

УДК 636.2:575.224.22

ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ И ОЦЕНКА ДРЕЙФА МУТАНТНЫХ АЛЛЕЛЕЙ В ПОПУЛЯЦИЯХ ГОЛШТИНСКОЙ ПОРОДЫ И ЕЕ ПОМЕСЕЙ

© 2022 г. С. Н. Марзанова¹, Д. А. Девришов¹, И. С. Турбина², Н. С. Марзанов³. *

¹Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина,
Москва, 109472 Россия

²Головной центр по воспроизводству сельскохозяйственных животных, Московская обл., пос. Быково, 142143 Россия

³Федеральный исследовательский центр животноводства им. академика Л.К. Эрнста,
Московская обл., пос. Дубровицы, 142132 Россия

*e-mail: nmarzanov@yandex.ru

Поступила в редакцию 03.12.2021 г.

После доработки 12.01.2022 г.

Принята к публикации 20.01.2022 г.

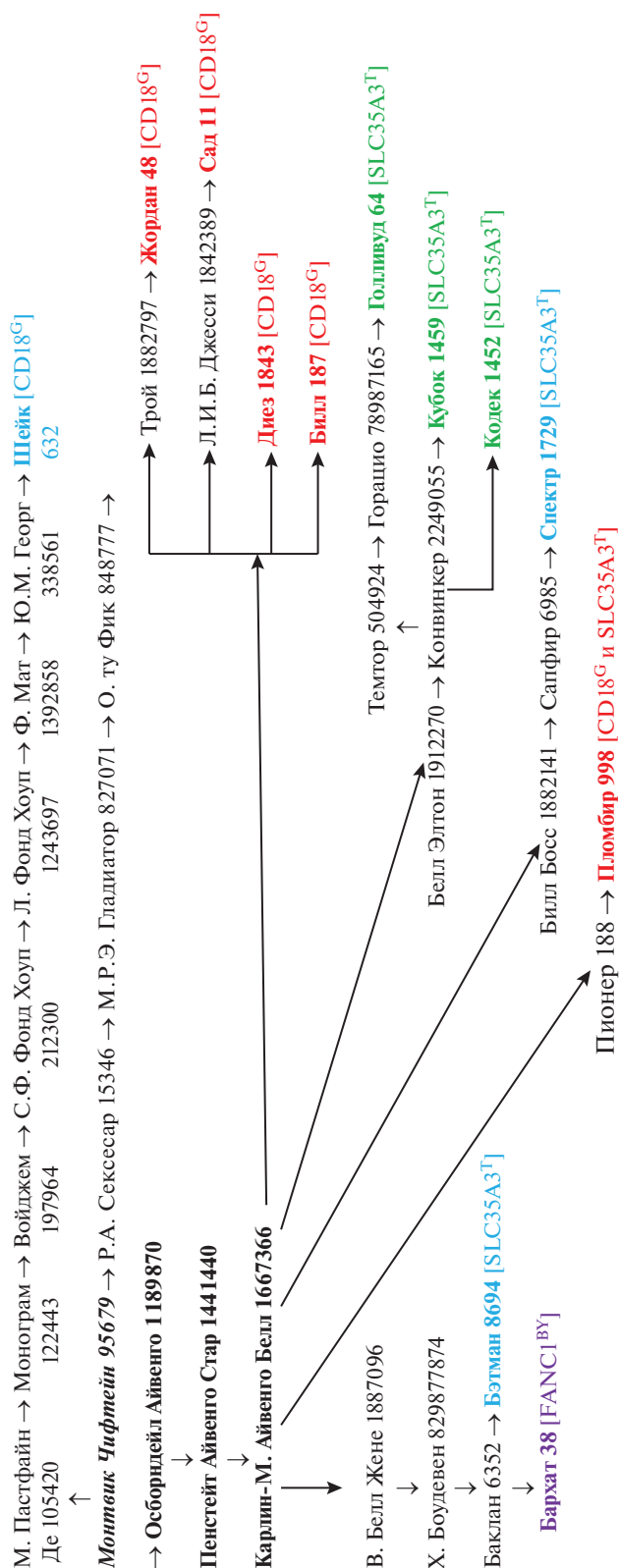
Статья посвящена ДНК-диагностике мутантных аллелей (*CD18^G*, *SLC35A3^T* и *FANCI^{BY}*), вызывающих молекулярно-генетические болезни у крупного рогатого скота. Показана их геогеография у голштинской породы и ее помесей. Установлено, что наибольший вклад в эту проблематику внесли следующие близкородственные быки: Осборндейл Айвенго 1189870 (дед), Пенстейт Айвенго Стар 1441440 (сын) и Карлин-М. Айвенго Белл 1667366 (внук). Благодаря интенсивной “голштинизации”, от этих животных пошли три мутации и распространились по всему миру через многочисленных потомков, в том числе в Россию. Исследовали 2003 племенных быка и коровы. В работе обсуждаются проблемы купирования мутаций и методы очищения стад от рецессивных аллелей на основе комплексных мероприятий: подбора быков гомозиготных по нормальному аллелю, отбору коров-носителей функционально нежелательных мутаций при создании быковоспроизводящих групп, нуклеусов, линий, семейств.

Ключевые слова: голштинская порода, ДНК-технология, мутации, аллели *CD18^G*, *SLC35A3^T*, *FANCI^{BY}*, дрейф генов, эффект основателя.

DOI: 10.31857/S0016675822070116

Известно, что голштинская порода создавалась в США при интенсивной технологии выращивания, жесткой селекции, качественном кормлении и содержании отбираемых на племя животных. По прошествии длительного времени, с внедрением в селекцию животноводства молекулярно-генетических методов для оценки аллелофонда стало возможным проведение диагностики генетических аномалий в потомстве ряда быков-основателей высокопродуктивной молочной породы. Одним из таких быков оказался Осборндейл Айвенго 1189870, 1952 г. рождения, закупленного в Нидерландах для разведения черно-пестрого скота в США. Через 40 лет после его покупки и интенсивного использования, у него и его двух потомков (Пенстейт Айвенго Стар 1441440 (сын), Карлин-М. Айвенго Белл 1667366 (внук)) были выявлены рецессивные мутации *CD18^G*, *SLC35A3^T* и *FANCI^{BY}*, вызывающие дефицит лейкоцитарной адгезии (Bovine Leucocyte Adhesion Deficiency, BLAD), комплекс аномалий позвоночника (Complex vertebral malformation, CVM) и синдром брахиспины (Bovine Brachyspina Syndrome, BYS) [1, 2]. Причем Пенстейт Айвенго

Старом 1441440 мутантные аллели *CD18^G* и *FANCI^{BY}* были получены от отца (Осборндейл Айвенго 1189870), а *SLC35A3^T*-мутация — от матери. Позднее три мутации он передал своему знаменитому сыну — Карлин-М. Айвенго Беллу 1667366. В дальнейшем оказалось, что три известных быка передали своим многочисленным потомкам мутантные аллели, элиминация которых продолжается до сих пор у внуков, правнуков, праправнуков и т.д. Животные гетерозиготные по мутантному аллелю являются носителями генетического заболевания и могут передавать его 50% потомства. Гомозиготные по мутантному аллелю эмбрионы гибнут на ранних стадиях развития или рождаются мертвыми или погибают в первые месяцы жизни. Все три мутации исследователи отнесли к летальным аллелям, хотя в гомозиготе при BLAD рождаются живые телята, но они долго не живут несмотря на помощь ветеринарных специалистов [3–5]. Как показывает опыт разведения животных голштинской породы, рецессивные мутации в гетерозиготном состоянии могут длительное время сохраняться в популяциях и



при неконтролируемом разведении таких носителей возможно получение эмбрионов в гомозиготном состоянии и гибель потомства. Гибель гомо-

Рис. 1. Генеалогия близкородственных быков-производителей линии Монтвика Чифтейна 95679, носителей мутаций *CD18^G*, *SLC35A3^T*, *FANCI^{BY}*. Монтвик Чифтейн – основоположник линии 95679. Обычным жирным шрифтом обозначены три близкородственных быка, которые сыграли значительную роль в становлении голштинской породы и в распространении мутаций. Синим цветом выделены быки, унаследовавшие аллели *CD18^G*, *SLC35A3^T* с материнской стороны; красным – быки, *CD18^G*-носители, они получили его от своих отцов. Зеленый цвет – быки, носители *SLC35A3^T*; фиолетовый цвет – обладатель *FANCI^{BY}*-аллеля. Бык Пломбир 998 выделен бордовым цветом, он является носителем двух мутантных аллелей – *CD18^G* и *SLC35A3^T*.

зиготных особей наносит существенный экономический урон животноводству из-за аборт и болезней коров. Поэтому разработка методов по выявлению, отбору животных и элиминации из стада носителей рецессивных мутаций позволяет решить серьезную практическую задачу в разведении голштинской породы и ее помесей.

Исследования проводили в лаборатории генетики сельскохозяйственных животных ФИЦ ВИЖ им. акад. Л.К. Эрнста и кафедре иммунологии и биотехнологии МГАВМиБ им. К.И. Скрябина. Всего исследованиями было охвачено 2003 племенных быков и коров. Выделение ДНК из семени быков и консервированной крови коров проводили с помощью наборов ДНК-сорба-В и S-сорб, руководствуясь инструкцией предприятия-изготовителя. Выделенную ДНК исследовали на наличие мутаций *CD18^G* ($n = 1013$), *SLC35A3^T* ($n = 716$) и *FANCI^{BY}* ($n = 274$) у представителей голштинской породы, и высококровных помесей (голштинская × черно-пестрая порода) ($n = 7$) с 87% кровностью по отцовской форме, вызывающие соответственно VLAD, CVM и BYS. Анализ ДНК проводили согласно предложенных нами Патентов [6–8]. Популяционно-генетический анализ полученных данных осуществлялся с помощью апробированных методов. Определяли число наблюдаемых и ожидаемых генотипов, частоту встречаемости аллелей, а также χ^2 , значение, которого отражает нарушение генетического равновесия в исследуемом локусе [9].

Диагностика трех мутантных аллелей *CD18^G*, *SLC35A3^T* и *FANCI^{BY}* и проведенный генетико-генеалогический анализ потомков линии Монтвика Чифтейна 95679 показали, что все три знаменитых быка-производителя и часть их потомков являются носителями мутаций, вызывающих серьезные наследственные заболевания. Существует мнение у специалистов, что сам Осборндейл Айвенго 1189870 получил мутации от матери. Кроме того, у линии Монтвика Чифтейна 95679 есть еще одна ветвь, которая дала другого быка-

носителя – Шейка 632. Таким образом, распространение данных трех мутаций внутри линии Монтвика Чифтейна 95679 имеет непростую историю. Тем не менее, в основной массе, три мутации, вызывающие серьезные наследственные болезни, распространились через трех родственных быков (рис. 1). Данное явление в биологии получило название “эффекта основателя” [10–12].

Все три знаменитых быка входят в ограниченное число элитных производителей, которые приняли активное участие в создании самой высокомоленной в мире голштинской породы. По материалам Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (FAO) ее представителей широко используют в 163 странах мира в качестве племенного материала для повышения молочной продуктивности, у некоторых из них выявлены обсуждаемые три мутации. Следует отметить, подобные мутации выявлены у пород других генеалогических корней: бурой швицкой, палево-пестрой и красной. Недавно немецкими учеными обнаружена новая мутация, установлено, что она, наоборот, маркирует своим присутствием высокую жизнеспособность теленка голштинской породы [15].

Генетическое разнообразие в природной популяции того или иного вида зачастую формируется под воздействием внешних факторов (влияние природно-климатических условий). С развитием промышленного животноводства приоритетным стала целенаправленная селекция продуктивных животных. Она направлена на высокую целевую отдачу путем формирования изолированной популяции с отличным генетическим фондом, основанной на генетическом коде основателя. Выбор небольшой группы из популяции сопровождается дрейфом генов и нежелательными мутациями среди элитных животных. В молочном скотоводстве аналогичная ситуация отмечается у быков и коров голштинской породы. У этих групп животных были обнаружены такие генетические аномалии как дефицит лейкоцитарной адгезии, комплекс аномалий позвоночника, синдром брахиспины. Масштабные исследования с охватом многих стран мира показали, что эти аномалии стали даже породоспецифическими [8, 10–12].

Под “эффектом основателя” понимается явление, которое возникает, когда небольшая группа животных становится изолированной от крупной популяции или целой породы. В данном случае в качестве массива крупного рогатого скота выступила черно-пестрая порода. Из материала данной породы были образованы, сначала голштинская порода черно-пестрой масти, а затем и красно-пестрой масти, на основе отбора небольшого количества быков и коров от высокопродуктивных животных. Тем самым производилось закрепление и распространение в популяции характерных

морфофизиологических особенностей от одного или нескольких ее основателей. В результате действия “эффекта основателя” и дрейфа генов в популяции ряд элитных животных приобрели мутации, от которых до сих пор мировое молочное скотоводство не может избавиться. Кроме того у голштинской породы наблюдаются наследственные болезни: дефицит лейкоцитарной адгезии, комплекс аномалий позвоночника, синдром брахиспины, которые стали породоспецифическими, то есть ее неотъемлемой частью [8, 10–12]. Мутантные аллели $CD18^G$ и $SLC35A3^T$, а сейчас также и $FANCI^{BY}$, распространились в те регионы, где интенсивно шла голштинизация [13–17].

Так, с 1994 г. в АО “Головной центр по воспроизводству сельскохозяйственных животных” (АО “ГЦВ”) совместно с лабораторией генетики сельскохозяйственных животных ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста была начата работа по аттестации быков-производителей на наличие $CD18^G$ -мутации, вызывающей BLAD-синдром. Были выявлены первые быки-производители, носители мутации $CD18^G$, накоплен материал по данной проблематике [18]. Для проведения исследований на носительство $CD18^G$ -мутации, Т.П. Усовой с соавт. [19], все племенное поголовье быков голштинской породы АО “ГЦВ” и ее помеси были поделены на две группы: животные импортной ($n = 642$) и российской селекции ($n = 377$). Цель работы заключалась в оценке уровня распространения $CD18^G$ -миссенс-мутации среди быков-производителей разных селекций в АО “ГЦВ”. В итоге носителями дефектного аллеля $CD18^G$ оказались восемь племенных быков импортной и 33 быка российской селекции.

Обычно, в процессе проведения селекционных мероприятий, на племя оставляют потомков высокопродуктивных животных. Естественно, наряду с высокой продуктивностью в стаде происходит закрепление сопутствующих мутантных аллелей. В результате наряду с приобретением хозяйственно полезных признаков (при использовании голштинских быков) происходило засорение мутантными аллелями. Вместе с тем, благодаря активной деятельности сотрудников АО “ГЦВ”, элитные быки-носители $CD18^G$, $SLC35A3^T$ и $FANCI^{BY}$ мутаций были удалены из племенной станции и заменены на неносителей.

Другое явление, с которым столкнулись селекционеры при разведении голштинской породы, – дрейф аллелей $CD18^G$, $SLC35A3^T$ и $FANCI^{BY}$, обусловленный жесткой селекцией и широким использованием ограниченного числа элитных быков и их потомков, искусственного осеменения и множественной овуляции и эмбриотрансплантации (МОЭТ). Естественно это привело к сужению аллелофонда из-за гомозиготизации. Следствием явилось увеличение концентрации редких

мутаций, выявляемых в племенных хозяйствах России и за рубежом.

В данной ситуации также сыграл роль “эффект бутылочного горлышка”, т.е. голштины созданы от небольшой популяции высокомоломочных животных, случайно отобранных, являющихся потомками 20 элитных быков-производителей, основоположников породы.

До поры до времени рецессивные аллели не проявлялись, они начали появляться, когда пошло сужение биоразнообразия за счет гомозиготизации популяций молочного скота, использования близкородственных спариваний животных, сокращения продуктивного долголетия, скрещивания между известными голштинскими линиями, с развитием и диагностическими возможностями ДНК-технологии. Наступила эра диагностики рецессивных аллелей, а вместе с ней выявление новых источников наследственных пороков у сельскохозяйственных животных [20–24].

Таким образом, проведенные исследования позволили выявить три серьезных источника (эффект основателя, дрейф генов, использование не аттестованного семени или животных), которые являются причиной поступления и появления носительства мутаций наследственных болезней в популяциях у высокомоломочной голштинской породы или ее помесей в Российской Федерации и за рубежом. На большом материале удалось показать такое явление, как породоспецифические мутантные аллели. Геннодиагностический подход позволил предложить генетико-генеалогический способ анализа дрейфа мутаций, как внутри одного государства, так и между странами. Причиной такого явления явился не естественный, а жесткий искусственный отбор человека на повышение молочной продуктивности.

В этой связи, для купирования мутаций и санации стад, считаем необходимым проведение генодиагностики аллелей *CD18^G*, *SLC35A3^T* и *FANCI^{BY}* у ремонтного молодняка, быковоспроизводящих коров, закупаемого семени и эмбрионов на основе предложенных методов диагностики и наборов. Искоренение мутантных аллелей возможно при проведении комплексных мероприятий. Они включают подбор быков к стаду, особей гомозиготных по нормальному аллелю (например *CD18^{A/A}*), отбор коров-носителей нежелательных мутаций, при создании быковоспроизводящих групп, нуклеусов, линий, семейств.

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. Kehrli M.E., Jr., Shuster D.E., Ackermann M.R. Leukocyte adhesion deficiency among Holstein cattle // *Cornell Vet.* 1992. V. 82. P. 103–109.
2. Agerholm J.S., McEvoy F., Arnbjerg J. Brachyspina syndrome in a Holstein calf // *J. Vet. Diagn. Invest.* 2006. V. 18. P. 418–422. <https://doi.org/10.1177/104063870601800421>
3. Agerholm J.S., Bendixen C., Arnbjerg J., Anderson O. Complex vertebral malformation in Holstein calves // *J. Vet. Diagn. Invest.* 2001. V. 13. P. 283–289. <https://doi.org/10.1177/104063870101300401>
4. Casas E., Kehrli M.E., Jr. A review of selected genes with known effects on performance and health of cattle // *Frontiers in Veter. Sci.* 2016. V. 3. Article 113. <https://doi.org/10.3389/fvets.2016.00113>
5. Марзанов Н.С., Турбина И.С., Ескин Г.В. и др. Скрининг гена дефицита лейкоцитарной адгезии у черно-пестрого голштинизированного скота // *С.-хоз. биология.* 2003. № 6. С. 23–30.
6. Марзанова С.Н., Девришов Д.А., Алексеев Я.И. и др. Набор последовательности праймеров и аллель-специфических зондов для одновременной генодиагностики двух мутантных аллелей, вызывающих CVM и VLAD у крупного рогатого скота. ООО “Агровет”. Патент на изобретение RU № 2577990 С1. Москва. ФИПС. Заявл. 11.02.2015. Опубл. 20.03.2016. Бюл. № 8.
7. Марзанова С.Н., Девришов Д.А., Алексеев Я.И. и др. Способ одновременной генодиагностики двух мутантных аллелей, вызывающих CVM и VLAD у крупного рогатого скота, и тест-система для его осуществления. ООО “Агровет”. Патент на изобретение RU № 2601151 С2. Москва. ФИПС. Заявл. 11.02.15. Опубл. 27.10.2016. Бюл. № 30.
8. Марзанова С.Н., Девришов Д.А., Алексеев Я.И. и др. Способ генодиагностики мутантного аллеля, вызывающего короткий позвоночник или брахиспину у крупного рогатого скота, и тест-система для его осуществления. ООО “Агровет”. Патент на изобретение RU № 2 664 454 С2. Москва. ФИПС. Заявл. 04.04.16. Опубл. 17.08.2018. Бюл. № 23.
9. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М.: Наука, 1991. 271 с.
10. Mayr E. Change of genetic environment and evolution // *Evolution as a Process.* London: George Allen and Unwin, 1954. 367 p.
11. Марзанова С.Н., Нагорный В.А., Девришов Д.А. и др. Эффект основателя и геогеография CV- и BL-мутаций у черно-пестрого скота // *Росс. с.-хоз. наука.* 2015. № 6. С. 44–47.
12. Marzanova S.N., Nagorniy V.A., Devrishov D.A. et al. Founder effect and genogeography of CV and BL mutations in black and white cattle // *Russ. Agric. Sci.* 2016. V. 42. № 1. P. 80–83. <https://doi.org/10.3103/S1068367416010134>
13. Kipp S., Segelke D., Schierenbeck S. et al. A new holstein haplotype affecting calf survival // *Int. Bull.* 2015. № 49. P. 49–53.
14. Турбина И.С. Характеристика быков-производителей по различным генетическим маркерам: Дис. ...

- канд. биол. наук. М.: Моск. гос. акад. ветер. мед. и биотехн. им. К.И. Скрябина, 2006. 112 с.
15. Марзанов Н.С., Ескин Г.В., Турбина И.С. и др. Генодиагностика и распространение аллеля иммунодефицита, или BLAD-синдрома, у черно-пестрой породы крупного рогатого скота. М.: Росинформагротех, 2013. 105 с.
 16. Дементьева Н.В., Митрофанова О.В., Тыщенко В.И. и др. Встречаемость и значение мутации CVM у племенных животных Ленинградской области // Молоч. и мясное скотоводство. 2014. № 6. С. 7–9.
 17. Трахимчик Р.В., Танана Л.А., Епишко О.А. Устойчивость крупного рогатого скота Гродненской области к генетически детерминированным заболеваниям (BLAD, CVM, DUMPS, citrullinaemia, brachyspina, factor XI) // Сельское хоз. Проблемы и перспективы. Сб. науч. тр. Гродно: 2017. С. 291–297.
 18. Игнатьев В.М. Скрининг гена лейкоцитарной адгезии (BLAD-синдром) у животных черно-пестрого корня крупного рогатого скота: Дис. ... канд. биол. наук. Москов. обл.: ВНИИЖ, 1998. 96 с.
 19. Усова Т.П., Усманова Н.Н., Литвина Н.И., Усов Н.В. Распространение BLAD-синдрома у быков-производителей голштинской породы отечественной и импортной селекции // Вестник Росс. гос. аграр. заоч. ун-та. 2017. № 25(30). С. 20–24.
 20. Agerholm J.S., DeLay J., Hicks B., Fredholm M. First confirmed case of the bovine brachyspina syndrome in Canada // Can. Vet. J. 2010. V. 51. P. 1349–1350.
 21. Марзанова С.Н. Разработка генодиагностики комплекса аномалий позвоночника [CVM] и иммунодефицита [BLAD] у животных черно-пестрого голштинизированного скота: Дис. ... канд. биол. наук. М.: Моск. гос. акад. ветерин. мед. и биотехнол. им. К.И. Скрябина, 2012. 142 с.
 22. Cole J.B. A simple strategy for managing many recessive disorders in a dairy cattle breeding program // Genet. Selection Evol. 2015. V. 47. P. 94. <https://doi.org/10.1186/s12711-015-0174-9>
 23. Cole J.B., Null D.J., Van Raden P.M. Phenotypic and genetic effects of recessive haplotypes on yield, longevity, and fertility // J. Dairy Sci. 2016. V. 99(9). P. 7274–7288. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10777>
 24. Chun Hsuan Chao, Yi Ming Chen, Kuo Hua Lee. Genotype Screening of Bovine Brachyspina in Taiwan Holstein Cows // Am. J. Animal and Veterinary Sci. 2020. V. 15(3). P. 206–210. <https://doi.org/10.3844/ajavsp.2020.206.210>

DNA Technology and Estimation of Mutant Alleles Drift in Populations of the Holstein Breed and Its Crossis

S. N. Marzanova^a, D. A. Devrishov^a, I. S. Turbina^b, and N. S. Marzanov^c. *

^aSkryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, 109472 Russia

^bJoint-Stock Company “Head Center for the Reproduction of Farm Animals”, Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Moscow oblast, Bykovo, 142143 Russia

^cErnst Federal Research Center for Animal Husbandry, Moscow oblast, pos. Dubrovitsy, 142132 Russia

*e-mail: nmarzanov@yandex.ru

The article is devoted to the DNA diagnostics of mutant alleles (*CD18^G*, *SLC35A3^T* и *FANCI^{BY}*) that cause molecular genetic diseases in cattle. Their genogeography in the Holstein breed and its crossis shown. It is defined, that the following closely related bulls made the greatest contribution to this issue: Osborndale Ivanhoe 1189870 (grandfather), Penstate Ivanhoe Star 1441440 (son), Carlin-M. Ivanhoe Bell 1667366 (grandson). By virtue of intensive Holsteinization, three mutations went from them and spread throughout the world through numerous descendants, including to Russia. 2003 breeding bulls and cows were researched. The research discusses the problems of stopping mutations, and methods for clearing herds of recessive alleles based on complex measures: selection of bulls homozygous for the normal allele; selection of non-carrier cows of functionally undesirable mutations when creating bull-reproducing groups, nuclei, lines, families.

Keywords: Holstein breed, DNA technology, mutations, *CD18^G*, *SLC35A3^T* и *FANCI^{BY}* alleles, gene drift, founder effect.