

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КАЛМЫЦКОЙ ПОРОДЫ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА РЕСПУБЛИКИ КАЛМЫКИЯ НА ОСНОВЕ ПОЛНОГЕНОМНОГО АНАЛИЗА*

Иван Федорович Горлов^{1,2}, академик РАН
Марина Ивановна Сложенкина^{1,2}, член-корреспондент РАН
Юрий Николаевич Федоров³, член-корреспондент РАН
Елена Юрьевна Анисимова¹, кандидат биологических наук
Екатерина Владимировна Карпенко¹, кандидат биологических наук
Кермен Евгеньевна Бадмаева¹, кандидат биологических наук
Виктория Саналовна Убушиева¹, соискатель

¹ФГБНУ «Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции», г. Волгоград, Россия

²ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный технический университет», г. Волгоград, Россия

³ФГБНУ Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, Московская обл., пос. Биокомбината, Россия
E-mail: niimmp@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты оценки биоразнообразия аборигенных породных ресурсов крупного рогатого скота Республики Калмыкия на основе полногеномного генотипирования. Объект изучения — биоматериал, полученный от поголовья КРС калмыцкой породы, выращиваемого в Калмыкии ($n = 20$). Дополнительно были взяты генотипы калмыцкой породы, имеющиеся в ОНИС БиоТехЖ (ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л.К. Эрнста, г. Москва). Препараты по своим качественным и количественным характеристикам пригодны для проведения полногеномных исследований с применением ДНК-чипов. Концентрация двухцепочечной ДНК в образцах варьировала от 16 до 80 нг/мкл, соотношение OD260/OD280 — от 1,77 до 2,12, эффективность генотипирования (call rate) — от 99,72 до 99,84%. Впервые получены данные об уровне генетического разнообразия в популяциях калмыцкой породы крупного рогатого скота Республики Калмыкия с применением ДНК-чипов высокой плотности, и выполнено сравнение рассчитанных популяционно-генетических показателей с тремя породами турано-монгольского происхождения. Калмыцкая порода характеризовалась наиболее высоким уровнем генетического разнообразия, что может быть следствием использования естественной случки при разведении, а также относительно высокой численности популяции, по сравнению с другими породами. Из-за малочисленности поголовья в якутской породе минимальный уровень генетического разнообразия. Результаты исследования найдут применение при разработке программ разведения и сохранения калмыцкой породы КРС.

Ключевые слова: крупный рогатый скот (КРС), биоразнообразие, калмыцкая порода, полногеномный анализ, Bovine SNP HD BeadChip

ASSESSMENT THE KALMYK CATTLE BREED GENETIC DIVERSITY IN THE KALMYKIA REPUBLIC BASED ON GENOME-WIDE ANALYSIS

I.F. Gorlov^{1,2}, Academician of the RAS
M.I. Slozhenkina^{1,2}, Corresponding Member of the RAS
Yu.N. Fedorov³, Correspondent Member of the RAS
E.Yu. Anisimova¹, PhD in Biological Sciences
E.V. Karpenko¹, PhD in Biological Sciences
K.E. Badmaeva¹, PhD in Biological Sciences
V.S. Ubushieva¹, Graduate Student

¹Volga region Research Institute of manufacture and processing of meat-and-milk production, Volgograd, Russia

²Volgograd State Technical University, Volgograd, Russia

³All-Russian Research and Technological Institute of Biological industry, Moscow region, Bio-plant settlement, Russia
E-mail: niimmp@mail.ru

Abstract. In the article results of the biodiversity evaluation of the indigenous breed resources of cattle of the Republic of Kalmykia by whole-genome genotyping are presented. The objects of research were samples of biomaterial obtained from two herds of Kalmyk cattle raised in the Republic of Kalmykia ($n = 20$). Other samples for population-genetic studies were taken from L.K. Ernst FRC (Podolsk, Russia). Modern molecular-genetics and bioinformatics methods were used in this research. As a result, DNA was isolated and comparative study was carried out. The obtained DNA samples are suitable for carrying out whole-genome SNP studies using Bovine SNP HD BeadChip according to their qualitative and quantitative characteristics. The concentration of double-stranded DNA in the studied samples varied up to 80 ng/μl, the ratio of OD260/OD280 varied up to 2.12. The efficiency of genotyping (call rate) varied

* Научные исследования проведены в рамках Проекта РФФИ № 22-16-00041, ГНУ НИИММП / Scientific research was carried out within the framework of the RSF Project # 22-16-00041 NIIMMP.

up 99.72 to 99.84%. The novelty of this research is the genetic diversity of two populations of Kalmyk cattle raised in the Republic of Kalmykia was established at the first time using high-density DNA chips and population-genetic estimation was also carried out for comparison with three breeds of Turano-Mongolian origin. Kalmyk breed have shown the highest level of genetic diversity compared to other breeds of Turano-Mongolian origin. This fact may be a consequence of the use of free mating in the breeding, as well as a relatively high number of Kalmyk cattle compared to other breeds. The minimum level of genetic diversity established in the Yakut breed is a consequence of the small number of livestock. The results obtained will be useful in the development of breeding and conservation programs of the Kalmyk cattle.

Keywords: cattle, biodiversity, Kalmyk breed, genome-wide analysis, Bovine SNP HD BeadChip

Скотоводство — одна из ведущих и приоритетных отраслей сельского хозяйства России, цель которой — обеспечить население страны высококачественным отечественным животноводческим сырьем. В процессе эволюции, селекции и миграции скота формируются уникальные породные признаки, обусловленные как внешними (паратипические) факторами, так и генетическими детерминантами. [8, 10] Высокоэффективный инструмент, позволяющий идентифицировать генетические профили сельскохозяйственных животных, — ДНК-чипы для генотипирования однонуклеотидных полиморфизмов (SNP). [2, 13]

Популярные в России породы крупного рогатого скота мясного направления продуктивности: *калмыцкая*; *казахская белоголовая*; *абердин-ангусская*; *геррефордская*. *Калмыцкий* скот, благодаря своим адаптационным способностям, распространен наиболее широко, но мало изучен на молекулярно-генетическом уровне. [4–6]

Ранее учеными получены сведения о генетическом разнообразии поголовья данной породы иммуногенетическими методами, а также с помощью мультилокусного межмикросателлитного анализа. [1, 7, 9, 11, 12] Приведены данные об использовании результатов полногеномного SNP анализа в селекции крупного рогатого скота *казахской белоголовой* породы. [3]

Цель работы — изучение параметров биоразнообразия скота *калмыцкой* породы Республики Калмыкия на основе полногеномного анализа с применением ДНК-чипов высокой плотности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В двух популяциях крупного рогатого скота *калмыцкой* породы (НАО ПЗ «Кировский» Яшкульского района и ООО «Агрофирма Адучи» Целинного района, Республика Калмыкия) у животных были отобраны ушные выщипы для выделения ДНК ($n = 20$). Дополнительно для популяционно- и филогенетического анализов использовали генотипы 28 животных изучаемой породы из ОНИС БиоТехЖ (ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л.К. Эрнста, г. Москва). Для сравнительных исследований взяты генотипы трех пород скота турано-монгольского происхождения — *бурятской* ($n = 20$), *киргизской* ($n = 20$) и *якутской* ($n = 23$) (табл. 1). В работе применяли современные молекулярно-генетические и биоинформационные методы.

Исследования проводили в лаборатории функциональной и эволюционной геномики животных ФГБНУ ФИЦ ВИЖ имени Л.К. Эрнста и ОНИС БиоТехЖ на оборудовании Центра «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных».

ДНК выделяли с помощью набора реагентов ДНК Экстран-2 в соответствии с протоколом производителя (ООО НПФ «Синтол», г. Москва).

Чистоту выделенных препаратов ДНК определяли по соотношению A260/280 на спектрофотометре NanoDrop 8000 (ThermoFisher, США), концентрацию — на флуориметре Quantus (Promega Corp., США).

Полногеномное сканирование SNP полиморфизмов (≈ 777 тыс.) проводили с применением ДНК-чипов высокой плотности (Bovine HD BeadChip, Illumina Inc., США), биоинформационную обработку полученных данных — в программной среде PLINK 1.9 (<http://zzz.bwh.harvard.edu/plink/>). Использовали фильтры (в скобках даны соответствующие команды в программе PLINK): Call-rate по всем SNP для индивидуального образца не ниже 90% (--mind); Call-rate для каждого из SNP по всем генотипированным образцам не ниже 90% (--geno); частота встречаемости минорных аллелей (MAF) более 0,01 или 0,05 (--maf 0,01); отклонение SNP генотипов от распределения Харди-Вайнберга в совокупности протестированных образцов с достоверностью $p\text{-value} < 10^{-6}$ (--hwe). Устанавливали неравновесное сцепление исследуемых SNP (LD оценка) с $r^2 < 0,2$, шаг — 50 kb (--indep-pairwise).

На заключительном этапе рассчитывали популяционно-генетические параметры (R пакет diveRsity): наблюдаемая гетерозиготность (H_o), несмещенная ожидаемая гетерозиготность (uHe), аллельное разнообразие (Ar), несмещенный коэффициент инбридинга ($uFis$, доверительный интервал — 95%), рассчитанный на основании значений uHe .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Выделена ДНК из 20 образцов биоматериала особей *калмыцкой* породы крупного рогатого скота. Концентрация двухцепочечной ДНК в образцах — 16...80 нг/мкл, соотношение OD260/OD280 — 1,77...2,12. Эффективность генотипирования варьировала от 99,72 до 99,85% (средняя — 99,74%) (табл. 2).

Таблица 1.

Характеристика образцов, участвовавших в сравнительных популяционно-генетических исследованиях

Порода	Обозначение	n	Страна	Регион
Бурятская	Buryat	20	Россия	Азия
Калмыцкая	Kalmyk	48	Россия	
Киргизская	Kyrgyz	20	Кыргызстан	
Якутская	Yakut	23	Россия	

Таблица 2.
Эффективность генотипирования (call rate) образцов ДНК крупного рогатого скота калмыцкой породы с использованием Bovine HD BeadChip (777K, Illumina)

№пробы	ID ВИЖ	Позиция на чипе	Call rate
781	kirovskij_CKP_BOS_201	204661000003_R01C01	0,9972
1044	kirovskij_CKP_BOS_202	204661000003_R02C01	0,9973
746	kirovskij_CKP_BOS_203	204661000003_R03C01	0,9974
786	kirovskij_CKP_BOS_204	204661000003_R04C01	0,9974
130	kirovskij_CKP_BOS_205	204661000003_R05C01	0,9972
693	kirovskij_CKP_BOS_206	204661000003_R06C01	0,9973
699	kirovskij_CKP_BOS_207	204661000003_R07C01	0,9973
1438	kirovskij_CKP_BOS_208	204661000003_R08C01	0,9973
1332	kirovskij_CKP_BOS_209	204612120004_R01C01	0,9972
725	kirovskij_CKP_BOS_210	204612120004_R02C01	0,9974
696	kirovskij_CKP_BOS_211	204612120004_R03C01	0,9975
733	kirovskij_CKP_BOS_212	204612120004_R04C01	0,9974
783	kirovskij_CKP_BOS_213	204612120004_R05C01	0,9973
1053	kirovskij_CKP_BOS_214	204612120004_R06C01	0,9974
20938	kirovskij_CKP_BOS_215	204612120004_R07C01	0,9974
4428	kirovskij_CKP_BOS_216	204612120004_R08C01	0,9982
30000	aduchi_CKP_BOS_217	204612120005_R01C01	0,9973
30002	aduchi_CKP_BOS_218	204612120005_R02C01	0,9973
30004	aduchi_CKP_BOS_219	204612120005_R03C01	0,9973
40100	aduchi_CKP_BOS_220	204612120005_R04C01	0,9974

Таблица 3.
Параметры генетического разнообразия калмыцкой породы крупного рогатого скота, по сравнению с другими породами турано-монгольского происхождения

Порода	n	Ho	Ar	uHe	uFis
Калмыцкая	48	0,373±0	1,981±0	0,375±0	0,005 [0,004;0,006]
Киргизская	20	0,366±0	1,971±0	0,369±0	0,007 [0,006;0,008]
Бурятская	20	0,363±0	1,964±0	0,363±0	0,002 [0,001;0,003]
Якутская	23	0,290±0	1,810±0.001	0,288±0	-0,005 [-0,006;-0,004]

Примечание. Породы представлены в порядке снижения показателей: Ho — наблюдаемая гетерозиготность; Ar — аллельное разнообразие; uHe — несмещенная ожидаемая гетерозиготность. uFis — несмещенный коэффициент инбридинга [доверительный интервал].

По сравнению с другими породами КРС турано-монгольского происхождения, калмыцкий скот из Республики Калмыкия характеризовался наиболее высоким уровнем генетического разнообразия, что может быть следствием использования при разведении естественной случки, а также относительно высокой численностью популяции. Минимальный уровень генетического разнообразия в якутской породе — результат ее малочисленности (табл. 3).

Выводы. Создан банк ДНК 20 животных калмыцкой породы, выращиваемых в Республике Калмыкия, для полногеномного сканирования, осуществлено генотипирование по SNP-маркерам с помощью Bovine HD BeadChip (777K Illumina). Выполнен контроль качества генотипирования и отбор SNP-маркеров для исследований. Впервые

получены данные о генетическом разнообразии двух популяций крупного рогатого скота калмыцкой породы с применением ДНК-чипов высокой плотности и проведены популяционно-генетические расчеты для сравнения с тремя породами турано-монгольского происхождения.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

- Генджиева О.Б., Сулимова Г.Е. Изучение генетического разнообразия калмыцкого скота с использованием ISSR-фингерпринтинга // Зоотехния. 2009. № 3. С. 4–5.
- Зиновьева Н.А., Доцев А.В., Сермягин А.А. и др. Изучение генетического разнообразия и популяционной структуры российских пород крупного рогатого скота с использованием полногеномного анализа SNP // Сельскохозяйственная биология. 2016. Т. 51. № 6. С. 788–800.
- Ковальчук А.М. Генетическое разнообразие казахской белоголовой породы крупного рогатого скота // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2021. № 6 (92). С. 283–289.
- Моисейкина Л.Г., Каюмов Ф.Г., Чимидова Н.В. и др. Аллелофонд крупного рогатого скота калмыцкой породы разных зональных типов // Сборник научных трудов SWorld. 2013. Т. 49. № 4. С. 6–12.
- Улимбашев М.Б., Гостева Е.Р., Краснова О.А. и др. Состояние мясных породных ресурсов крупного рогатого скота России (обзор) // Генетика и разведение животных. 2023. № 1. С. 52–64.
- Федоров В.Х., Приступа В.Н., Бабкин О.А., Торосян Д.С. Совершенствование скота калмыцкой породы: монография / под общей редакцией О.А. Бапкина. Персиановский: Донской ГАУ, 2021. 168 с.
- Чимидова Н.В., Моисейкина Л.Г., Болдырев Б.А., Черунова И.В. Генетическое сходство калмыцкого скота племенных хозяйств республики Калмыкия // Современные проблемы науки и образования. 2013. № 2. С. 486.
- Чимидова Н.В., Моисейкина Л.Г., Убушиева А.В. и др. Изменения генофонда скота калмыцкой породы // Животноводство и кормопроизводство. 2020. Т. 103. № 4. С. 65–73.
- Чимидова Н.В., Моисейкина Л.Г., Убушиева А.В. и др. Генетическое сходство калмыцкого скота в племенных хозяйствах республики Калмыкия // Аграрно-пищевые инновации. 2021. № 4 (16). С. 28–35.
- Юдин Н.С., Ларкин Д.М. Происхождение, селекция и адаптация российских пород крупного рогатого скота по данным полногеномных исследований // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019. Т. 23. № 5. С. 559–568.
- Abdelmanova A.S., Kharzinova V.R., Volkova V.V. et al. Comparative Study of the Genetic Diversity of Local Steppe Cattle Breeds from Russia, Kazakhstan and Kyrgyzstan by Microsatellite Analysis of Museum and Modern Samples // Diversity. 2021. Vol. 13. № 8. Article 351. <https://doi.org/10.3390/d13080351>.
- Chimidova N.V., Moiseikina L.G., Ubushieva A.V. et al. Genetic structure of population of the Kalmyk breed cattle // E3S WEB OF CONFERENCES. XV International Scientific Conference on Precision Agriculture and Agricultural Machinery Industry “State and Prospects for the Development of Agribusiness – Interagromash 2022”. Rostov-on-Don, 2022.
- 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 // Genetics Selection Evolution. 2018. Vol. 50. Article 37. <https://doi.org/10.1186/s12711-018-0408-8>.

REFERENCES

1. Gendzhieva O.B., Sulimova G.E. Izuchenie geneticheskogo raznoobraziya kalmyckogo skota s ispol'zovaniem ISSR-fingerprintinga // Zootekhniya. 2009. № 3. S. 4–5.
2. Zinov'eva N.A., Docev A.V., Sermyagin A.A. i dr. Izuchenie geneticheskogo raznoobraziya i populyacionnoj struktury rossijskikh porod krupnogo rogatogo skota s ispol'zovaniem polnogenomnogo analiza SNP // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. 2016. T. 51. № 6. S. 788–800.
3. Koval'chuk A.M. Geneticheskoe raznoobrazie kazahskoj belogolovoj породы krupnogo rogatogo skota // Izvestiya Orenburgskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2021. № 6 (92). S. 283–289.
4. Moisejkina L.G., Kayumov F.G., Chimidova N.V. i dr. Al-lelofond krupnogo rogatogo skota kalmyckoj породы raznyh zonal'nyh tipov // Sbornik nauchnyh trudov SWorld. 2013. T. 49. № 4. S. 6–12.
5. Ulimbashev M.B., Gosteva E.R., Krasnova O.A. i dr. Sos-toyanie myasnyh porodnyh resursov krupnogo rogatogo skota Rossii (obzor) // Genetika i razvedenie zhivotnyh. 2023. № 1. S. 52–64.
6. Fedorov V.H., Pristupa V.N., Babkin O.A., Torosyan D.S. Sovershenstvovanie skota kalmyckoj породы : monografiya / pod obshchej redakciej O.A. Babkina. Persianovskij: Donskoj GAU, 2021. 168 s.
7. Chimidova N.V., Moisejkina L.G., Boldyrev B.A., Cherunova I.V. Geneticheskoe skhodstvo kalmyckogo skota plemennyh hozyajstv respubliki Kalmykiya // Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2013. № 2. S. 486.
8. Chimidova N.V., Moisejkina L.G., Ubushieva A.V. i dr. Izmeneniya genofonda skota kalmyckoj породы // Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo. 2020. T. 103. № 4. S. 65–73.
9. Chimidova N.V., Moisejkina L.G., Ubushieva A.V. i dr. Geneticheskoe skhodstvo kalmyckogo skota v plemennyh hozyajstvakh respubliki Kalmykiya // Agrarno-pishchevye innovacii. 2021. № 4 (16). S. 28–35.
10. Yudin N.S., Larkin D.M. Proiskhozhdenie, selekciya i adaptaciya rossijskikh porod krupnogo rogatogo skota po dannym polnogenomnyh issledovanij // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii. 2019. T. 23. № 5. S. 559–568.
11. Abdelmanova A.S., Kharzinova V.R., Volkova V.V. et al. Comparative Study of the Genetic Diversity of Local Steppe Cattle Breeds from Russia, Kazakhstan and Kyrgyzstan by Microsatellite Analysis of Museum and Modern Samples // Diversity. 2021. Vol. 13. № 8. Article 351. <https://doi.org/10.3390/d13080351>.
12. Chimidova N.V., Moisejkina L.G., Ubushieva A.V. et al. Genetic structure of population of the Kalmyk breed cattle // E3S WEB OF CONFERENCES. XV International Scientific Conference on Precision Agriculture and Agricultural Machinery Industry “State and Prospects for the Development of Agribusiness – Interagromash 2022”. Rostov-on-Don, 2022.
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 // Genetics Selection Evolution. 2018. Vol. 50. Article 37. <https://doi.org/10.1186/s12711-018-0408-8>.

Поступила в редакцию 12.07.2023

Принята к публикации 26.07.2023

УДК636.593

DOI: 10.31857/2500-2082/2023/6/83-86, EDN: WRFPHW

ПЛЕМЕННЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ ФЕРМЕРСКИХ ЦЕСАРОК*

Владимир Александрович Забиякин^{1,2}, доктор сельскохозяйственных наук, ORCID: 0000-0003-4246-8472

Сергей Анатольевич Замятин¹, кандидат сельскохозяйственных наук, ORCID: 0000-0002-3999-9179

Сергей Аркадьевич Максуткин¹, научный сотрудник

¹Марийский научно-исследовательский институт сельского хозяйства – филиал ФГБНУ «Федеральный аграрный научный центр Северо-Востока имени Н.В. Рудницкого», п. Руэм, Республика Марий Эл, Россия

²ФГБОУ ВО «Марийский государственный университет», г. Йошкар-Ола, Россия

E-mail: zamyatin.ser@mail.ru

Аннотация. Время наступления половой зрелости птицы отражается на экономической рентабельности хозяйства. Сроки могут варьировать под влиянием кормления, освещения и других условий содержания, стабильность которых в индивидуальных хозяйствах трудно сохранять на одном уровне. Испытания птицы по продуктивным качествам и племенным показателям проводили в 2021–2022 годах в КФХ К.А. Жданова (Воронежская обл., Рамонский р-н, деревня Новопопелетное) на цесарках селекционного ядра линии ВБА-1 (волжские белые аутосексные). Проведенные исследования показали, что ранний отбор несушек и племенных самцов до начала воспроизводства стада повышает долю высокопродуктивных птиц. Максимальное количество оплодотворенных яиц ($90,42 \pm 4,29 - 92,71 \pm 3,07\%$) получено от ранне- и среднеспелых несушек, достигших возраста полового созревания на 231–244 день. Раннеспелые цесарки имели достоверное ($P < 0,05$) превосходство над позднеспелыми по большинству качественных и количественных показателей спермы (объем эякулята $0,097-0,1$ см³, концентрация – $4,01-4,45$ млрд/см³). Отбор птицы по признаку скороспелости позволит улучшить состав родительского стада цесарок, повысить рентабельность хозяйства благодаря повышению качества получаемых от них яиц и увеличению количества вывода молодняка.

Ключевые слова: цесарки, скороспелость птицы, продуктивные показатели, оплодотворенность, интенсивность яйцекладки, спермопродукция, воспроизводительные качества, родительское стадо

* Работа проведена в рамках государственного задания (тема № FNWE-2022-0003) / The work was carried out within the framework of the state task (topic No. FNWE-2022-0003).