

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ДЛЯ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПОРОД СОБАК

Гладких Марианна Юрьевна, доцент кафедры разведения, генетики и биотехнологии животных, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Селионова Марина Ивановна, профессор, зав. кафедрой разведения, генетики и биотехнологии животных, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Зорин Дмитрий Николаевич, аспирант кафедры разведения, генетики и биотехнологии животных, ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева

Аннотация. Проведено генотипирование по 21 STR-локусу шести отечественных пород собак, применяемых ранее или в настоящее время для различных видов служб: среднеазиатская овчарка, кавказская овчарка, восточноевропейская овчарка, южнорусская овчарка, московская сторожевая, русский черный терьер. Показано, что аллельное разнообразие и число частных аллелей достаточно, чтобы разработать генетические профили пород и проводить идентификацию отдельных животных.

Исследование выполнено в рамках комплексного проекта «Научно-технологические фронтиры» программы стратегического академического лидерства «Приоритет-2030» по теме «Биотехнологические методы воспроизводства и геномные технологии в селекции сельскохозяйственных животных и сохранении генофонда малочисленных пород».

Ключевые слова: генетический профиль, частные аллели, STR-локусы, породы собак.

По данным Международной кинологовической федерации (МКФ: FCI – *Fédération Cynologique Internationale*, www.fci.be), крупнейшая международная кинологовическая организация, объединяющая национальные организации 97 стран, зарегистрировала и утвердила стандарты 356 пород собак, которые являются «признанными на постоянной основе». Однако, часть пород находится в статусе «признаны на предварительной основе», а часть признается только внутри той или иной национальной организации. Для того, чтобы такие породы были признаны МКФ сначала на предварительной основе, а затем – постоянно, правила МКФ предписывают выявление значимых генетических отличий между породой, которая заявляется для признания, и родственными ей породам. Для этого предлагается использование 21 микросателлитного локуса, согласно рекомендациям ISAG (International Society for Animal Genetics). Дополнительной научной задачей является определение генетических факторов признаков поведения, которые отличают разные породы собак.

Именно поэтому в последние годы проведено много исследований в области. Так в 2023 году группа ученых проанализировали последовательности

ДНК более чем 46 тысяч собак разных пород и родичей собак, исследовали генетические связи между этими группами и нашли новый способ группировки пород домашних собак, отличный от МКФ [1]. Другое крупное исследование было посвящено пониманию эволюции пород домашних собак и их филогенетического сходства [2]. Если в 2012 году ученые пытались дифференцировать породы собак на основании их морфологических характеристик [3], то уже к 2017 году был проведен полногеномный анализ и поиск ассоциаций SNP-локусов с разными признаками поведения, экстерьера, наследственных заболеваний и долголетия [4].

В Российской Федерации среди отечественных пород собак, которые были созданы методами народной или заводской селекции для несения той или иной службы, признание МКФ имеют среднеазиатская овчарка, кавказская овчарка и русский черный терьер, в то время как восточно-европейская овчарка и московская сторожевая пока этот статус не получили. Более того, до настоящего времени отсутствуют научные данные о генетической структуре поголовья этих пород, что позволяло бы осуществлять идентификацию отдельных животных и оценке вероятности их принадлежности к той или иной отечественной породе.

Поэтому **целью нашей работы** явилось генотипирование собак отечественных пород собак и оценка использования генетических профилей пород для идентификации породной принадлежности отдельных животных.

Материалы и методы. В исследовании были проанализированы следующие отечественные породы собак: кавказская овчарка (n=14), среднеазиатская овчарка (n=25), восточно-европейская овчарка (n=31), московская сторожевая (n=14), русский черный терьер (n=12), южнорусская овчарка (n=6). Животные каждой породы не являлись родственниками, происходили из разных питомников и регионов РФ, 2019-2022 г.р.

В качестве биоматериала использовали цельную кровь в пробирках с ЭДТА (не менее 1 мл). В соответствии со всеми стандартами образцы крови были взяты из передней подкожной вены предплечья передней лапы животного. ДНК выделялась с использованием набора ПЦР-совместимого реагента для проведения быстрого лизиса - COrDIS Sprint (ООО «ГОРДИЗ», Россия). Для постановки ПЦР использовали COrDIS Dog - набор реагентов для мультиплексного анализа 21-го микросателлитного маркера и локуса амелогенина собак. Полученную ДНК амплифицировали в амплификаторе SimpliAmp с комплектом праймеров «COrDIS Dog». Электрофорез продуктов амплификации осуществлялся на автоматическом генетическом анализаторе «Applied Biosystems 3500 Series Genetic Analyzers». Расшифровка и документирование полученных графических результатов осуществлялась с помощью программного обеспечения автоматической расшифровки результатов фрагментного анализа Data Collection Software и GeneMapper ID 3.2. Статистическая обработка проводилась с помощью пакета GenAlEx 6.51b2 [5] для Microsoft Excel.

Результаты исследований. Аллельное богатство по всем STR-локусам позволяет судить о возможности определить различия между разными породами собак (таблица 1).

Наибольшее число аллелей среди всех 21 STR-локуса наблюдалось в породе среднеазиатская овчарка, затем – у кавказской овчарки, восточно-европейской овчарки и московской сторожевой, а наименьшим аллельным полиморфизмом, более чем в 2 раза меньшим, чем у среднеазиатских овчарок, характеризовались породы русский черный терьер и южнорусская овчарка.

Таблица 1

Общая характеристика аллельного богатства исследуемых пород собак

Показатели	Породы					
	Среднеазиатская овчарка	Кавказская овчарка	Русский черный терьер	Южнорусская овчарка	Московская сторожевая	Восточно-европейская овчарка
Общее число аллелей (N_a)	170	123	85	78	100	105
Число аллелей с частотой $\geq 5\%$ $N_a \text{ Freq. } \geq 5\%$	115	94	73	78	81	78
Эффективное число аллелей (N_e)	17	4	1	0	2	3
Число аллелей с частотой $\leq 25\%$	0	0	0	0	0	0
Число аллелей с частотой $\leq 50\%$	44	27	16	18	26	24

Если для южнорусской овчарки такая ситуация, скорее всего, обусловлена небольшим числом животных в выборке, то причинами снижения разнообразия аллелей в целом по породе могут быть селекционные факторы: большая интенсивность использования отдельных производителей, ограниченная племенная группа животных с подтвержденными рабочими качествами и подобное.

Эффективное число аллелей (N_e), позволяет оценить минимальное число аллелей, одновременно присутствующих в породе, при условии, что генетический дрейф и мутагенез уравновешены, и обратную гетерозиготности. В нашем исследовании во всех породах эффективное число аллелей было ниже, чем абсолютное число аллелей на локус, что не противоречит данным, которые получены в других работах [6]. Наибольшее эффективное число аллелей (17) наблюдается у среднеазиатских овчарок, в то время как другие породы отличаются очень небольшим их значением (1-4), а южнорусские овчарки имеют значение N_e , равное нулю.

Наличие приватных аллелей позволяет более точно идентифицировать принадлежность конкретного животного к той или иной породе при наличии этого аллеля в его генотипе. Также наличие приватных аллелей и их количество позволяет косвенным образом судить о процессах, происходящих в той или иной породе: влияние отбора, изолированность породных групп и так далее.

Характеристика паттерна приватных аллелей исследуемых пород приведена в таблице 2.

Обращает внимание, что в породе южнорусская овчарка не выявлено приватных аллелей ни в одном из 21 микросателлитного локуса, а в породе русский черный терьер только один – 112 в локусе АНТ121.

Таблица 2

Характеристика приватных аллелей в исследуемых породах собак

Порода	Локус	Аллели	Частота	Всего приватных аллелей
Среднеазиатская овчарка	АНTh130	133	0,060	17
	АНTh260	234	0,020	
	АНTk211	97	0,040	
	CXX279	134	0,040	
	INU055	198	0,020	
	INU055	222	0,020	
	INU055	242	0,020	
	REN105L03	229	0,080	
	АНТ137	145	0,060	
	REN169D01	222	0,020	
	АНTk253	282	0,040	
	INU005	104	0,020	
	INU005	134	0,020	
	FH2848	248	0,020	
	АНTh171	237	0,020	
REN64E19	141	0,020		
REN64E19	151	0,060		
Кавказская овчарка	АНTh130	117	0,036	4
	REN54P11	230	0,036	
	АНTk253	294	0,036	
	АНТ121	80	0,071	
Русский черный терьер	АНТ121	112	0,375	1
Московская сторожевая	АНTh130	139	0,036	4
	INU30	156	0,036	
	REN54P11	224	0,250	
	АНTk253	296	0,250	
Восточноевропейская овчарка	АНTh130	111	0,016	3
	REN169O18	174	0,065	
	АНTk253	284	0,016	

В породе восточноевропейская овчарка выделено 3 приватных аллеля, у кавказских овчарок и московских сторожевых – по 4 приватных аллеля, причем каждый из них – в отдельном локусе. Наибольшим число приватных аллелей – 17, характеризуется порода среднеазиатская овчарка, причем в локусе INU055 –

3 аллеля, в локусах INU005 и REN64E19 по 2 аллеля, а в остальных – по 1 аллелю.

Выводы. Использование молекулярно-генетической экспертизы, как основы для определения породной принадлежности, а также достоверности происхождения, может стать в ближайшие годы обязательным требованием для племенного использования собак пород, зарегистрированных в МКФ. Тогда наличие генетических профилей пород и отработанного алгоритма для породной идентификации станет основой для сохранения внутripородного и межпородного генетического разнообразия отечественных пород собак.

Библиографический список

1. Dutrow EV, Serpell JA, Ostrander EA. Domestic dog lineages reveal genetic drivers of behavioral diversification. *Cell*. 2022 Dec 8;185(25):4737-4755.e18. doi: 10.1016/j.cell.2022.11.003. PMID: 36493753; PMCID: PMC10478034.

2. Parker HG, Dreger DL, Rimbault M, Davis BW, Mullen AB, Carpintero-Ramirez G, Ostrander EA. Genomic Analyses Reveal the Influence of Geographic Origin, Migration, and Hybridization on Modern Dog Breed Development. *Cell Rep*. 2017 Apr 25;19(4):697-708. doi: 10.1016/j.celrep.2017.03.079. PMID: 28445722; PMCID: PMC5492993.

3. Rimbault M, Ostrander EA. So many doggone traits: mapping genetics of multiple phenotypes in the domestic dog. *Hum Mol Genet*. 2012 Oct 15;21(R1):R52-7. doi: 10.1093/hmg/ddc323. Epub 2012 Aug 9. PMID: 22878052; PMCID: PMC3459646.

4. Ostrander EA, Wayne RK, Freedman AH, Davis BW. Demographic history, selection and functional diversity of the canine genome. *Nat Rev Genet*. 2017 Dec;18(12):705-720. doi: 10.1038/nrg.2017.67. Epub 2017 Sep 25. PMID: 28944780.

5. Smouse, P. E., Banks, S. C., and Peakall, R. (2017) Converting quadratic entropy to diversity: Both animals and alleles are diverse, but some are more diverse than others. *PLOS ONE* 12, e0185499.

6. Столповский Ю.А., Шимиит Л.В., Кол Н.В., Евсюков А.Н., Рузина М.Н., Чургуй-Оол О.И., Сулимова Г.Е. Анализ генетической изменчивости и филогенетических связей у популяций тувинской короткожирнохвостой овцы с использованием ISSR-маркеров // *Сельскохозяйственная биология*. 2009. № 6. С. 34-43.