

УДК 636.2:575.174.015.3

ПОЛИМОРФИЗМ МОБИЛЬНЫХ ГЕНЕТИЧЕСКИХ ЭЛЕМЕНТОВ В ГЕНОМАХ ДОМАШНЕЙ ЛОШАДИ

Т.А. ЭРКЕНОВ, М.А. ЕЛЬКИНА, Ю.А. ЮЛДАШБАЕВ, В.И. ГЛАЗКО

(РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева)

Выполнен сравнительный анализ генетических структур отечественных пород лошадей (карачаевская, алтайская) и спортивных рысаков с использованием ISSR-PCR и IRAP-PCR-маркеров. Получены данные, свидетельствующие о том, что подбор молекулярно-генетических маркеров для полилокусного генотипирования (геномного сканирования) лошадей может существенно отличаться в зависимости от цели исследования. В случае контроля происхождения и консолидированности пород и внутривидовых групп более эффективным представляется использование ISSR-PCR-маркеров, а для выявления ДНК маркеров, связанных с дифференциацией животных в различных эколого-географических условиях разведения, — IRAP-PCR-маркеров.

Ключевые слова: ISSR-PCR и IRAP-PCR-маркеры, полиморфизм, геномное сканирование, генофонд, генетическая дифференциация.

У коннозаводства России имеется ряд экономических и производственных проблем, а также проблема утраты генофондных ресурсов многих отечественных пород лошадей. Наиболее выраженным на сегодняшний день стало снижение уровня племенной работы конных заводов и племенных репродукторов. Для ее восстановления существенным вопросом является выявление особенностей генетической структуры пород и внутривидовых групп, а также определенного породного «генофондного стандарта», необходимого для управления генетическими ресурсами породы. В этом отношении особый интерес представляют отечественные породы лошадей, к которым относятся, в частности, карачаевская и алтайская породы, поскольку в связи со своими адаптивными и рабочими характеристиками они требуют разработки генетически обоснованных программ по их консолидации, совершенствованию и сохранению. Карачаевская порода лошадей известна своей устойчивостью к высокогорной гипоксии и в ряде исследований является моделью для изучения адаптации к гипоксическим условиям крупных млекопитающих включая человека.

Воспроизводство крупных травоядных на большой высоте над уровнем моря приводит к существенным физиологическим и метаболическим изменениям, связанным с интенсивным селекционным давлением окислительного стресса, UV-радиации и других факторов, зависящих от специфических видовых характеристик. Исследования генетической структуры горных пород лошадей могут не только способствовать консолидации генофондов пород, но и рассматриваться как модели для поисков генетических основ адаптации к высокогорным условиям разных видов, в том чис-

ле и человека. Так, известно, что человек, продвигаясь с Африканского континента, успешно колонизировал и адаптировался к широкому спектру различных ниш, в том числе и к проживанию на высоте более 3500 м над уровнем моря, в условиях выраженной гипоксии [12]. Выполнен сравнительный анализ [7] популяции людей, проживающих на такой высоте в провинции Colla Аргентинских Андах и равнинной группы провинции Wich. Генотипировано по 730, 525 SNPs в каждой популяции 25 чел. В результате выполненного геномного сканирования по исследованию распространения гомозиготности по различным гаплотипам в популяции Collas обнаружена их преимущественная локализация вокруг гена VEGFB, играющего существенную роль в ишемии сердца, и гена ELTD1 — критического для развития сердечной мышцы и препятствующего ее гипертрофии. Более того, анализ метаболических путей показал, что в этой группе среди генов, отличающих горную группу от равнинной, преобладают гены, ассоциированные с формированием морфологии сердца. В процессы адаптации также вовлекаются системы, контролирующие васкуляризацию коры головного мозга. Полученные данные позволяют предполагать, что одним из механизмов адаптации к гипоксии является усиление работы сердечной мышцы без ее гипертрофии.

Недавние исследования популяций людей Тибета [9] выявили роль генов EPAS1 и EGLN1 в адаптации к высокогорной гипоксии. Обнаруженные варианты по этим генам, типичные только для популяций Тибета, оказались ассоциированы с уменьшенной концентрацией гемоглобина. Интересно, что такое же давление отбора на ген EGLN1 наблюдалось у популяций людей в Андах и Дагестане, хотя связь с концентрацией гемоглобина не была достаточно четко определена. В популяциях Кечуа (Quechua) и Аймара (Aymara) выявлены и другие гены, ассоциированные с адаптацией к гипоксии высокогорья: такие, как SENP1 и ANP32D. Их транскрипция резко увеличена у индивидуумов с хронической горной болезнью (Chronic Mountain Sickness — CMS) по сравнению со здоровыми представителями Анд, что, по мнению авторов этой работы, вносит свой вклад в увеличенный гематокрит, типичный для такой дезадаптации.

Сравнительный анализ молекулярно-генетических механизмов адаптации к горным условиям воспроизводства крупных наземных млекопитающих позволил обнаружить определенное сходство между биохимическими системами, вовлекаемыми в этот процесс, у разных видов, в частности, человека и горных пород лошадей по гену EPAS1. В работе С.Л. Хендриксона [8] для выявления генов, вовлеченных в процессы адаптации к высокогорной гипоксии, выполнено сравнение результатов геномного сканирования между популяцией одичавших лошадей Андов, потомков завезенных из Испании в Анды в 1500 гг., и пород их испанских родственников. В результате анализа 50-тысячных ДНК микроматриц с мононуклеотидными полиморфизмами (Single Nucleotide Polymorphism — SNPs) в геномах домашней лошади выявлен 131 ген — кандидатов на участие в адаптации к высокогорным условиям. Наиболее выраженное отличие наблюдалось по гену the EPAS1 в метаболическом пути, индуцируемом гипоксией (hypoxia-induction-pathway — HIF), что обнаруживалось и ранее у популяций людей, адаптированных на протяжении многих поколений к проживанию в условиях высокогорья. Это подтверждает успешность выбранного подхода и свидетельствует об особой важности гена EPAS1 в адаптации к гипоксии. Отличия обнаружены также в семействе генов цитохрома P450 3A, которые могут объясняться влиянием таких факторов, как особенности эндемической растительности в условиях высокогорья, используемых лошадьми в качестве корма. Отличия

по гену тенуерину (tenuerin 2 — TENM2) с рядом других генов, продукты которых существенны для функции нервной системы, свидетельствуют о том, что нервная деятельность также важна для адаптации к высокогорью. В общем, полученные данные свидетельствуют о том, что для крупных млекопитающих при их адаптации к высокогорью универсальную для разных видов и определяющую роль играет метаболический путь HIF, однако в этот процесс могут вовлекаться и другие метаболические пути в связи с особенностью эволюции вида и уникальной экологией высокогорья.

Таким образом, накопленные данные свидетельствуют о том, что генофонды отечественных горных пород лошадей могут представлять специальный интерес для выяснения генетических особенностей, связанных с адаптацией разных видов крупных млекопитающих к условиям высокогорной гипоксии. В этих целях необходим поиск и подбор генетических элементов, генотипирование которых позволяло бы выявлять и контролировать генофондные особенности пород и внутripородных групп. Особое значение имеет подбор таких молекулярно-генетических маркеров, полиморфизм которых был бы достаточно высок, оценки его были бы воспроизводимы и малозатратны, результаты легко поддавались математической обработке имеющимися математическими программами анализа и сравнения генетических структур разных групп организмов и, соответственно, интерпретации.

Чтобы подобрать наиболее удобные варианты полилокусного генотипирования представителей алтайской и карачаевской пород, в настоящей работе выполнен сравнительный анализ полилокусных спектров таких маркеров, как ISSR (Inter-Simple Sequence Repeat) и IRAP (Inter-Retrotransposon Amplified Polymorphism) у групп лошадей карачаевской, алтайской пород, а также спортивных рысаков.

Материалы и методы

Исследования выполнены на 88 образцах крови лошадей различной породной принадлежности и происхождения. В анализ включены результаты исследований образцов крови лошадей карачаевской породы, вошедших в ГПК, алтайской породы из трех хозяйств («Джумбаев», «Энчи», «Чингиз»), группы рысистых пород (орловские рысаки; русские рысаки; американские стандартbredные).

Геномную ДНК выделяли с помощью коммерческого набора реагентов «ДНК-Экстран-1». В качестве праймеров были использованы ди- и тринуклеотидные коровые мотивы микросателлитов с якорными нуклеотидами (AG)₉C, (GA)₉C (ISSR-маркеры); терминальные участки длинных концевых повторов (Long Terminal Repeats, LTR); эндогенных ретровирусов (Endogenous Retroviruses, ERV) растений; терминальный участок ретротранспозона SIRE-1, составляющего пятую часть генома кукурузы (GCAGTTATGCAAGTGGGATGAGCA), относящегося к роду Sireviruses, представителю семейства Pseudoviridae, члены которого предположительно могут содержать env-подобный ген [6], участок ретротранспозона PawS 5 (AACGAGGGGTTTCGAGGCC), относящегося к семейству R173 (в геноме диплоидной ржи он часто ассоциирован с другими ретротранспозонами) [11], а также участки эндогенных ретровирусов млекопитающих — праймер β-3 (GGACCTTCTC-CTTCAAGGC), последовательность его гомологична терминальному участку эндогенного ретровируса крупного рогатого скота (Bovine endogenous retrovirus β-3, BERV β-3); праймер k-1 (TATCAGGCCTCTCCGCATG) гомологичен терминальному участку Bovine endogenous retrovirus K1, BERV K 1). BERV β-3 и BERV K 1 относят-

ся к роду Betaretrovirus и кодируют 4 основных протеина: GAG, PRO, POL и ENV [5, 13].

В связи с тем, что фрагменты, гомологичные терминальным сайтам концевых повторов этих мобильных элементов (BERV β -3 и BERV K 1), были выявлены нами в предварительных исследованиях (с использованием программы BLASTn) и в геноме лошади, мы их использовали в качестве праймеров для получения спектров IRAP-маркеров для изучения генетических особенностей пород *Equus caballus*.

Полимеразную цепную реакцию выполняли (ПЦР или PCR) по методам ISSR-PCR (Inter-Simple Sequence Repeat) и IRAP-PCR (Inter-Retrotransposon Amplified Polimorphism), с помощью которых амплифицируются участки ДНК, находящиеся в геноме между инвертированными повторами используемого праймера [2]. Разделение продуктов амплификации проводили в 1,5%-ном агарозном геле. Визуализацию продуктов амплификации выполняли после окрашивания гелей бромистым этидием.

Математическую обработку осуществляли с использованием компьютерной программы TFGPA. Расчет индекса PIC (Polymorphic Information Content) выполнялся по формуле для диаллельных локусов, для которых $PIC = 2f(1 - f)$, где f — частота одного из двух аллелей. Поскольку ISSR-PCR и IRAP-PCR-маркеры имеют доминантный характер проявления по присутствию продукта амплификации, f рассчитывали по формуле: $f = \sqrt{R}$, где R — частота встречаемости животных среди исследованных, у которых в спектрах продуктов амплификации отсутствовал фрагмент ДНК данной длины. Значение R рассматривалось как доля гомозигот по рецессивному аллелю.

Результаты исследований

В результате выполненных исследований получены следующие данные.

По характеристикам генетического разнообразия (PIC и P-спектры всех типов маркеров, IRAP и ISSR) представители алтайской породы лошадей, разводимые в трех разных хозяйствах, значительно отличаются друг от друга (табл. 1). Наиболее гетерогенной группой по спектрам праймеров LTR SIRE-1 и PawS 5 оказались алтайские лошади хозяйства «Джумбаев», наименее — лошади из хозяйства «Энчи». По значениям PIC и P спектры ампликонов праймера LTR SIRE-1 у группы лошадей алтайской породы хозяйства «Чингиз» близки к таковым у карачаевских лошадей, а в случае спектров продуктов амплификации праймера PawS 5 — и к спортивным рысакам. Последние отличаются относительно повышенной консолидированностью по сравнению с исследованными породами местных лошадей (табл. 1).

На общем фоне низких значений PIC и P, полученных в спектре праймера k-1 у всех исследованных групп лошадей, несколько более высокими оказываются показатели этих характеристик у рысистых лошадей. В спектрах праймера β -3 как минимум треть всех локусов была полиморфна у исследованных пород. Внутрипородные отличия групп алтайских лошадей по спектрам праймера β -3 выражены менее явно, за исключением несколько более консолидированных лошадей из хозяйства «Чингиз», чьи характеристики спектров близки к карачаевским лошадям. Промежуточное положение занимают рысистые лошади.

Наиболее гетерогенной группой в сравнении с другими породами по спектрам праймера (AG)₉C оказалась группа рысистых лошадей, наименее — местные карачаевские лошади. Не обнаружено выраженных отличий по спектрам продуктов

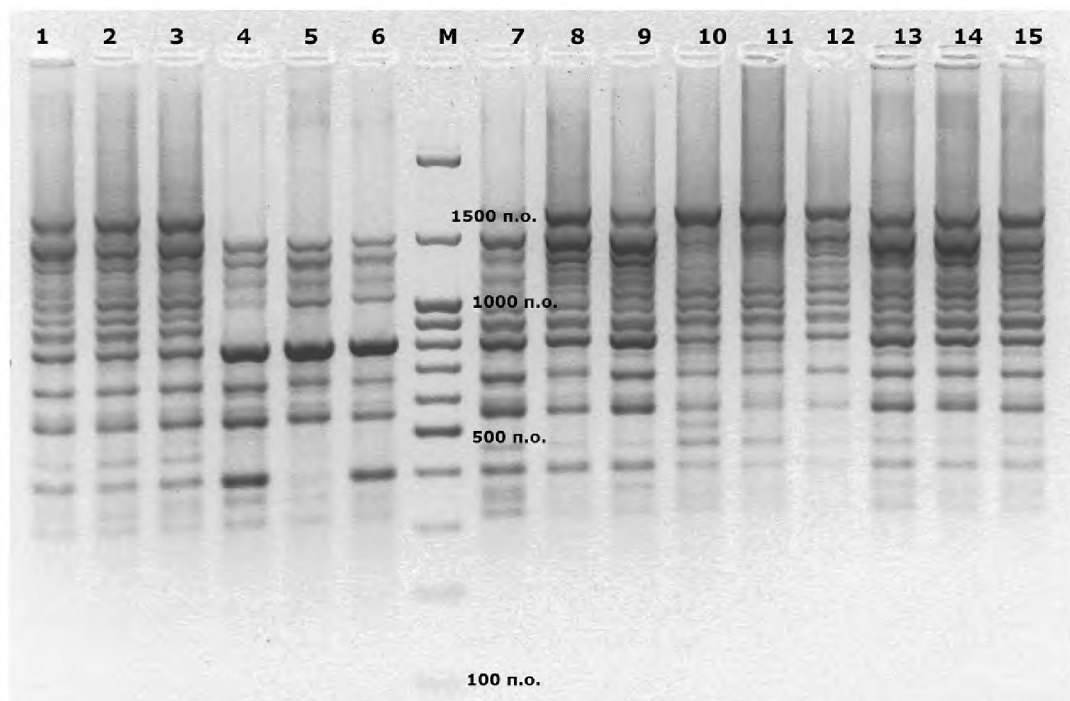


Рис. 1. Спектры фрагментов ДНК, полученных в результате генотипирования пород лошадей с использованием в ПЦР-праймера $(AG)_9C$ (М — маркер молекулярных масс, 1–3 — карачаевские лошади, 4–6 — рысистые лошади, 7–9 — алтайские лошади хозяйства «Чингиз», 10–12 — алтайские лошади хозяйства «Джумбаев», 13–15 — алтайские лошади хозяйства «Энчи»)

амплификации между группами лошадей алтайской породы разных хозяйств. Наиболее высокие значения PI_C и P , полученные в результате использования праймера $(AG)_9C$, наблюдались у двух групп алтайских лошадей и у рысаков. Характеристики спектров еще одной группы алтайских лошадей хозяйства «Энчи» оказались близки к карачаевским лошадям. Наблюдаемые высокие показатели значений характеристик полиморфизма спектров у группы рысистых лошадей по ISSR и частично по IRAP-маркерам, вероятно, объясняются ее неоднородностью, поскольку в нее входят представители рысистых лошадей орловской, американской и русской пород (табл. 1).

На дендрограмме, построенной на основании расчета генетических расстояний, рассчитанных по спектрам праймера $PawS\ 5$, формируются два кластера: один включает в себя подгруппу алтайских лошадей из двух разных хозяйств, а отдельную подгруппу образуют рысистые лошади. Карачаевские и алтайские лошади (хозяйство «Джумбаев») объединены в самостоятельную группу (рис. 2А).

В результате дифференциации этих же групп животных по значениям полиморфизма фрагментов ДНК, полученных в ПЦР с использованием в качестве праймера терминального фрагмента ретротранспозона LTR SIRE-1, самостоятельную группу образуют алтайские лошади хозяйства «Энчи», другую группу формируют два кластера, в котором представители алтайских лошадей хозяйства «Джумбаев» обособлены, а карачаевские, рысистые и алтайские лошади хозяйства «Чин-

Значения индекса полиморфного информационного содержания (PIC_{ср}, усредненное значение) и доли полиморфных локусов (P, %), полученные в результате генотипирования групп пород лошадей с использованием IRAP и ISSR-маркеров

Породы	LTR SIRE-1		PawS 5		BERV k-1		BERV β-3		(AG) ₉ C		(GA) ₉ C	
	PIC	P	PIC	P	PIC	P	PIC	P	PIC	P	PIC	P
Алтайские лошади («Джумбаев»)	0,192	67	0,169	40	0,029	14	0,203	64	0,064	13	0,026	15
Алтайские лошади («Чингиз»)	0,109	35	0,037	8	0,044	14	0,105	36	0,041	10	0,107	31
Алтайские лошади («Энчи»)	0,047	15	0	0	0,031	7	0,271	64	0,027	10	0,113	31
Карачаевские лошади	0,145	33	0,048	11	0,057	21	0,138	36	0,014	6	0,046	13
Рысистые лошади	0,027	6	0,035	10	0,087	29	0,154	45	0,160	40	0,093	30

гиз» объединяются в отдельный кластер. Наименьшее генетическое расстояние наблюдается между рысистыми и алтайскими (хозяйство «Джумбаев») лошадьми (DN=0,001), а карачаевские лошади равноудалены от обеих групп (DN — 0,020 и 0,022) (рис. 2Б).

При генотипировании групп лошадей с использованием IRAP-маркеров, представляющих собой терминальные участки эндогенных ретровирусов, выявленных у крупного рогатого скота (BERV β-3 и BERV k 1), дифференциация их выглядит следующим образом: алтайские лошади хозяйств «Энчи» и «Чингиз» объединены в один кластер, в другом выделяются две самостоятельные группы. Одну формируют американские и русские рысаки, другую — карачаевские, алтайские лошади (хозяйство «Джумбаев») и орловские рысаки (рис. 2В).

Наиболее близкая картина к известной истории происхождения пород лошадей, представители которых включены в выполненные исследования, получается на дендрограмме, построенной на основании генетических расстояний, рассчитанных по спектрам ISSR-PCR-маркеров (рис. 2Г). На ней выделяются два крупных кластера. Один из них включает в себя только представителей рысистых пород. Внутри этого кластера американский и русский рысаки формируют отдельную группу, что соответствует факту регулярного улучшения русских рысаков американскими. Другой кластер образуют две группы: одна объединяет представителей алтайской породы из двух разных хозяйств, другая — карачаевских лошадей и третью группу алтайских лошадей.

Генетические дистанции как при межпородных (межгрупповых), так и при внутригрупповых сравнениях алтайских лошадей по IRAP-маркерам, имеющих гомологию к участкам LTR млекопитающих, близки по значениям к таковым у карачаевских лошадей и в два раза ниже значений, полученных при анализе алтайских лошадей по спектрам LTR растений. Наибольшую разницу между средними

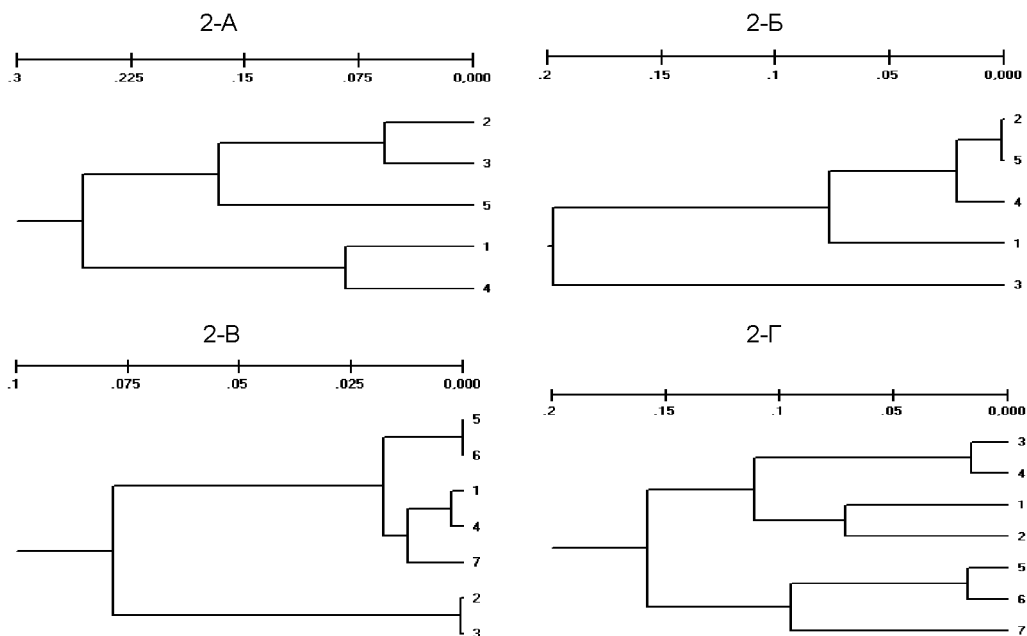


Рис. 2. Дендрограммы, построенные на основании значений генетических расстояний (DN), рассчитанных по спектрам продуктов амплификации фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами длинных концевых повторов эндогенных ретровирусов, выявленных у растений (PawS 5, LTR SIRE-1) и у млекопитающих (BERV β -3 и BERV k 1), а также микросателлитных локусов (ISSR-маркеры). Цифрами обозначены группы исследованных лошадей: 1 — алтайские лошади, хозяйство «Джумбаев»; 2 — алтайские лошади, хозяйство «Чингиз»; 3 — алтайские лошади, хозяйство «Энчи»; 4 — карачаевские лошади; 5 — американские рысаки; 6 — русские рысаки; 7 — орловские рысаки. А — дендрограмма, построенная на основании значений генетических дистанций, рассчитанных по спектрам продуктов амплификации праймера PawS 5; Б — дендрограмма, построенная на основании значений генетических дистанций, рассчитанных по спектрам продуктов амплификации праймера LTR SIRE-1; В — дендрограмма, построенная на основании значений генетических дистанций, рассчитанных по спектрам продуктов амплификации праймеров β -3 и k-1; Г — дендрограмма, построенная на основании значений генетических дистанций, рассчитанных по спектрам ISSR-маркеров

значениями внутривидовых (внутригрупповых) генетических расстояний между особями и межвидовых дистанций выявляют ISSR-маркеры у обеих исследованных пород (рис. 2Г). При этом значение D_{cp} (среднее генетическое расстояние между исследуемыми группами) по ISSR-маркерам при сопоставлении карачаевской породы с другими оказалось наибольшим по сравнению с IRAP-маркерами, а значение D_{cp} при внутригрупповых сравнениях алтайских лошадей — наименьшим (табл. 2), т.е. карачаевские лошади отличались от других пород по спектрам ISSR-PCR-маркеров в большей степени, чем эти же лошади по спектрам IRAP-PCR-маркеров. Причем по последним внутри породы индивидуальная изменчивость по IRAP-PCR-маркерам у карачаевских лошадей была заметно меньше, чем между разными группами лоша-

дей и по ISSR-PCR-маркерам, в отличие от алтайской группы лошадей по спектрам ампликонов, полученных с праймерам к LTR эндогенных ретровирусов, выявленных у растений LTR SIRE-1 и PawS5 (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о том, что по этим IRAP-PCR-маркерам карачаевские лошади относительно более консолидированы, чем представители алтайских лошадей.

Т а б л и ц а 2

Средние значения генетических дистанций, рассчитанных путем попарных сравнений внутри группы алтайских лошадей (хозяйство «Джумбаев») с другими группами и породами, и карачаевских лошадей внутри породы с другими породами лошадей

Породы	LTR SIRE-1		PawS5		BERV		ISSR	
	внутри породы	с другими породами	внутри породы	с другими породами	внутри породы	с другими породами	внутри породы	с другими породами
Карачаевская	0,042	0,079	0,050	0,081	0,057	0,068	0,073	0,130
Алтайская	0,154	0,142	0,149	0,136	0,075	0,072	0,057	0,129

Маркеры на основе спектров ампликонов, полученных с использованием фрагментов LTR эндогенных ретровирусов млекопитающих в качестве праймеров, не выявляют генетической дифференциации между исследованными породами и внутрипородными группами. Можно предположить, что отличия в генетической гетерогенности между алтайской и карачаевской породами лошадей, обнаруженные при использовании в качестве праймеров фрагментов LTR эндогенных ретровирусов однодольных (PawS5) и двудольных (LTR SIRE-1), связаны с особенностями разнородности кормовых ресурсов, специфичных для эколого-географических условий разведения этих местных пород лошадей.

Алтайская лошадь имеет общее происхождение с лошадьми монгольской породы. В археологических раскопках Пазырикских курганов, датированных IV–III в. до н. э., были найдены в слое вечной мерзлоты хорошо сохранившиеся останки лошадей южноазиатского происхождения. Возможно, они оказали определяющее влияние на местную алтайскую лошадь. Формирование алтайской породы лошадей проходило в условиях резкоконтинентального климата на территории горных и предгорных районов Алтайского края (центр евразийского материка) [1]. Принято считать, что родина карачаевской породы — верхнее течение реки Кубани и плоскогорья водораздела Черного и Каспийского морей. Прямые свидетельства о прилитии карачаевским лошадям крови других пород отсутствуют, но в их облике просматриваются «следы» степных коней (скорее всего, ногайских) и влияние пород Востока. Считается, что порода сформировалась к XV–XVI вв. [3]. Обе породы приспособлены к горному климату и хорошо адаптированы к круглогодичному пастбищному содержанию. Для алтайской породы типична леопардовая масть, для карачаевской — гнедая и вороная. По данным литературы известно, что у домашней лошади древней мастью является гнедая по сравнению с вороной [4], однако обнаружено, что у древних лошадей с относительно низкой частотой встречалась и леопардовая масть [10].

Чтобы оценить причины относительно повышенной близости карачаевских лошадей к алтайским по некоторым молекулярно-генетическим маркерам возможно-стью наличия у них общего древнего, предкового генофонда, в наших исследованиях

карачаевские лошади были подразделены на две группы: гнедую и вороную масти, рассчитаны генетические расстояния между ними и другими группами лошадей на основании сравнения присутствия-отсутствия фрагментов ДНК, фланкированных инвертированным повтором микросателлита $(GA)_nC$ — ISSR-PCR-маркеры. В результате получены данные, представленные в таблице 3.

Т а б л и ц а 3

Величины генетических дистанций (DN) между группами карачаевских и алтайских лошадей, рассчитанные по методу М. Нея (1972 г.), на основании спектров продуктов амплификации фрагментов ДНК, фланкированных инвертированным повтором микросателлита $(GA)_nC$ — ISSR-PCR-маркеры

Группы лошадей	Воронья масть карачаевских лошадей	Алтайские лошади, хозяйство «Чингиз»	Алтайские лошади, хозяйство «Энчи»
Гнедая масть карачаевских лошадей	0,026	0,086	0,069
Воронья масть карачаевских лошадей	—	0,156	0,149
Алтайские лошади, хозяйство «Чингиз»		—	0,028

На основании значений генетических дистанций, полученных при применении в качестве праймера участка микросателлита $(GA)_nC$, можно увидеть, что, действительно, генетические расстояния между карачаевскими лошадьми гнедой масти и группами алтайской лошади из разных хозяйств почти в два раза меньше, чем между карачаевскими лошадьми вороной масти и алтайскими лошадьми. Полученные данные свидетельствуют в пользу предположения о том, что обе эти две отечественные породы несут элементы древнего, предкового генофонда, отличающего их от спортивных рысистых пород (рис. 2Г). Интересно отметить, что по генетическим расстояниям дифференциация между алтайскими лошадьми, принадлежащими разным хозяйствам, почти полностью совпадает с дифференциацией карачаевских лошадей, отличающихся по мастям (табл. 3).

Полученные данные свидетельствуют о том, что полилокусное генотипирование, выполненное с использованием разных типов праймеров в полимеразной цепной реакции, позволяет выявлять спектры продуктов амплификации ДНК, специфичные для каждого праймера, причем спектр каждого праймера имеет свои, породоспецифичные особенности. Так, по IRAP-PCR-маркерам спектры, полученные с использованием в качестве праймера LTR эндогенного ретровируса, выявленного у двудольных (LTR SIRE-1), были наименее полиморфны у рысаков, а спектры праймера однодольных растений (PawS5) — у алтайских лошадей хозяйства «Энчи». Полиморфизм спектров праймеров LTR эндогенных ретровирусов млекопитающих оказался сходным у разных групп лошадей, однако полиморфизм фрагментов ДНК, фланкированных инвертированным участком LTR BERV k 1, у всех исследованных групп лошадей был в два раза ниже, чем фрагментов ДНК, фланкированных инвертированным повтором LTR BERV β -3 (табл. 1).

Полиморфизм спектров ISSR-PCR маркеров также существенно отличался в зависимости от используемого в качестве праймера микросателлита. Так, наименьший полиморфизм спектров праймера $(GA)_nC$ выявлен у представителей карачаев-

ской лошади и группы алтайских лошадей хозяйства «Джумбаев», а в спектрах праймера (AG)₉C — у карачаевской лошади и у алтайских лошадей хозяйства «Энчи». Наибольший полиморфизм наблюдался в спектрах праймера (AG)₉C у рысаков.

Как видим, наиболее существенные отличия между группами исследованных лошадей выявлены среди IRAP-PCR-маркеров по спектрам продуктов амплификации, полученных с праймерами к участкам эндогенных ретровирусов, впервые описанных у растений (LTR SIRE-1, PawS5). Среди ISSR-PCR-маркеров наименьший полиморфизм был характерен для карачаевских лошадей по спектрам как праймера (AG)₉C, так и праймера (GA)₉C (в спектрах праймера (GA)₉C — за исключением алтайской лошади хозяйства «Джумбаев»). Полученные данные позволяют предполагать, что, по-видимому, ISSR-PCR-маркеры в большей степени отражают популяционно-генетическую консолидированность пород по сравнению с IRAP-PCR-маркерами, особенно при наличии гомологии в геномах млекопитающих участков эндогенных ретровирусов, присутствующих и в геномах растений. В пользу этого предположения свидетельствует и тот факт, что по спектрам праймера (GA)₉C группы карачаевской лошади гнедой и вороной мастей, несмотря на их относительно сравнительно низкий полиморфизм, дифференцируются примерно на такое же генетическое расстояние, как алтайские лошади хозяйств «Чингиз» и «Энчи». Генетические расстояния алтайских лошадей этих хозяйств по отношению к группе карачаевских лошадей гнедой масти существенно меньше, чем по отношению к группе карачаевских лошадей вороной масти (табл. 3), что может отражать присутствие в их генофондах относительно более древних элементов по сравнению с генофондами вороных карачаевских лошадей и представителей рысистых пород.

На основании полученных данных можно сделать следующее заключение.

В пределах каждой группы молекулярно-генетических маркеров присутствуют варианты, по-разному дифференцирующие породы и внутripородные группы. Так, среди IRAP-PCR-маркеров наибольшая межгрупповая изменчивость у исследованных групп лошадей обнаруживается по спектрам фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами участков эндогенных ретровирусов, впервые описанных у однодольных и двудольных растений. Спектры праймера эндогенного ретровируса млекопитающих LTR BERV β-3 отличаются у исследованных групп лошадей относительно большим полиморфизмом по сравнению со спектрами праймера LTR BERV k 1. Среди ISSR-PCR маркеров спектры праймера (GA)₉C, по-видимому, в большей степени отражают близость происхождения животных по сравнению со спектрами маркеров IRAP-PCR. В этой связи подбор молекулярно-генетических маркеров для полилокусного генотипирования (геномного сканирования) лошадей может существенно отличаться в зависимости от цели исследования. В случае выяснения генофондной консолидированности для контроля и совершенствования местных пород лошадей, в частности, алтайской и карачаевской, наиболее перспективным представляется использование ISSR-PCR-маркеров, а для выявления ДНК-маркеров адаптивного потенциала к разным эколого-географическим условиям разведения — IRAP-PCR-маркеров с применением праймеров, гомологичным к участкам эндогенных ретровирусов растений.

Библиографический список

1. Генетические ресурсы сельскохозяйственных животных в России и сопредельных странах / Сост. Л.К. Эрнст, Н.Г. Дмитриев, И.А. Паронян. СПб.: ВНИИГРЖ, 1994. 472 с.

2. Глазко В.И., Гладырь Е.А., Феофилов А.В., Бардуков Н.В., Глазко Т.Т. ISSR-PCR маркеры и мобильные генетические элементы в геномах сельскохозяйственных видов млекопитающих // *Сельскохозяйственная биология*. 2013. № 2. С. 71–76.
3. Парфенов В., Политова М. Легенда Карачая // *Конный мир*. № 1. 2005.
4. Arne Ludwig, Melanie Pruvost, Monika Reissmann, Norbert Benecke, Gudrun A. Brockmann, Pedro Castaños, Michael Cieslak, Sebastian Lippold, Laura Llorente, Anna-Sapfo Malaspinas, Montgomery Slatkin, Michael Hofreiter Coat. Color Variation at the Beginning of Horse Domestication // *Science*, 2009. V. 324.
5. Baba K., Nakaya Y., Shojima T., Muroi Y., Kizaki K., Hashizume K., Imakawa K. and Miyazawa T. Identification of Novel Endogenous Betaretroviruses Which Are Transcribed in the Bovine Placenta // *J. Virology*. 2011. V. 85. № 3. P. 1237–1245.
6. Bousios A. and Darzentas N. Sirevirus LTR retrotransposons: phylogenetic misconceptions in the plant world // *Mobile DNA*. 2013. 4(1): 9. doi: 10.1186/1759-8753-4-9.
7. Eichstaedt C.A., Antao T., Pagani L., Cardona A., Kivisild T., Mormina M. (2014) The Andean Adaptive Toolkit to Counteract High Altitude Maladaptation: Genome-Wide and Phenotypic Analysis of the Collas. *PLoS ONE* 9(3): e93314. doi:10.1371/journal.pone.0093314.
8. Hendrickson S.L. A genome wide study of genetic adaptation to high altitude in feral Andean horses of the paramo // *BMC Evol Biol*. 2013. V. 13:273. doi: 10.1186/1471-2148-13-273.
9. Pagani L., Ayub Q., Macarthur D.G., Xue Y., Baillie J.K. et al. (2012) High altitude adaptation in Daghestani populations from the Caucasus. *Hum Genet* 131: 423–433.
10. Pruvost M., Bellone R., Benecke N., Sandoval-Castellanos E., Cieslak M., Kuznetsova T., Morales-Muniz A., O'Connor T., Reissmann M., Hofreiter M., Ludwig A. Genotypes of predomestic horses match phenotypes painted in Paleolithic works of cave art // *PNAS*. 2011. V. 108. № 46. P. 18626–18630 (www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1108982108).
11. Rogowsky P.M., Liu J.Y., Manning S., Taylor C., Langridge P. Structural heterogeneity in the R173 family of rye-specific repetitive DNA sequences *Plant Mol Biol*. 1992 V. 20. № 1. P. 95–102.
12. Warmuth V., Eriksson A., Bower M.A., Canon J., Cothran G., Distl O., Glowatzki-Mullis M.L., Hunt H., Luis C., Maria do Mar Oom M., Ypanqui I.T., Zqbek T., Manica A. European domestic horses originated in two Holocene refugia // *PLoS one*. 2011. 6(3):e18194. doi: 10.1371/journal.pone.0018194.
13. Xiao R., Kim J., Choi H., Park K., Lee H., Park C. Characterization of the Bovine Endogenous Retrovirus β 3 Genome // *Mol. Cells*. 2008. V. 25. № 1. P. 142–147.

POLYMORPHISMS OF MOBILE GENETIC ELEMENTS IN GENOMES OF DOMESTIC HORSES

T.A. ERKENOV, M.A. ELKINA, YU.A. YULDASHBAEV, V.I. GLAZKO

(Russian Timiryazev State Agrarian University)

A comparative analysis of genetic structures of native horse breeds (Altai, Karachay) and trotting horses with the using of ISSR-PCR and IRAP-PCR markers was carried out. The data obtained showed that the preferable genetic markers to polylocus genotyping (genomic scan) could be differentiated in relation with the aim of investigation. In the case of control of origin and population-genetic consolidation of horse breed and intrabreed groups it was more effective to use the ISSR-PCR markers, but with the aim to find out the DNA markers of the horse differentiation in different environment, IRAP-PCR markers were more preferable.

Key words: ISSR-PCR and IRAP-PCR markers, polymorphisms, genome scan, gene pools, genetic differentiation.

Эркенов Тимур Алипович — асп. Центра нанобиотехнологий межкафедрального учебно-научного центра биологии и животноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: erkenov_timur@yahoo.com).

Елькина Мария Александровна — инж. Центра нанобиотехнологий межкафедрального учебно-научного центра биологии и животноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: mariyaelkina@yahoo.com).

Юлдашбаев Юсупжан Артыкович — д. с.-х. н., проф., декан факультета зоотехнии и биологии (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: zoo@timacad.ru).

Глазко Валерий Иванович — д. с.-х. н., проф., акад. РАН (иностранный член), лауреат премии Правительства России, зав. Центра нанобиотехнологий межкафедрального учебно-научного центра биологии и животноводства РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева (127550, г. Москва, ул. Тимирязевская, 49; e-mail: vigvalery@gmail.com).

Erkenov Timur Alipovich — PhD-student of the Centre of Nanobiotechnologies of Interdepartmental Academic Centre of Biology and Animal Husbandry, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; e-mail: erkenov_timur@yahoo.com).

Elkina Mariya Aleksandrovna — engineer of the Centre of Nanobiotechnologies of Interdepartmental Academic Centre of Biology and Animal Husbandry, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; e-mail: mariyaelkina@yahoo.com).

Yuldashbaev Yusupzhan Artykovich — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, Dean of the Faculty of Animal Science and Biology, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; e-mail: zoo@timacad.ru).

Glazko Valeriy Ivanovich — Doctor of Agricultural Sciences, Professor, a member of the Russian Academy of Sciences (a foreign member), holder of the award of the government of Russia, Head of the Centre of Nanobiotechnologies of Interdepartmental Academic Centre of Biology and Animal Husbandry, Russian Timiryazev State Agrarian University (127550, Moscow, Timiryazevskaya str., 49; e-mail: vigvalery@gmail.com).