие ее интенсивного использования при улучшении изучаемых пород. В альтернативном анализе в качестве  $Y$  был выбран холмогорский скот для проверки его возможного вклада в развитие изучаемых пород. Мы протестировали все остальные породы крупного рогатого скота как  $W$  и  $X$ . Достоверными считались значения  $D$  и  $F_4$ , имеющие значения параметра  $Z > 3$ .

Для оценки доли предковых компонентов в адмиксированных популяциях было рассчитано соотношение  $F_4$  [29] для каждой из изученных российских пород черно-пестрого скота, за исключением ярославской породы, в которой не было выявлено примесей других пород по результатам  $D$ -статистики. Мы попеременно определяли каждую из изучаемых российских пород черно-пестрого корня как интрогрессированную популяцию  $X$ . Истобенская порода была выбрана в качестве сестринской популяции  $S$  для черно-пестрой, тагильской и холмогорской пород, а тагильская

порода – в качестве сестринской популяции для истобенской породы. Основываясь на результатах  $D$ -статистики, мы выбрали голштинскую, черно-пеструю и холмогорскую породы в качестве возможного источника интрогрессий (популяция В). Их сестринские породы (А) были выбраны на основании результатов генетического родства между изучаемыми породами. Якутский скот использовался в качестве аутгруппы О. Доли предков В в Х ( $\alpha$ ) со значениями параметра  $Z > 3$  считались достоверными.

Для понимания взаимосвязей между изученными породами была рассчитана  $F3$ -статистика (А, В; С) [29]. Каждая из изучаемых российских пород крупного рогатого скота была попеременно определена как целевая популяция (С), а все остальные пары пород были протестированы как исходные популяции (А и В). Отрицательные значения  $F3$  со значениями параметра  $Z < -3$  указывают на наличие адмиксии между двумя исходными популяциями. Для проверки генетической близости изученных российских пород черно-пестрого корня по отношению друг к другу и к голштинской породе в качестве аутгруппы С был использован якутский скот, а все возможные пары изучаемых пород были использованы как тестируемые популяции А и В. Более высокие значения  $F3$  указывают на большее генетическое сходство между А и В.

Для оценки степени дивергенции популяций и уровня обмена генами между изученными породами было использовано программное обеспечение TreeMix 1.12 [31]. В качестве аутгруппы при построении TreeMix дерева максимального правдоподобия (maximum likelihood, ML) была использована якутская порода. Было протестировано от 0 до 5 событий миграции по десять итераций на каждое событие. Оптимальное количество миграционных событий определялось с помощью пакета R “optM” [32] на основании выходных файлов TreeMix. Для определения информационного вклада каждого вектора миграции, добавляемого в дерево, был произведен расчет  $f$ -индекса.

Для оценки протяженных гомозиготных участков (пробеги гомозиготности, ROH) был использован метод последовательных прогонов [33], реализованный в R-пакете “detectRUNS” [34]. С целью исключения заниженной оценки ROH длиной 8 Mb и более в ходе анализа допускался один SNP с отсутствующим генотипом и один гетерозиготный SNP [35]. С целью исключения коротких и широко распространенных сегментов ROH порог минимальной длины ROH был установлен на уровне 1 Mb.

Минимальное число SNP ( $l$ ) было рассчитано по методике, предложенной Lencz et al. [36] и модифицированной Purfield et al. [37]:

$$l = \frac{\lg_e \frac{\alpha}{n_s n_i}}{\lg_e (1 - \overline{het})},$$

где  $n_s$  – число SNP, генотипированных у индивида,  $n_i$  – число генотипированных индивидов,  $\alpha$  – доля ложноположительных ROH (в настоящем исследовании принято 0.05) и  $\overline{het}$  – средняя гетерозиготность по всем SNP. В нашем случае минимальное число SNP составило 42.

На основании информации о количестве и протяженности гомозиготных участков в геноме был вычислен коэффициент геномного инбридинга ( $F_{ROH}$ ), представляющий собой отношение суммы длин всех ROH у особи к общей длине генома (2.51 Gb). Сегменты гомозиготности в соответствии с длиной обнаруженных фрагментов были распределены между следующими классами длины: >1, >2, >4, >8 и >16 Mb. Кроме того, было рассчитано количество гомозиготных сегментов, попадавших в разные классы длины: 1–2, 2–4, 4–8, 8–16 и >16 Mb.

Эффективная численность популяции ( $N_E$ ) оценивалась на основании неравновесия по сцеплению с помощью алгоритма, реализованного в программе SNeP v1.1 [38]. Для расчетов применялись параметры, заданные в программе по умолчанию, кроме минимального и максимального расстояния между принятыми в анализ SNP (0.95 и 18 Mb соответственно) и модификатора скорости рекомбинации, согласно Sved и Feldman [39].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Наибольший уровень генетического разнообразия наблюдался у черно-пестрой и тагильской пород, о чем свидетельствовали значения несмещенной ожидаемой гетерозиготности ( ${}_U H_E = 0.393$  и  $0.391$  соответственно) и аллельного разнообразия ( $A_R = 1.993$  и  $1.991$ ). Наименьшая генетическая изменчивость наблюдалась у ярославского крупного рогатого скота ( ${}_U H_E = 0.359$ ,  $A_R = 1.961$ ). В черно-пестрой породе обнаружен недостаток гетерозигот ( ${}_U F_{IS} = 0.005$ ), в то время как в других российских породах наблюдалось отклонение ожидаемого числа гетерозигот от равновесия Харди–Вайнберга в сторону избытка (табл. 1).

Анализ главных компонент (principal component analysis, PCA) (рис. 1,а) показал, что уже первая компонента, отвечающая за 14.86% генетической изменчивости, четко отделяет истобенскую, холмогорскую и ярославскую породы от голштинской, при этом ярославская порода была наиболее удалена от общей группы пород. Черно-пестрая и тагильская породы образовали менее консолидированные кластеры, которые частично перекрывались с голштинами. Дендрограмма,

**Таблица 1.** Генетическое разнообразие изученных пород скота на основании данных SNP-генотипирования

Порода	<i>n</i>	$H_O$ (M ± se)	$\cup H_E$ (M ± se)	$A_R$ (M ± se)	$\cup F_{IS}$ [CI95%]
BLWT	44	0.391 ± 0	0.393 ± 0	1.993 ± 0	0.005 [0.004; 0.006]
ISTOB	21	0.377 ± 0.001	0.370 ± 0	1.975 ± 0.001	-0.016 [-0.017; -0.015]
KHLM	26	0.381 ± 0.001	0.373 ± 0.001	1.974 ± 0.001	-0.021 [-0.022; -0.020]
TAGIL	26	0.400 ± 0.001	0.391 ± 0	1.991 ± 0	-0.022 [-0.023; -0.021]
YRSL	52	0.362 ± 0.001	0.359 ± 0.001	1.961 ± 0.001	-0.009 [-0.010; -0.008]
HLST	49	0.372 ± 0.001	0.374 ± 0	1.982 ± 0	0.004 [0.003; 0.005]

Примечание. Породы (для табл. 1–3): BLWT – черно-пестрая, ISTOB – истобенская, KHLM – холмогорская, TAGIL – тагильская, YRSL – ярославская, HLST – голштинская; *n* – число голов;  $H_O$  – наблюдаемая гетерозиготность;  $\cup H_E$  – несмещенная ожидаемая гетерозиготность;  $A_R$  – аллельное разнообразие;  $\cup F_{IS}$  – несмещенный коэффициент инбридинга; M – среднее значение, se – стандартная ошибка; CI95% – вариации коэффициента  $\cup F_{IS}$  при доверительном интервале 95%.

построенная по алгоритму “сеть соседей” на основании попарных генетических дистанций IBS, демонстрирует, что особи истобенской (за исключением одной головы), холмогорской и ярославской пород распределялись между тремя породоспецифическими ветвями. Только часть животных тагильской породы формировала обособленную ветвь, в то время как другая часть животных располагалась на общей ветви с черно-пестрой и голштинской породами (рис. 1,б). Расчет значений попарных генетических дистанций по  $F_{ST}$  и по Reynolds показал, что ярославская порода была наиболее удалена как от остальных российских пород, так и от голштинской, а российская черно-пестрая порода, напротив, менее всех отличалась от голштинской.

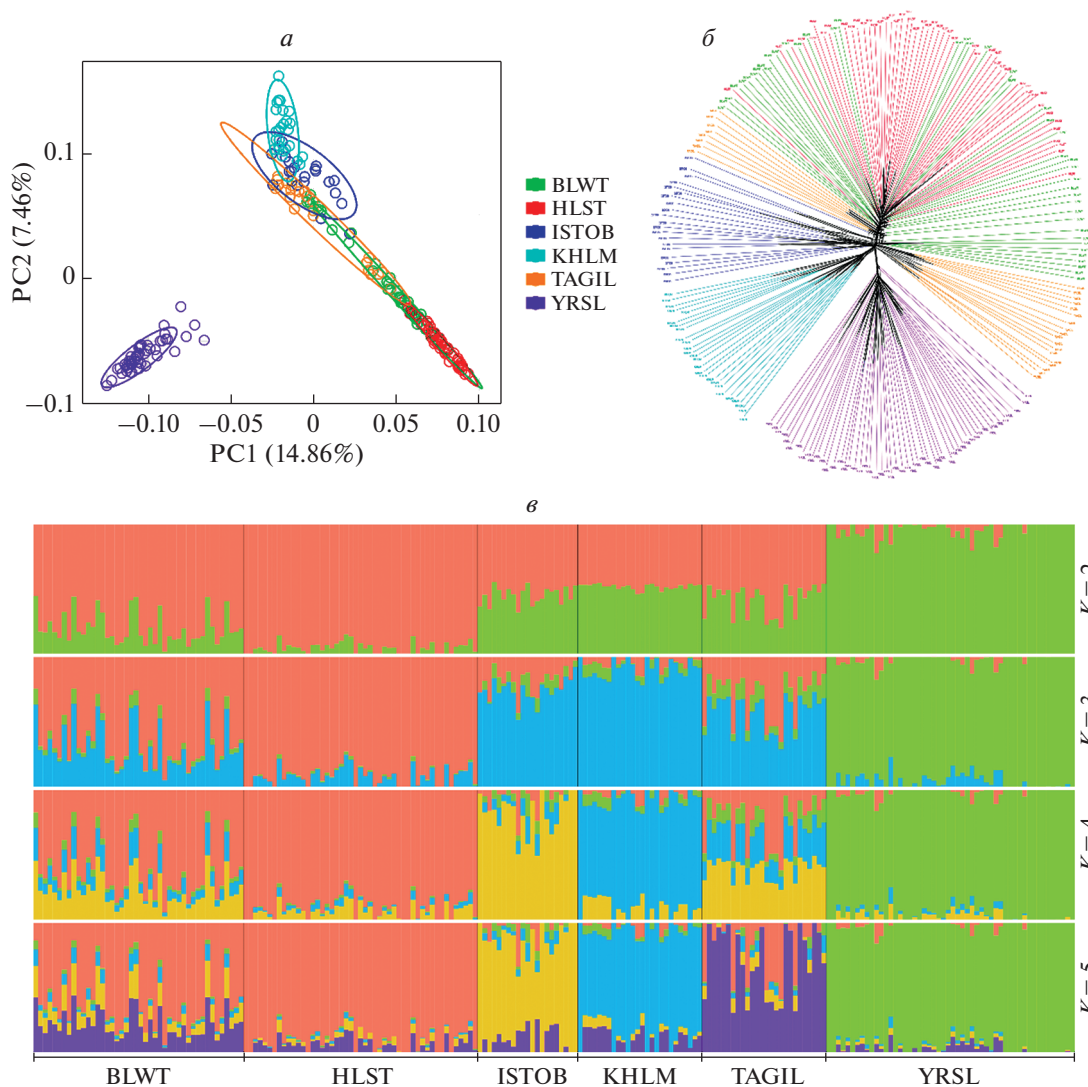
Анализ структуры популяций (рис. 1,в), выполненный для числа кластеров  $K = 2$ , четко разграничил ярославскую и голштинскую породы, в то время как другие российские породы проявляли различную степень адмиксии. При  $K = 3$  собственный кластер сформировала холмогорская порода, в то время как другие породы, за исключением ярославской, проявляли видимое присутствие холмогорских геномных компонентов. При  $K = 4$  истобенский скот отделялся от других пород, при этом компоненты, специфические для истобенской породы, наблюдались у черно-пестрой и тагильской пород. При  $K = 5$ , что соответствует наиболее вероятному числу кластеров, четыре из пяти изучаемых пород формировали свои собственные кластеры, за исключением черно-пестрой породы, несущей значительную часть предковых компонентов голштинской породы.

*D*-статистика и *F4*-статистика показали наличие потока генов между голштинской и всеми исследованными российскими породами черно-пестрого скота за исключением ярославской. Наибольшая доля генетических компонентов голштинской породы наблюдалась у российской черно-пестрой породы. Количество общих аллелей с голштинами уменьшалось от тагильской и истобенской до холмогорской пород. Тестирование холмогорской по-

роды как *Y* указывало на интрогрессию между холмогорским скотом и другими изученными породами за исключением ярославской. Наибольший уровень обмена генами наблюдался с черно-пестрой и голштинской породами, наименьший – с истобенской породой (табл. 2).

Расчет *F4*-соотношения показал, что современная популяция черно-пестрой породы несет 81.4% предковых компонентов голштинской породы, что, вероятно, связано с активным использованием быков голштинской породы для улучшения черно-пестрой породы. Наличие адмиксии голштинов было подтверждено результатами расчета *F3*-статистики, о чем свидетельствуют значимые отрицательные значения *F3* для российской черно-пестрой породы как целевой популяции, а также *F3*-статистики с использованием аутгруппы, которая показала наибольшие значения *F3* при попарном сравнении российской черно-пестрой и голштинской пород. Кроме того, мы обнаружили в тагильской породе предковые компоненты черно-пестрой и голштинской пород, доля которых составила 15.6 и 9.2% соответственно. Доля холмогорских предковых компонентов в истобенской породе достигала 49.8% (данные не показаны).

В структуре дерева TreeMix было выявлено наличие двух ветвей, одна из которых специфична для ярославской породы, а другая объединяла все остальные изученные породы. Это подтверждает происхождение ярославской и других российских пород черно-пестрого скота от двух разных предков (рис. 2,а). Наиболее оптимальное число миграций (событий потока генов) составило 2. Добавление двух событий миграции привело к наибольшему увеличению значимости модели, объясняемой *f*-статистикой (рис. 2,б), и анализом регрессионных остатков (рис. 2,в). Один из векторов миграции показывает поток генов от общей предковой популяции черно-пестрой и голштинской пород к черно-пестрой породе. Это можно рассматривать как указание на то, что современная популяция черно-пестрой породы все еще несет в себе наследственные компоненты, которые отличают



**Рис. 1.** Генетические связи между изученными породами. *a* – анализ главных компонент (PCA), показывающий распределение особей в пространстве двух измерений, т.е. первой (PC1, X-ось) и второй (PC2, Y-ось) главных компонент. Процент общей генетической изменчивости соответствующих компонентов указан в скобках; *б* – дендрограмма “сеть соседей” (Neighbor-Net tree) на основании попарных генетических дистанций между представителями изученных пород; *в* – анализ примесей в популяциях при числе кластеров (*K*) от 2 до 5. Породы (для рис. 1–4): BLWT – черно-пестрая, ISTOB – истобенская, KHLM – холмогорская, TAGIL – тагильская, YRSL – ярославская, HLST – голштинская.

ее от голштинской породы. Второе миграционное событие связано с передачей генов от общего предка черно-пестрой и голштинской пород к современной популяции тагильской породы (рис. 2,*a*), что находится в соответствии с историей происхождения и развития породы.

Как следует из данных, представленных в табл. 3, среднее число фрагментов ROH и средняя длина гомозиготных участков у российских пород черно-пестрого скота были меньше, чем у голштинской породы ( $p < 0.001$ ). Наименьшее число ROH ( $25.23 \pm 1.65$ ) и покрытие генома ROH ( $76.13 \pm 6.87$  Mb) были обнаружены у тагильской породы, что может отражать смешанное происхождение со-

временной популяции этой породы. Наибольшее число ROH и покрытие генома ROH наблюдались у ярославской породы ( $61.02 \pm 3.23$  и  $213.6 \pm 12.85$  Mb соответственно). Возможным объяснением может быть отсутствие потока генов извне и небольшое число чистопородных быков, используемых для воспроизводства.

Наибольшее число коротких фрагментов ROH было обнаружено у голштинской породы ( $38.69 \pm 2.30$ ). Ярославская и черно-пестрая породы по этому показателю были близки ( $31.75 \pm 3.64$  и  $31.66 \pm 1.57$  соответственно). Три наиболее распространенные молочные породы в России – холмогорская, ярославская и черно-пестрая – не

**Таблица 2.** Результаты *D*-статистики с использованием голштинской черно-пестрой породы и холмогорской породы в качестве тестовых популяций

W	X	Y	Z	D	Z-score
BLWT	YRSL	HLST	YAKUT	0.1106	44.029
BLWT	TAGIL	HLST	YAKUT	0.0679	38.812
BLWT	ISTOB	HLST	YAKUT	0.0805	37.229
BLWT	KHLM	HLST	YAKUT	0.087	36.544
TAGIL	YRSL	HLST	YAKUT	0.0449	21.080
ISTOB	YRSL	HLST	YAKUT	0.0325	14.094
KHLM	YRSL	HLST	YAKUT	0.0252	10.989
TAGIL	KHLM	HLST	YAKUT	0.02	9.795
TAGIL	ISTOB	HLST	YAKUT	0.0127	6.288
ISTOB	KHLM	HLST	YAKUT	0.0074	3.218
BLWT	YRSL	KHLM	YAKUT	0.0199	11.300
HLST	YRSL	KHLM	YAKUT	0.0205	10.422
TAGIL	YRSL	KHLM	YAKUT	0.0126	7.635
BLWT	ISTOB	KHLM	YAKUT	0.0097	6.817
BLWT	TAGIL	KHLM	YAKUT	0.0076	6.590
HLST	ISTOB	KHLM	YAKUT	0.0103	6.085
HLST	TAGIL	KHLM	YAKUT	0.0083	5.763
ISTOB	YRSL	KHLM	YAKUT	0.0106	5.669

Примечание. Переменные обозначения для тестируемых популяций описаны в Материалах и методах.

**Таблица 3.** Описательная статистика для числа и длины фрагментов ROH в российских породах по сравнению с голштинской

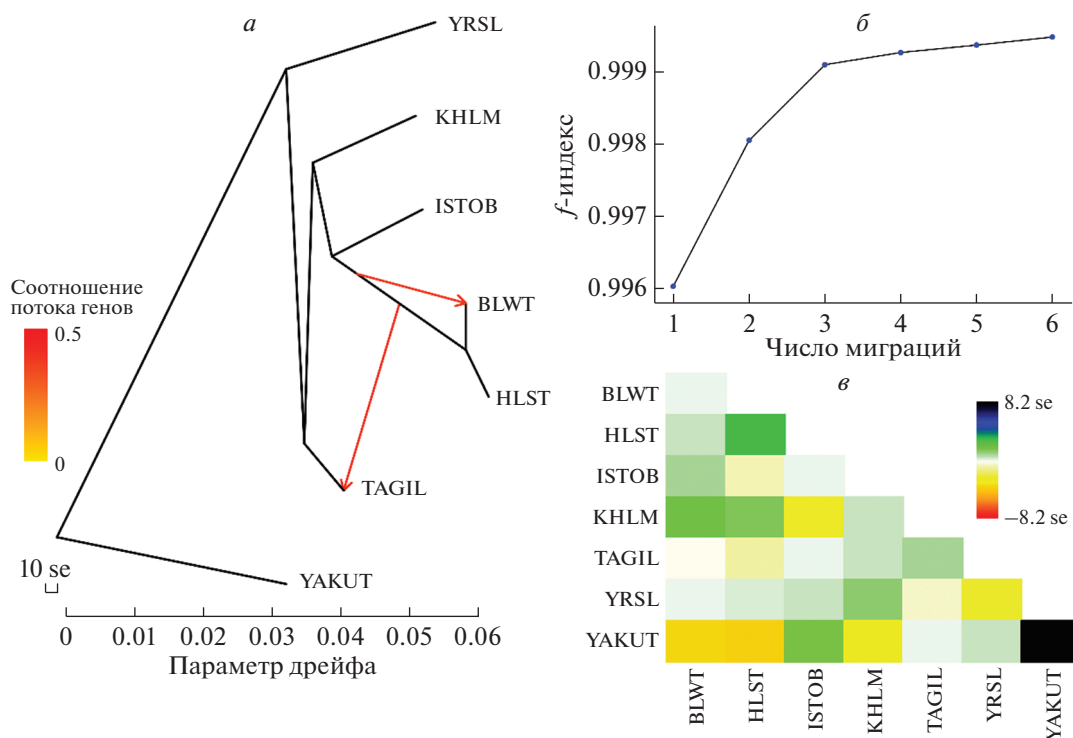
Порода	<i>n</i>	Количество ROHs (M ± se)	Длина ROH, Mb (M ± se)	$F_{ROH}$ (M ± se)
BLWT	44	57.43 ± 2.16	174.11 ± 12.16	0.069 ± 0.005
ISTOB	21	35.52 ± 4.69	112.56 ± 16.14	0.045 ± 0.006
KHLM	26	53.08 ± 2.18	158.54 ± 8.11	0.063 ± 0.003
TAGIL	26	25.23 ± 1.65	76.13 ± 6.87	0.030 ± 0.003
YRSL	52	61.02 ± 3.23	213.6 ± 12.85	0.085 ± 0.005
HLST	49	83.08 ± 3.25	312.96 ± 16.83	0.125 ± 0.007

Примечание. *n* – число голов; M – среднее значение, se – стандартная ошибка;  $F_{ROH}$  – коэффициент геномного инбридинга, рассчитанный как отношение суммы длин всех ROH у особи к общей длине генома.

имели существенных отличий по количеству фрагментов ROH средней длины. Длинные фрагменты ROH длиной 8–16 и >16 Mb среди российских пород были наиболее распространены в ярославской породе:  $4.60 \pm 0.57$  и  $1.50 \pm 0.27$  соответственно. Наименьшее число ROH по всем классам длины было обнаружено в тагильской породе, что свидетельствует в пользу предположения о ее смешанном происхождении (рис. 3,а). С другой стороны, как следует из данных рис. 3,б, покрытие генома фрагментами максимальной длины, рассчитанное как отношение длины таких фрагментов к общей длине всех ROH у каж-

дой породы, было наибольшим в истобенской и тагильской породах ( $45.04$  и  $38.72\%$  соответственно). Это может свидетельствовать о недавнем инбридинге в указанных породах в связи с их малочисленностью.

Наименьший эффективный размер популяции ( $N_E$ ) выявлен у истобенской ( $N_{E5} = 97$ ), тагильской ( $N_{E5} = 138$ ) и холмогорской ( $N_{E5} = 130$ ) пород. Такая тенденция наблюдалась как пять поколений назад, так и в настоящее время. Голштинская и черно-пестрая породы показали увеличение эффективной численности, которое началось пять поколений назад и продолжается до настоящего



**Рис. 2.** Оценка степени дивергенции и уровня обмена генами между изученными породами. *a* – дерево TreeMix с двумя событиями миграции и якутской породой в качестве аутгруппы; длина отрезка 10 se соответствует десятикратной величине средней стандартной ошибки (standard error, se), оцененной исходя из ковариационной матрицы выборки. Предполагаемый поток генов показан стрелками, направленными от популяции-донора к популяции-реципиенту, и окрашен в красный цвет, пропорционально интенсивности потока генов; *б* – график, представляющий долю дисперсии (*f*-индекс) в ковариационной матрице выборки ( $\partial W$ ), учитываемой ковариационной матрицей модели (*W*) как функцию количества миграционных событий; *в* – остаточная матрица, построенная на основе анализа TreeMix для двух миграционных событий и выраженная как число стандартных ошибок отклонений для наблюдений в соответствующих породах.

времени ( $N_{E5} = 119$  и  $N_{E5} = 252$  соответственно). В ярославской породе выявлено некоторое увеличение эффективной численности популяции, начавшееся три поколения назад, хотя ранее эта порода, как и остальные российские породы черно-пестрого корня, демонстрировала устойчивый спад эффективной численности (рис. 4).

**ОБСУЖДЕНИЕ**

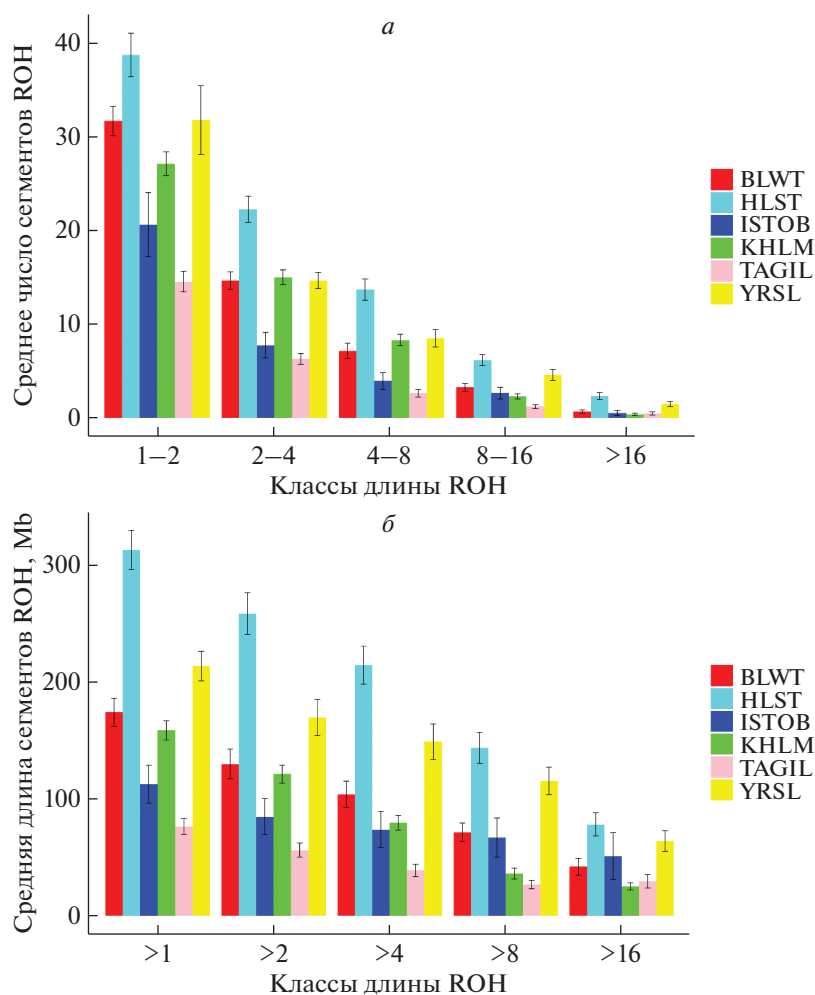
Предыдущие филогенетические исследования российских пород крупного рогатого скота черно-пестрого корня, выполненные с использованием ДНК-чипов средней плотности, показали, что большинство из них (черно-пестрая, истобенская, тагильская) имеют сложную генетическую структуру. В то же время ярославский и холмогорский скот были незначительно подвержены влиянию голштинов [13, 14]. Однако ввиду относительно низкого покрытия SNP (~40К SNP) и небольшого размера выборки некоторых пород (например, истобенская порода была представлена только пятью образцами [14]) потребовались дополнительные генетические исследования для

определения пород, которые могли бы стать приоритетными мишенями при разработке и внедрении программ сохранения генетического материала и отбора животных для таких программ.

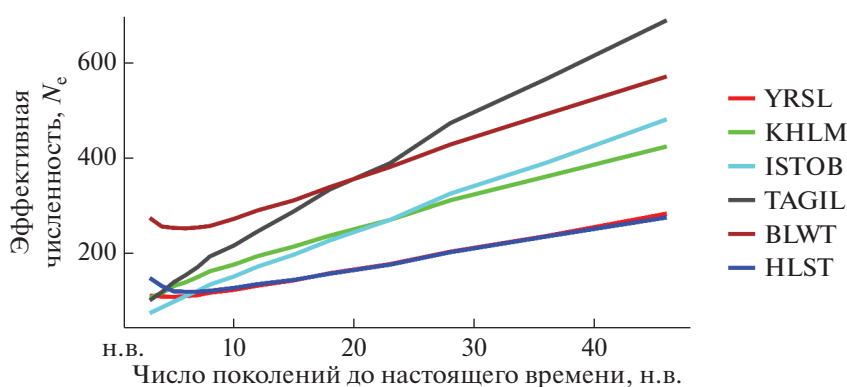
Насколько нам известно, в настоящей работе впервые дано исследование всего спектра российских пород скота черно-пестрого корня, проведенное с использованием высокоплотных SNP генотипов по 112 526 SNP, полученных с применением Bovine GGP HD BeadChip (Illumina, США). Выборка, использованная для исследования, состояла из 218 животных, представляющих пять российских пород черно-пестрого скота (черно-пестрая, истобенская, холмогорская, тагильская и ярославская) и голштинскую породу как группу сравнения, размер выборки варьировал от 21 особи для истобенской до 52 для ярославской породы.

Мы наблюдали большой уровень генетического разнообразия у черно-пестрой и тагильской пород по сравнению с другими изученными породами (табл. 1), что, вероятно, связано с более высоким уровнем адмиксии голштинской породы, как показали результаты кластерного анализа (рис. 2, *в*),





**Рис. 3.** Распределение сегментов гомозиготности по классам длины в исследованных породах. *а* – распределение числа ROH по классам длины: короткие фрагменты – класс длин 1–2 Mb, средние фрагменты – классы длин 2–4 и 4–8 Mb, длинные фрагменты – классы длин 8–16 и >16 Mb; *б* – средняя длина ROH разных классов длин, рассчитанная как сумма длин фрагментов соответствующего класса у каждой особи внутри породы.



**Рис. 4.** Эффективный размер популяций изученных пород черно-пестрого корня.

*D*- и *F4*-статистики и теста *F4*-соотношения. Ярославская порода характеризовалась самым низким генетическим разнообразием по сравнению с другими изученными российскими породами чер-

но-пестрого корня, что в целом соответствует предыдущим исследованиям, выполненным с использованием ДНК-чипов средней плотности [14]. Более низкое генетическое разнообразие яро-

славской породы может быть результатом резкого сокращения численности популяции с 557.2 тыс. голов в 1990 г. до 38.2 тыс. голов в 2020 г. и отсутствия обмена генами с другими породами, как показали результаты Admixture-анализа (рис. 2, в), *D*-статистики (табл. 2), *F<sub>ST</sub>*-статистики и анализа TreeMix (рис. 2).

Admixture анализ (рис. 1, в) показал, что все изученные породы проявляли собственную генетическую структуру, которая отличала их от голштинской породы и друг от друга. Наиболее удаленными от голштинов были ярославская, холмогорская и истобенская породы, о чем свидетельствовали самые низкие значения генетических дистанций *F<sub>ST</sub>* и наиболее удаленная локализация их ветвей на дереве, построенном на основании значений *F<sub>ST</sub>*. В ярославской и холмогорской породах сохранилась наибольшая доля генетических компонентов, свойственных животным, разводившимся на рубеже XIX–XX вв. [16], что объясняет их обособленность от других российских пород.

По исследованиям других авторов [40] крупный рогатый скот, разводимый на территории Урала, в том числе черно-пестрая и тагильская породы, имеет высокое генетическое сходство с голштинскими быками. Однако наши исследования показали, что, несмотря на наличие значительной доли голштинских предков у черно-пестрой и тагильской пород, в изученных популяциях обеих пород были обнаружены особи, несущие очень малую долю крови голштинской породы.

Таким образом, во всех российских локальных породах, кроме черно-пестрой, идентифицированы особи, у которых, вероятно, отсутствует видимая интрогрессия голштинов. По результатам исследований были инициированы программы криоконсервации генетического материала, направленные на сохранение биоразнообразия этих ценных национальных генетических ресурсов животных.

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

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. Эрнст Л.К., Дмитриев Н.Г., Паронян И.А. Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных в России и сопредельных странах. СПб.: ВНИИГРЖ, 1994. 469 с.
2. Миддендорф А.Ф. Исследование современного состояния скотоводства в России. Рогатый скот. Вып. I. М.: Типография М.Н. Лаврова и К., 1884. С. 226–260 (доступно на <https://elibrary.tambovlib.ru/?ebook=4383>, дата обращения 20.12.2021).
3. Диомидов А.М., Жиркович Е.Ф. Разведение и породы крупного рогатого скота. М.: ЮГИЗ-Сельхозгиз., 1934. 408 с.
4. Сабанеев Л.П. Очерки Зауралья и степное хозяйство на башкирских землях. М.: Типография В. Готье, 1873. 162 с. (доступно на <https://elibrary.orenlib.ru/index.php?dn=down&to=avtoropen&id=3546>, дата обращения 20.12.2021).
5. Felius M. Cattle breeds – an encyclopedia. Doetinchem, Netherlands: Misset, 1995. 800 p.
6. Marsoner T., Vigl L.V., Manck F. et al. Indigenous livestock breeds as indicators for cultural ecosystem services: A spatial analysis within the Alpine Space // *Ecol. Indicators*. 2018. V. 94. № 2. P. 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2017.06.046>
7. Zinovieva N.A., Sheiko I.P., Dotsev A.V. et al. Genome-wide SNP analysis clearly distinguished the Belarusian Red cattle from other European cattle breeds // *Animal Genetics*. 2021. V. 52. № 5. P. 720–724. <https://doi.org/10.1111/age.13102>
8. Zinovieva N.A., Sermyagin A.A., Dotsev A.V. et al. Animal genetic resources: developing the research of allele pool of Russian cattle breeds – minireview // *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*. 2019. V. 54. № 4. P. 631–641. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2019.4.631eng>
9. Ежегодник по племенной работе в молочном скотоводстве в хозяйствах Российской Федерации (2020 г.). М.: ВНИИплем, 2021. 265 с. ISBN 978-5-87958-404-2.
10. Матюков В.С., Жариков Я.А., Зиновьева Н.А. Генетическая история и ценность генофонда исчезающей холмогорской породы // *Молочное и мясное скотоводство*. 2018. № 2. С. 2–7. <https://doi.org/10.25632/MMS.2018.2.13747>
11. Li M.H., Kantanen J. Genetic structure of Eurasian cattle (*Bos taurus*) based on microsatellites: clarification for their breed classification // *Anim. Genet*. 2010. V. 41. № 2. P. 150–158. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2052.2009.01980.x>
12. Dotsev A.V., Sermyagin A.A., Shakhin A.V. et al. Evaluation of current gene pool of Kholmogor and Black-and-white cattle breeds based on whole genome SNP analysis // *Vavilov J. Genetics and Breeding*. 2018. V. 22. № 6. P. 742–747. <https://doi.org/10.18699/VJ18.418>
13. Sermyagin A.A., Dotsev A.V., Gladyr E.A. et al. Whole-genome SNP analysis elucidates the genetic structure of Russian cattle and its relationship with Eurasian taurine breeds // *Genet. Sel. Evol.* 2018. V. 50. № 37. <https://doi.org/10.1186/s12711-018-0408-8>
14. Yurchenko A., Yudin N., Aitnazarov R. et al. Genome-wide genotyping uncovers genetic profiles and history of the Russian cattle breeds // *Heredity (Edinb)*. 2018. № 120. P. 125–137. <https://doi.org/10.1038/s41437-017-0024-3>

15. Zinovieva N.A., Dotsev A.V., Sermyagin A.A. et al. Selection signatures in two oldest Russian native cattle breeds revealed using high-density single nucleotide polymorphism analysis // PLoS One. 2020. V. 15. № 11. e0242200. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242200>
16. Abdelmanova A.S., Kharzinova V.R., Volkova V.V. et al. Genetic diversity of historical and modern populations of Russian cattle breeds revealed by microsatellite analysis // Genes. 2020. V. 11. № 8. P. 940. <https://doi.org/10.3390/genes11080940>
17. Fan J.B., Oliphant A., Shen R. et al. Highly parallel SNP genotyping // Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol. 2003. № 68. P. 69–78. <https://doi.org/10.1101/sqb.2003.68.69>
18. Purcell S., Neale B., Todd-Brown K. et al. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses // Am. J. Hum. Genet. 2007. V. 81. № 3. P. 559–575. <https://doi.org/10.1086/519795>
19. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from small number of individuals // Genetics. 1978. № 89. P. 583–590.
20. Weir B.S., Cockerham C.C. Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure // Evolution. 1984. V. 38. № 6. P. 1358–1370.
21. Kalinowski S.T. Counting alleles with rarefaction: Private alleles and hierarchical sampling designs // Conserv. Genet. 2004. № 5. P. 539–543. <https://doi.org/10.1023/B:COGE.0000041021.91777.1a>
22. Keenan K., McGinnity P., Cross T.F. et al. diveRsity: An R package for the estimation of population genetics parameters and their associated errors // Methods in Ecology and Evolution. 2013. V. 4. № 8. P. 782–788. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12067>
23. Wickham H. ggplot2: elegant graphics for data analysis. N.Y.: Springer, 2009. 268 p.
24. Huson D.H., Bryant D. Application of phylogenetic networks in evolutionary studies // Mol. Biol. Evol. 2006. V. 23. № 2. P. 254–267. <https://doi.org/10.1093/molbev/msj030>
25. Reynolds J., Weir B.S., Cockerham C.C. Estimation of the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance // Genetics. 1983. № 105. P. 767–779.
26. Alexander D.H., Novembre J., Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals // Genome Res. 2009. № 19. P. 1655–1664. <https://doi.org/10.1101/gr.094052.109>
27. Francis R.M. POPHELPER: An R package and web app to analyse and visualize population structure // Mol. Ecol. Resour. 2017. V. 17. № 1. P. 27–32. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12509>
28. Green R.E., Krause J., Briggs A.W. et al. A draft sequence of the Neandertal genome // Science. 2010. V. 328. № 5979. P. 710–722. <https://doi.org/10.1126/science.1188021>
29. Patterson N., Moorjani P., Luo Y. et al. Ancient admixture in human history // Genetics. 2012. V. 192. № 3. P. 1065–1093. <https://doi.org/10.1534/genetics.112.145037>
30. Petr M., Vernot B., Kelso J. Admixr – R package for reproducible analyses using ADMIXTOOLS // Bioinformatics. 2019. V. 35. № 17. P. 3194–3195. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btz030>
31. Pickrell J.K., Pritchard J.K. Inference of population splits and mixtures from genome-wide allele frequency data // PLoS Genetics. 2012. № 8. e1002967. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002967>
32. Fitak R.R. OptM: estimating the optimal number of migration edges on population trees using Treemix // Biol. Methods Protoc. 2021. V. 6. № 1. bpab017. <https://doi.org/10.1093/biomethods/bpab017>
33. Marras G., Gaspa G., Sorbolini S. et al. Analysis of runs of homozygosity and their relationship with inbreeding in five cattle breeds farmed in Italy // Anim. Genet. 2014. V. 46. № 2. P. 110–121. <https://doi.org/10.1111/age.12259>
34. Biscarini F., Paolo Cozzi P., Gaspa G., Marras G. detectRUNS: Detect runs of homozygosity and runs of heterozygosity in diploid genomes. R Package Version 0.9.5. Available online: <https://cran.r-project.org/web/packages/detectRUNS/index.html> (accessed on 8 May 2021).
35. Ferenčaković M., Sölkner J., Curik I. Estimating autozygosity from high-throughput information: Effects of SNP density and genotyping errors // Genet. Sel. Evol. 2013. V. 45. № 1. P. 42. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-45-42>
36. Lencz T., Lambert C., DeRosse P. et al. Runs of homozygosity reveal highly penetrant recessive loci in schizophrenia // Proc. Natl Acad. Sci. USA. 2007. V. 104. № 50. P. 19942–19947. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710021104>
37. Purfield D.C., Berry D.P., McParland S., Bradley D.G. Runs of homozygosity and population history in cattle // BMC Genet. 2012. V. 13. № 70. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-13-70>
38. Barbato M., Orozco-terWengel P., Tapio M., Bruford M.W. SNeP: A tool to estimate trends in recent effective population size trajectories using genome-wide SNP data // Front. Genet. 2015. V. 6. № 109. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00109>
39. Sved J., Feldman M. Correlation and probability methods for one and two loci // Theor. Popul. Biol. 1973. V. 4. P. 129–132. [https://doi.org/10.1016/0040-5809\(73\)90008-7](https://doi.org/10.1016/0040-5809(73)90008-7)
40. Модоров М.В., Ткаченко И.В., Грин А.А. и др. Генетическая структура популяции голштинизированного черно-пестрого скота на территории Урала // Генетика. 2021. Т. 57. № 4. С. 437–444. <https://doi.org/10.31857/S001667582104010X>

## Whole-Genomic Studies of the Populations' Structure in the Russian Local Black-Pied Breeds

A. S. Abdelmanova<sup>a, \*</sup>, A. A. Sermyagin<sup>a</sup>, A. V. Dotsev<sup>a</sup>,  
A. N. Rodionov<sup>a</sup>, Yu. A. Stolpovsky<sup>b</sup>, and N. A. Zinovieva<sup>a, \*\*</sup>

<sup>a</sup>*Ernst Research Center for Animal Husbandry, Moscow oblast, Podolsk, 142132 Russia*

<sup>b</sup>*Vavilov Institute of General Genetics Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia*

*\*e-mail: preevetic@mail.ru*

*\*\*e-mail: n\_zinovieva@mail.ru*

The genetic characteristics of five Russian dairy breeds of black-pied cattle, including Black-and-white, Istoben, Kholmogor, Tagil and Yaroslavl, are given in this study. Analysis was performed for 112526 single nucleotide polymorphisms (SNPs) using Bovine GGP HD DNA arrays (Illumina Inc., USA). It was found that all studied breeds have their own genetic structure, which distinguishes them from the Holstein breed and from each other. The individuals, retained the most proportion of genomic components that inherent to the studied local breeds, and did not exhibit visible introgression with Holstein are identified in all Russian breeds. It makes them candidates for use in the programs of conservation of genetic resources.

**Keywords:** local breeds, cattle, SNP, black-and-white cattle, biodiversity conservation.