

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ В ПОПУЛЯЦИЯХ ЖИВОТНЫХ И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ В ИНТЕНСИВНОЙ СЕЛЕКЦИИ МОЛОЧНОГО СКОТА: ОБЗОР

Племяшов К.В.,¹ Смарагдов М.Г.,² Романов М.Н.^{3,4}

¹ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

²Всероссийский НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных, филиал ФГБНУ Федеральное научное учреждение «ВНИИ зооветеринарной селекции» им. академика Л.К. Эрнста, Санкт-Петербург–Пушкин, Россия;

³ФГБОУ ВО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии – МВА имени К.И. Скрябина», Москва, Россия;

⁴Университет Кента, Кентербери, Великобритания

Email: m.romanov@kent.ac.uk

Аннотация

В индустриальном животноводстве XXI века назрела необходимость управления генетической изменчивостью технических популяций и пород молочного скота с помощью современных молекулярных технологий. Из представленного обзора следует, что использование SNP-чиповой технологии находит широкое применение в изучении фундаментальных основ популяционной генетики крупного рогатого скота и при поиске молекулярных маркеров нового поколения для высокоэффективного генотипирования и последующей геномной селекции животных.

Ключевые слова: молекулярно-генетический полиморфизм, молочный скот, SNP-чиповая технология, селекция на молочную продуктивность

Введение

Существующие на земле виды животных и растений образуют огромное множество часто изолированных популяций. В зависимости от уровня генетического дрейфа, миграции, естест-

венного отбора и мутаций наблюдается дифференциация популяций на генетическом и фенотипическом уровнях [7,36]. Следует отметить, что соотношение влияния перечисленных выше факторов различается для природных популяций и популяций животных, находящихся под контролем человека [3]. Выяснением причин и следствий дифференциации популяций занимается ряд биологических дисциплин, как с помощью фундаментальных исследований (например, эволюционная биология, экология и генетика), так и с помощью прикладных исследований (например, лесоводство, рыболовство, птицеводство, медицина, зоотехния). Особый интерес представляют исследования, позволяющие установить, в какой мере генетическая дифференциация популяций вызвана селекцией и стохастическими процессами.

Изучение генетической основы внутри- и межпопуляционного полиморфизма особей является одним из основных направлений генетики животных и птиц [5,11,16,18,30,37,43]. Оценка аллельного полиморфизма и его связь с разнообразием фенотипов животных необходима для дальнейшего генетического анализа популяций [9,32]. Более того, идентификация районов хромосом, ответственных за дифференциацию между отдельными особями, а также районов хромосом, затронутых направленной селекцией (*signatures of selection*), является одним из этапов для целенаправленной генной селекции (*gene assisted selection*) и геномной селекции в сельском хозяйстве [40]. Побочным следствием этих процессов является постепенное уменьшение внутрипородного генетического разнообразия [3,35,38,39,40,44]. На уровне генома это приводит к образованию районов хромосом с частотами аллелей генов, значительно отклоняющихся от равновесия Харди–Вайнберга. При этом в образующихся областях пониженного аллельного разнообразия или гомозиготизации (*sweep regions*) как инбридинг, так и молекулярные следы селекции (*signatures of selection*) будут породоспецифичными или специфичными для породных субпопуляций.

Оценка генетического полиморфизма

В популяционной генетике идентификация локусов, затронутых селекцией, основана на выявлении уменьшения нуклеотид-

ного разнообразия ДНК, изменения неравновесия по сцеплению (linkage disequilibrium, или LD) и изменения частот аллелей генов или маркеров. В настоящее время существуют разные статистические методы для определения популяционного полиморфизма. Из наиболее часто используемых статистик следует отметить измерение LD (r^2) [32], индекса фиксации F_{ST} [1], сравнение индекса фиксации и индекса, основанного на сравнении вариантов Q_{ST} , или так называемый показатель $Q_{ST}-F_{ST}$ [2], показатель гомозиготных участков ROH [3], показатель значительной протяженности гомозиготных гаплотипов EHH [4] и ряд других статистик, выявляющих эффект сопутствующей селекции (hitchhiking) и области хромосом с пониженным аллельным разнообразием (selective sweeps).

Благодаря успехам, достигнутым в молекулярной биологии, в настоящее время созданы высокотехнологичные платформы, позволяющие одновременно генотипировать десятки и сотни тысяч однонуклеотидных замен нуклеотидов (SNPs) в геноме животных и птиц, что служит мощным, ранее невозможным инструментом для оценки генетического разнообразия популяций [1,2,46]. Представляется важным использование SNP-чиповых технологий в практике животноводства и птицеводства для углубленной оценки популяционного полиморфизма и последующего использования полученных данных для геномной селекции [40].

Популяционная дифференциация и селекция КРС

Популяционная генетика занимается выявлением генетических факторов и факторов окружающей среды, влияющих на дивергенцию популяций. Каждая популяция имеет уникальную молекулярно-генетическую структуру, сформировавшуюся благодаря дрейфу генов, миграции, естественному или искусственному отбору и уникальному для каждой популяции паттерну мутаций [31,34]. С помощью недавно появившихся молекулярных подходов и технологий стало возможным всестороннее изучение во времени процессов становления и развития популяций как структурных подразделений вида [2,27].

В настоящее время изучение генетической природы дифференциации популяций животных является наиболее актуальным разделом генетики животных и птиц. Вычисление аллельной гетерозиготности и оценка ассоциации аллелей с фенотипическими признаками служат инструментами для сохранения и управления локальными популяциями. Что касается технических субпопуляций сельскохозяйственных животных (т. е. стад) и их совокупности, представляющей породу, то главными действующими силами, приводящими к становлению таких популяций, являются искусственный отбор, сопутствующий ему дрейф генов, а также поток генов, который возникает вследствие гибридизации, применяемой при создании и поддержании пород животных. Другими словами, вскрытие молекулярно-генетической дифференциации технических популяций позволяет выявить роль каждого фактора, влияющего на популяционную изменчивость.

За последнее десятилетие в мире появилось большое число работ, ориентированных на решение перечисленных выше проблем в области разведения и селекции крупного рогатого скота. Так, ряд новейших исследований направлен на выявление позитивного отбора у КРС [13,21,22]. В других публикациях осуществлен поиск молекулярных следов селекции в хромосомах у разных пород КРС [8,10,17,26,28,29,42]. Актуальность и научная значимость этой проблемы не вызывает сомнений, так как, только решив ее, можно приступить к прикладным аспектам эффективного использования пород животных в современном животноводстве, включая геномную селекцию.

SNP-чипы и их применение в исследованиях на КРС

Геномная революция, произошедшая после создания SNP-чиповой технологии, открыла широкие перспективы для всестороннего и углубленного изучения молекулярно-генетической гетерогенности популяций на новом уровне. Если ранее в качестве молекулярных маркеров использовали 100–300 микросателлитов [35,44,45], то SNP-чипы позволяют использовать сотни тысяч и миллионы маркеров [1,2,12,22,24,39], тем самым формируя плотно заполненные маркерами протяженные участки

генома (хромосом) и, как следствие этого, способствуя более подробному описанию молекулярно-генетической дифференциации особей и популяций.

В настоящее время для изучения генетического разнообразия популяций крупного рогатого скота широко используется чип средней плотности BovineSNP50 производства фирмы Illumina, который содержит 54 тысячи SNP-маркеров [24]. Этот чип является оптимальным в плане соотношения его цены и возможностей для решения многих задач с помощью генотипирования. В некоторых исследованиях также более уместны и применяются SNP-чипы с большей плотностью – 700–800 тысяч маркеров. В случаях, когда необходимо определить все возможные полиморфизмы (а не только те, что присутствуют в чипах) используют полное ресеквенирование индивидуальных геномов крупного рогатого скота.

Идентификация геномных изменений вследствие доместикации (~9000-10000 лет назад), создания пород (~200–300 лет назад) и последующей искусственной селекции (далее следов селекции), является одним из приоритетных направлений генетики животных. Так, с помощью 7500 SNP-маркеров было обнаружено, что только 10% общих полиморфных локусов сегрегируют у *Bos taurus*, бизонов, яков и бантенгов [22]. Рассчитанная с помощью SNP-маркеров эффективная численность популяции (порядка 90 000) была у *B. taurus* 1–2 млн лет тому назад и сейчас составляет около 100 для разных пород. Этим фактом объясняется значительная гетерозиготность, когда сравниваются разные породы. Однако внутри породы наблюдается пониженный уровень гетерозиготности вследствие малой эффективной численности популяции.

С помощью статистик iHS (для подсчета гомозиготных гаплотипов) и индекса дифференциации популяций F_{ST} у 10 пород молочного и мясного скота было обнаружено 236 районов хромосом, затронутых направленной селекцией [28]. Пинтус с соавт. [26] применили к диаграмме рассеяния предварительных данных F_{ST} метод сглаживания LOWESS, что позволило уменьшить шум и получить несколько дополнительных локусов, затронутых направленной селекцией. С помощью F_{ST} -статистики

итальянские исследователи обнаружили следы направленной селекции в хромосомах итальянских пород Brown и Pezzola Rossa [24]. Применение алгоритмов поиска основных компонентов (Principal Component Analysis) к ряду пород позволило определить степень их генетического разнообразия [12,25]. Использование статистики ROH (определяет гомозиготные районы) также позволяет выявить следы направленной селекции [15,27]. Статистика iHS также эффективно определяет следы направленной селекции [20,29]. Схожая с iHS статистика EHH (для выявления протяженных гомозиготных гаплотипов) также используется при определении следов направленной селекции [41]. Совместный анализ iHS статистики и GWAS позволяет увеличить эффективность детекции районов направленной селекции [42].

В идеале полногеномный ресеквенирование позволяет обнаружить максимальное число SNP-маркеров, но его стоимость пока велика и велик уровень определения ложных гетерозиготностей в результате ошибок выравнивания или секвенирования [23]. В связи с небольшой численностью эффективной популяции у пород крупного рогатого скота для удешевления определения следов селекции можно осуществить ресеквенирование быков-производителей, которые внесли большой вклад в формирование разнообразия гаплотипов породы. Затем, с помощью метода SNP-генотипирования нескольких поколений потомков быков-производителей, можно определить гаплотипы быков-производителей, подвергшиеся недавней селекции. Такой подход был осуществлен Ларкиным с соавт. [17]. В результате были определены 48 районов хромосом, подвергшихся недавней селекции с гаплотипами, которые присутствовали в отсекуированных геномах. Поскольку гаплотипы были отсекуированы, авторы смогли определить и сами мутации, которые наиболее вероятно подверглись селекции.

Перспективы применения геномной селекции КРС

С момента опубликования генома коровы в 2009 году [6] и появления технологий полногеномного генотипирования, адаптированного для анализа генетического разнообразия пород крупного рогатого скота, проекты, схожие с представленным

нами, интенсивно ведутся в таких странах как США, Австралия, Новая Зеландия, Франция и Великобритания. Стоит отметить, что основными исследовательскими центрами и организациями, ведущие схожие исследования для других популяций крупного рогатого скота молочных пород, являются Департамент сельского хозяйства (США), Рослинский институт (Великобритания), INRA (Франция), CSIRO (Австралия), AgResearch (Новая Зеландия). Однако вследствие того, что геномная селекция в большинстве случаев работает только для той популяции, для которой была разработана референтная популяция, разработки отдельных исследовательских центров неприменимы к другим популяциям крупного рогатого скота в мире.

Список литературы

1. Дементьева Н.В., Романов М.Н. и др. Изучение структуры генофондной популяции русской белой породы кур методом геномного SNP-сканирования. С.-х. биол., 2017, 52: 1166–1174.
2. Дементьева Н.В., Митрофанова О.В., Кудинов А.А., Смарагдов М.Г., Яковлев А.Ф., Романов М.Н. Возможности SNP-генотипирования для изучения особенностей генетической архитектуры популяций кур с различной историей. Мировые и российские тренды развития птицеводства: реалии и вызовы будущего, 2018, с. 80–81.
3. Моисеева И.Г., Никифоров А.А., Романов М.Н., Бала-новский О.П. Динамика разнообразия домашних живот-ных под действием антропогенного фактора. Интеграция археологических и этнографиче-ских исследований, 2003, с. 284–287.
4. Моисеева И.Г., Романов М.Н. и др. Эволюция, генетическая изменчивость юрловской голосистой породы кур. Системный анализ форм изменчивости. Изв. ТСХА, 2009, № 3: 132–147.
5. Романов М.Н., Черников В.Ф. Полиморфные овобелки как мар-керы внутрипопуляционной изменчивости озерной чайки. Молекуляр-но-генетические маркеры животных, 1994, с. 35–36.
6. Bovine Genome Sequencing and Analysis Consortium et al. The ge-nome sequence of taurine cattle: a window to rumi-nant biology and evolu-tion. Science, 2009, 324: 522–528.
7. Chernikov V.F., Romanov M.N. et al. Estimation of popula-tion structure and differentiation in black-headed gull. J Ornithol, 1994, 135 (1, Sonderheft): 10

8. Cohen-Zinder M. et al. Multisite haplotype on cattle chromosome 3 is associated with quantitative trait locus effects on lactation traits. *Physiol Genomics*, 2011, 43: 1185–1197.
9. Dementieva N.V., Mitrofanova O.V., Dysin A.P., Kudinov A.A., Stanishevskaya O.I., Larkina T.A., Plemyashov K.V., Griffin D.K., Romanov M.N. et al. Assessing the effects of rare alleles and linkage disequilibrium on estimates of genetic diversity in the chicken populations. *animal*, 2021, 15: 100171.
10. Druet T. et al. Identification of large selective sweeps associated with major genes in cattle. *Anim Genet*, 2013, 44: 758–762.
11. Dunn I.C., Miao Y.-W., Morris A., Romanov M. et al. The detection and assay of polymorphism in candidate re-productive gene loci in a commercial broiler breeder population for association studies. *Poultry Genetics Symposium*, 1999, p. 113.
12. Edea Z. et al. Genetic diversity, population structure and relationships in indigenous cattle populations of Ethiopia and Korean Hanwoo breeds using SNP markers. *Front Genet*, 2013, 4: 35.
13. Flori L. et al. The genome response to artificial selection: a case study in dairy cattle. *PLoS One*, 2009, 4: e6595.
14. Holsinger K.E., Weir B.S. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nat Rev Genet*, 2009, 10: 639–650.
15. Kim E.S. et al. Effect of artificial selection on runs of homozygosity in U.S. Holstein cattle. *PLoS One*, 2013, 8: e80813.
16. Kulibaba R., Tereshchenko A. Transforming growth factor $\beta 1$, pituitary-specific transcriptional factor 1 and insulin-like growth factor I gene polymorphisms in the population of the Poltava clay chicken breed: association with productive traits. *Agric Sci Pract*, 2015, 2: 67–72.
17. Larkin D.M. et al. Whole-genome resequencing of two elite sires for the detection of haplotypes under selection in dairy cattle. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109: 7693–7698.
18. Lee M.O., Romanov M.N. et al. Haplotype structure and copy number polymorphism of the beta-defensin 7 genes in diverse chicken breeds. *Anim Genet*, 2017, 48: 490–492.
19. Leinonen T. et al. QST– F_{ST} comparisons: evolutionary and ecological insights from genomic heterogeneity. *Nat Rev Genet*, 2013, 14: 179–190.
20. Lim D. et al. Identification of recently selected mutations driven by artificial selection in Hanwoo (Korean cattle). *Asian-Australas J Anim Sci*, 2013, 26: 603–608.

21. Lynn D.J. et al. A genomics approach to the detection of positive selection in cattle: adaptive evolution of the T-cell and natural killer cell-surface protein CD2. *Genetics*, 2005, 170: 1189–1196.
22. MacEachern S. et al. An examination of positive selection and changing effective population size in Angus and Holstein cattle populations (*Bos taurus*) using a high density SNP genotyping platform and the contribution of ancient polymorphism to genomic diversity in domestic cattle. *BMC Genomics*, 2009, 10: 181.
23. MacLeod I.M., Larkin D.M. et al. Inferring demography from runs of homozygosity in whole-genome sequence, with correction for sequence errors. *Mol Biol Evol*, 2013, 30: 2209–2223.
24. Mancini G. et al. Signatures of selection in five Italian cattle breeds detected by a 54K SNP panel. *Mol Biol Rep*, 2014, 41: 957–965.
25. McTavish E.J. et al. New World cattle show ancestry from multiple independent domestication events. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110: E1398–E1406.
26. Pintus E. et al. Use of locally weighted scatterplot smoothing (LOWESS) regression to study selection signatures in Piedmontese and Italian Brown cattle breeds. *Anim Genet*, 2014 45: 1–11.
27. Purfield D.C. et al. Runs of homozygosity and population history in cattle. *BMC Genet*, 2012, 13: 70.
28. Qanbari S. et al. Application of site and haplotype-frequency based approaches for detecting selection signatures in cattle. *BMC Genomics*, 2011, 12: 318.
29. Qanbari S. et al. Classic selective sweeps revealed by massive sequencing in cattle. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004148.
30. Romanov M.N. Study of genetic polymorphism of ovoproteins in some egg type and meat-egg type lines of chickens. IV Naukowe międzynarodowe młodzieżowe sympozjum drobiarskie, 1988.
31. Romanov M.N. The study of genetic structure of autosexing cross of chickens. 5th Symposium of Young Poultry Scientists, 1989, p. 7.
32. Romanov M.N. Searching for non-allelic relationships between feathering and egg white loci in laying hens. Proc. 11th International Symposium on Current Problems in Avian Genetics, 1995, pp. 160–163.
33. Romanov M.N. British Sheep Breed Diversity. *Encyclopedia (online)*, 2021, 9414.
34. Romanov M.N., Bondarenko Yu.V. Genetic structure of plumage color in some populations of geese. 9th International Symposium on Current Problems of Avian Genetics, 1991, p. 198.

35. Romanov M.N., Weigend S. Genetic diversity in chick-en populations based on microsatellite markers. From Jay Lush to Genomics: Visions for Animal Breeding and Genetics, 1999, p. 174.
36. Romanov M.N. et al. Estimation of population structure and differentiation in black-headed gull by using genetic/ological parameters. 1. Analysis within an East-Ukrainian population. *J Ornithol*, 1994, 135 (1, Sonderheft): 261
37. Romanov M.N. et al. Detection and assay of polymorphism in reproductive gene loci in a commercial broiler breeder population for use in association studies. From Jay Lush to Genomics: Visions for Animal Breeding and Genetics, 1999a, p. 155.
38. Romanov M.N. et al. Studies on poultry germplasm diversity and conservation in Ukraine. *Poultry Genetics Symposium*, 1999b, p. 140.
39. Romanov M.N. et al. Applying SNP array technology to assess genetic diversity in Russian gene pool of chickens. *International Plant and Animal Genome XXV Conference*, 2017, P0115.
40. Romanov M.N., Zinovieva N.A., Griffin D.K. British sheep breeds as a part of world sheep gene pool landscape: looking into genomic applications. *Animals*, 2021, 11: 994.
41. Rothammer S. et al. A genome-wide scan for signatures of differential artificial selection in ten cattle breeds. *BMC Genomics*, 2013, 14: 908.
42. Schwarzenbacher H. et al. Combining evidence of selection with association analysis increases power to detect regions influencing complex traits in dairy cattle. *BMC Genomics*, 2012, 13: 48.
43. Tuttle E., Korody M., Lear T., Gonser R., Houck M., Ryder O., Romanov M. et al. Whole genome sequence of the behaviorally polymorphic white-throated sparrow. 1: Mapping genes for socio-genomics. *Evolution 2014 Conference*, 2014, p. 183.
44. Weigend S., Romanov M.N. Molekulare Charakterisierung genetischer Vielfalt beim Geflügel. *Jahresbericht 1998, FAL*, 1999, p. 66.
45. Weigend S., Romanov M.N. et al. Overview on the use of molecular markers to characterize genetic diversity in chickens. *XXII World's Poultry Congress & Exhibition: Participant List & Full Text CD + Book of Abstracts*, 2004, p. 192.
46. Zhang H., Hunt H.D., Cheng H.H., Dodgson J.B., Romanov M.N., et al. Identification and evaluation of SNPs at the 3' end of the tva gene segregating among ALSV resistance and susceptible lines of chickens. *International Plant and Animal Genome XIII Conference*, 2005, p. 123.

Molecular genetic polymorphism in animal populations and its application in intensive breeding of dairy cattle – a review

Plemyashov K.V.,¹ Smaragdov M.G.,² Romanov M.N.^{3,4}

¹FSBEI HE “St. Petersburg State University of Veterinary Medicine”

²Russian Research Institute of Farm Animal Genetics and Breeding (RRIFAGB)–Branch of the L.K. Ernst Federal Science Centre for Animal Husbandry, Pushkin, St. Petersburg, Russia;

³K. I. Skryabin Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology, Moscow, Russia;

⁴University of Kent, Canterbury, UK

Abstract

One of the challenges the agriculture faces in the 21st century is an effective control of the genetic background of dairy cattle breeds and subpopulations with the use of high-throughput methods of molecular biology to improve breeding strategies. In the industrial livestock production, there is a need to manage the genetic variability of populations and breeds of dairy cattle using modern molecular technologies. In this review, information has been presented to show that the use of SNP chip technology is widely used in the study of the fundamentals of population genetics in cattle. In searching for the next generation molecular markers, SNPs are markers of choice for using in highly efficient genotyping and subsequent genomic selection for efficient animal breeding.

Key words: molecular genetic polymorphism, dairy cattle, SNP chip technology, breeding for milk production