

На правах рукописи



Блохина Нина Васильевна

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ДНК-МАРКЕРОВ ДЛЯ
ИДЕНТИФИКАЦИИ, СОХРАНЕНИЯ И РАЗВИТИЯ
ГЕНЕТИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ КОНЕВОДСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

06.02.07 - Разведение, селекция и генетика сельскохозяйственных
животных

**Автореферат диссертации на соискание ученой степени доктора
сельскохозяйственных наук**

Дивово –2022

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства» (ФГБНУ «ВНИИ коневодства»)

Научный консультант: доктор сельскохозяйственных наук,
профессор, академик РАН
Калашников Валерий Васильевич

Официальные оппоненты:

Калашникова Любовь Александровна, доктор биологических наук, профессор, зав. лабораторией ДНК-технологий, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт племенного дела», Московская область (06.02.01).

Попов Николай Александрович, доктор биологических наук, профессор, гл.н.с., руководитель лаборатории генетики сельскохозяйственных животных, ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста (06.02.07).

Щукина Ирина Владимировна, доктор сельскохозяйственных наук, доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» (06.02.07).

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный аграрный университет».

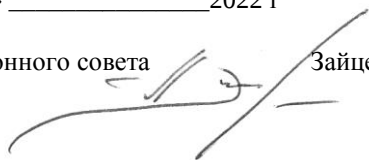
Защита состоится «31» мая 2022 года в 10.00 на заседании диссертационного совета Д 006.018.01 ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства» по адресу: 391105, Рязанская область, Рыбновский район, пос. Дивово, п/о Институт коневодства

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт коневодства», www.ruhorses.ru

Автореферат разослан « ____ » _____ 2022 г

Ученый секретарь диссертационного совета

Зайцев А.М.



ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время проблема сохранения и повышения эффективности использования сельскохозяйственных животных является актуальной задачей для всего человечества (Глазко В.И., 1997, 2012; Алтухов Ю.П., 2003; Захаров И.А., 2006; Эрнст Л.К., Зиновьева Н.А. 2008; Калашников В.В. и др. 2010; Зайцев А.М. и др., 2011, 2016; Марзанов Н.С. и др., 2011; Храброва Л.А., 2011, 2015).

Быстрое развитие молекулярно-генетических методов исследования привело к заметным успехам в изучении генетики животных и их генома. Благодаря этому, проводятся масштабные исследования по эволюции видов и микроэволюции пород, а также разрабатываются программы по изучению и сохранению генетических ресурсов в животноводстве (Глазко В.И. и др., 2001; Столповский Ю.А., Захаров И.А. 2007; Храброва Л.А., 2008; Зиновьева Н.А. и др., 2014; Паронян И.А. 2016; Веллер Дж.И., 2018; Абдельманова А.С. и др. 2020; Rajakaruna S.S., et al., 2016; Suliman K. , et al., 2016).

В Российской Федерации коневодство является одной из старейших, традиционных подотраслей животноводства с богатой историей полезной службы обществу. Сегодня, несмотря на радикальное сокращение численности лошадей и утрату их стратегического значения в сельском хозяйстве, армии и на транспорте, коневодство остается эффективной и многоцелевой структурной единицей животноводческой отрасли страны. При этом важно иметь в виду, что лошади культурных (заводских) пород отличаются самой высокой ценой на современном мировом рынке племенных ресурсов сельскохозяйственных животных. В связи с этим объективная и точная идентификация поголовья, и паспортизация пород лошадей является весьма актуальной задачей. Для успешного решения этой задачи применяются молекулярно-генетические методы, позволяющие углубленно исследовать идентичность и полиморфизмы генетических структур популяций в целях их сохранения и эффективного управления селекционным процессом во всех направлениях совершенствования пород лошадей.

Степень разработанности темы исследования. Научные разработки последних лет (Зиновьева Н.А. 2002, 2008; Калашников В.В. и др., 2010; Храброва Л.А. 2011, 2015; Костюнина О.В. и др., 2014; Калашникова Л.А. и др., 2015, 2016; Гончаренко, Г.М. и др., 2018; Долматова И.Ю. и др., 2018) показали высокую эффективность ДНК-маркеров при оценке генетического разнообразия популяций сельскохозяйственных животных. В настоящее время молекулярно-генетические исследования все больше завоевывают популярность в

работах, направленных на изучение геномов животных. В последние годы во всем мире проводится изучение разнообразия пород лошадей, в том числе оценка генетической изменчивости, популяционного разнообразия и степени межпородной и внутripородной дифференциации (Сулимова Г.Е. и др., 2006; Зайцева М.А. 2010; Калашников В.В. и др., 2017, Храброва Л.А. 2018, Luis C. et al., 2007; Thirstrup J.P. et al., 2008; Ling Y.H. et al., 2010.). В работах многих исследователей (Hill E.W. et al., 2002; Cothran E.G. et al., 2005; McGahern A. et al., 2006; Khanshour A.M. et al., 2013; Сорокин С.И. 2015; Храброва Л.А. и др., 2016, 2020) отмечается, что изучение последовательности гипервариабельного участка D-петли мтДНК дает возможность оценить внутripородное разнообразие лошадей по женским линиям и сравнить сходство маточных семейств по митохондриальному геному. Новые системы тестирования целого ряда маркерных генов, ассоциированных с высоким уровнем работоспособности лошадей, были разработаны в работах Айдарова В.А. и др., 2017; Зиновьевой С.А. и др. 2020; Храбровой Л.А. и др., 2020, Ellis N.A. et al., 2002; Hasegawa T. et al., 2002; Durkin K. et al., 2008 и Tozaki T. et al., 2010. В трудах (Fanelli H.H. et al., 2005, Zavrtanik J. et al., 2005, Abouel Ela N.A. et al., 2018, Aleman M. et al., 2018, Храбровой Л.А. 2014, Калашникова В.В. и др., 2013) описаны наследственные болезни лошадей, возникшие в результате мутации структурных и регуляторных генов.

Результаты, представленные в этой работе, получены при поддержке Российского научного фонда (проект №. 19-7620058) «Исследование популяционно-геномной структуры и характера генетической дивергенции пород лошадей (*Equus caballus* L.) для разработки стратегии управления генетическими ресурсами коневодства Российской Федерации».

Цель и задачи исследования. Целью работы является комплексное изучение и характеристика культурных (заводских) и аборигенных (местных) пород лошадей Российской Федерации с использованием молекулярно-генетических маркеров для определения уровня биоразнообразия, особенностей генетической структуры популяций и их филогенетических связей, а также для применения в селекционных программах.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

1. Изучить генетические характеристики 30 заводских и местных пород лошадей по 17-ти микросателлитным локусам ДНК, а также провести сравнительную оценку их филогенетических связей на молекулярно-генетическом уровне.

2. Изучить характеристику гаплогрупп мтДНК у лошадей разных пород с оценкой их общности по матрилинейной структуре.
3. Проанализировать вариабельность гаплотипов мтДНК в маточных семействах чистокровной верховой, донской и вятской пород лошадей.
4. Изучить влияние инбридинга на степень гомозиготности лошадей по STR-локусам.
5. Сравнить молекулярно-генетические особенности жеребцов-производителей разных линий по микросателлитным локусам ДНК, включая оценку степени дифференциации современной внутривидовой структуры лошадей чистокровной верховой породы.
6. Провести генетический мониторинг популяционных параметров лошадей чистокровной верховой породы на основе микросателлитных локусов ДНК.
7. Изучить влияние гомозиготности STR-локусов на плодовитость и работоспособность лошадей чистокровной верховой породы.
8. Определить частоту мутации *GYS1* в 10 заводских и местных породах, вызывающую полисахаридную миопатию PSSM1 у лошадей.
9. Изучить полиморфизм генов *MSTN* и *DMRT3* влияющих на работоспособность лошадей разных пород.

Научная новизна исследований. Впервые проведена сравнительная оценка полиморфизма 17-ти микросателлитных локусов ДНК у лошадей 30 пород, проведена их генетическая паспортизация и проанализированы филогенетические связи. Дана сравнительная характеристика аллелофонда лошадей верховых, рысистых, тяжелоупряжных и местных пород, сформировавшихся при различных векторах селекции. Установлены статистически значимые различия в распределении аллелей и генотипов микросателлитов ДНК между разными породами лошадей. У лошадей ряда отечественных пород выявлено наличие приватных аллелей, что свидетельствует об уникальности их генофонда.

Впервые изучена матрилинейная структура митохондриального генома лошадей отечественных пород и проведена паспортизация маточных семейств на основе гаплотипов и гаплогрупп мтДНК. Установлена возможность использования информации о митогеноме при генетической сертификации и идентификации лошадей.

Впервые изучено влияние инбридинга на степень гомозиготности лошадей орловской рысистой и чистокровной верховой пород по 17-ти локусам микросателлитов ДНК и определена незначительная корреляция между этими показателями.

Впервые проведен мониторинг генетической структуры чистокровной верховой породы лошадей по локусам микросателлитов

ДНК за три последних десятилетия, показавший стабильность сохранения генетической структуры породы даже в условиях интенсивной интродукции генов.

У лошадей местных пород впервые изучен полиморфизм генов *MSTN* и *DMRT3* влияющих на хозяйственно-полезные признаки.

Впервые у лошадей отечественных пород изучено распространение мутации гликогенсинтазы (*GYS1*), вызывающей нарушения работы мышц и координации движений.

Теоретическая и практическая значимость. В рамках работы получены новые данные, позволяющие совершенствовать селекционные программы в коневодстве. По результатам работы была сформирована база электронных данных, обеспечивающая проведение генетической паспортизации 30 пород лошадей разводимых в РФ. Установлено наличие молекулярно-генетических особенностей у лошадей разных породных групп специализированных по разным направлениям селекции. Выявлены существенные различия в генетической структуре лошадей заводских и местных пород, изучены их филогенетические отношения и степень генетического влияния улучшающих пород на местные популяции. Доказано существование молекулярно-генетических различий в линейной структуре изученных пород лошадей по ряду популяционных параметров, включая спектр аллелей, уровень полиморфности, степень гетерозиготности и генетические дистанции по STR- локусам. Генетический мониторинг чистокровной верховой породы лошадей выявил стабильность сохранения ее генетической структуры на протяжении трех десятилетий, даже в условиях интенсивной интродукции генов, что свидетельствует об эффективности системы чистопородного разведения.

У лошадей отечественных пород выявлены новые митотипы нуклеотидных последовательностей контрольного участка D-петли митохондриальной ДНК, подтверждающие уникальность их матричной структуры и связь с древними геномами лошадей разных географических зон Евразии. Высокий уровень полиморфности гаплотипов мтДНК в породах лошадей позволяет эффективно использовать информацию о последовательности D-петли при идентификации и контроле происхождения лошадей. Изучено распространение вариантов генов, определяющих работоспособность лошадей разных пород. Выявлена сравнительно высокая встречаемость негативной мутации в гене гликогенсинтазы (*GYS1*) у лошадей тяжелоупряжных пород, что свидетельствует о

необходимости проведения генетического мониторинга этого дефекта в заводских и местных породах лошадей.

Методология и методы исследования. При проведении исследований методологической основой послужили классические научные положения в области генетики, селекции и биотехнологии животных. В качестве объекта исследований были использованы лошади 30 заводских и местных пород, разводимых на территории РФ. Исследования проводили на лошадях в соответствии с инструкциями и рекомендациями Russian Regulations, 1987 (Order No.755 on 12.08.1977 the USSR Ministry of Health) и «The Guide for Care and Use of Laboratory Animals (National Academy Press Washington, D.C., 1996). При выполнении диссертационной работы были использованы общепринятые методы отбора, подготовки и анализа лабораторного материала. Дана авторская трактовка полученных результатов и проведена сравнительная оценка научных данных с показанными другими исследованиями в области молекулярной генетики и биотехнологии животных в Российской Федерации и в мире. Лабораторные исследования проведены на современном оборудовании в ФГБНУ ВНИИ коневодства и в ООО «Генетика», г. Москва. Обработка экспериментальных данных проведена статистическими методами с использованием программных пакетов MS Excel 2010; Statistics 12, MEGA7, POPULATIONS 1.2.28.

Основные положения, выносимые на защиту:

- Современные параметры генетической структуры разных пород лошадей, их динамика и взаимосвязи.
- Молекулярно-генетические паспорта лошадей заводских и местных пород.
- Система генетической идентификации и контроля происхождения лошадей с помощью митохондриальной ДНК.
- Влияние ДНК-маркеров на интенсификацию селекционных процессов в коневодстве.
- Потенциальное влияние генов *MSTN* и *DMRT3* на работоспособность лошадей.
- Молекулярно-генетические методы детекции наследственных аномалий лошадей.
- Методы повышения эффективности использования молекулярно-генетических маркеров в селекции лошадей.

Апробация результатов диссертации. Основные положения диссертации апробированы на: II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Аборигенное коневодство России: история, современность, перспективы», Архангельск, 2018;

научно-практической конференции «Достижения молодых ученых – зоотехнической науке и практике», Рязань, 2018; научно-практической конференции «Молодые ученые ко Дню российской науки», г. Рыбное, 2018; XVIII Всероссийской конференции молодых ученых «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии», Москва, 2018; Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию биотехнологического факультета (УО ВГАВМ) «Проблемы и перспективы развития животноводства», Витебск, 2018; XVIII Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной памяти академика РАСХН Г.С. Муромцева «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии», Москва, 2019; Международной – научно-практической конференции «Современные достижения и актуальные проблемы в коневодстве», Дивово, 2019; III Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Проблемы сохранения местных (аборигенных) пород лошадей России», Липецк, 2020; Международной - научно-исследовательской конференции по продовольственной безопасности и сельскому хозяйству CFSA 2021, г. Ялта; V Международной конференции «Агробизнес, экологический инжиниринг и биотехнологии» AGRITECH-V 2021 г. Красноярск 2021.

Достоверность результатов работы подтверждается большим объемом проведенных исследований, значительной по численности, репрезентативной выборкой животных, включенных в исследование, а также результатами статистической обработки полученных данных.

Личный вклад автора. Автором была сформирована база данных генетических маркеров, включающая более 20 тысяч голов лошадей 30 пород. Проанализировано современное состояние проблемы, сформулированы цели и задачи исследования, разработана программа и определены методы исследования. Автор принимал участие на всех этапах работы: в подготовке материала, лабораторных исследованиях, обработке, обобщении и анализе результатов. Печатные работы по теме диссертации были подготовлены автором самостоятельно и в соавторстве.

Публикации результатов исследований.

По материалам диссертации опубликовано 57 статей, в том числе: 30 - в ведущих рецензируемых научных журналах и изданиях, рекомендованных ВАК; 10 – в журналах, индексируемых в международных базах Scopus и Web of Science. В соавторстве получено два свидетельства о регистрации базы данных RU 2016621345 (2016) и RU 2016620649 (2016): «Результаты молекулярно-генетического анализа лошадей» для проведения контроля

достоверности происхождения и популяционно-генетического анализа. Издано практическое руководство: по использованию микросателлитов ДНК при генотипической оценке лошадей (Л.А. Храброва, Н.В. Блохина, 2012).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 271 страницах компьютерного текста, включает введение, обзор литературы, результаты собственных исследований и их обсуждение, выводы, практические рекомендации и приложение. Работа проиллюстрирована 43 таблицами и 44 рисунками. Библиографический список включает 509 публикаций, в том числе 267 на иностранных языках.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность и признательность научному консультанту – доктору сельскохозяйственных наук, профессору, академику РАН, Заслуженному деятелю науки РФ В.В. Калашникову; главному научному сотруднику лаборатории генетики доктору сельскохозяйственных наук, профессору Л.А. Храбровой; коллективу лаборатории генетики ФГБНУ ВНИИ коневодства, а также кандидату сельскохозяйственных наук С.И. Сорокину за помощь в лабораторных исследованиях.

2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Объектом для собственных исследований послужили лошади разных половозрастных групп 30 заводских и местных пород (n=20559), разводимых в РФ. В базу данных были включены лошади следующих заводских пород: арабская n=2971, ахалтекинская n=1040, буденновская n=93, ганноверская n=33, донская n=21, кабардинская n=289, траккенская n=93, чистокровная верховая n=9600, американская стандартbredная n=434, русская рысистая n=975, французская рысистая n=381, орловская рысистая n=4177, владимирская n=233, русская тяжеловозная n=71, советская тяжеловозная n=51, першеронская n=57, алтайская n=39, башкирская n=100, бурятская n=20, вятская n=219, забайкальская n=24, мезенская n=97, мугалжарская n=94, новоалтайская n=150, печорская n=17, шетлендские пони n=46, приобская n=25, а также хакасская популяция n=43. Тестирование всего исследуемого поголовья проводили в лаборатории генетики ФГБНУ «ВНИИ коневодства» по 17-ти микросателлитным локусам ДНК: *AHT4*, *AHT5*, *ASB2*, *HMS1*, *HMS2*, *HMS3*, *HMS6*, *HMS7*, *HTG4*, *HTG6*, *HTG7*, *HTG10*, *VHL20*, *ASB23*, *ASB17*, *LEX3* и *CA425*, рекомендованным ISAG.

Выделение ДНК из волосяных луковиц проводили с использованием реагентов «ExtraGene DNA Prep 200» (ООО

«Лаборатория Изоген», г. Москва). При амплификации выделенной ДНК использовали 17-плексный набор праймеров для генотипирования лошадей отечественного производства – Equine-STR (ООО «Гордиз», г. Москва). Разделение и детекцию продуктов амплификации проводили методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе ABI 3130 (Applied Biosystems, USA). После регистрации данных электрофореза определяли размеры амплифицированных фрагментов ДНК с помощью программы GeneMapper™ V.4.0. Стандартизацию STR-профиля осуществляли с учетом контрольной ДНК с известным генотипом и согласно данных международных сравнительных испытаний (Horse Comparison Tests), проводимых ISAG в 2008-2020гг. Для обозначения аллелей применяли стандартизированный международный алфавитный код.

При генетико-популяционной характеристике исследуемых групп учитывали частоты встречаемости аллелей, генотипов, уровень полиморфности (Ae), степень наблюдаемой (Ho) и ожидаемой (He) гетерозиготности. Показатель внутривидового инбридинга Fis определяли исходя из соотношения числа наблюдаемых и теоретически рассчитанных генотипов в локусах по формуле $Fis = 1 - (Ho/He)$. Индексы генетического сходства и генетические дистанции между изученными породами и внутривидовыми субпопуляциями рассчитывали по формулам М. Nei (1975). Генетико-популяционные параметры рассчитывали по стандартным формулам с помощью программ MS Excel 2010; FSTAT version 1.2; Genepop и Populations 1.2.28.

При изучении контрольного участка митохондриального генома ДНК выделяли из волосяных луковиц с помощью набора «ExtraGene DNA Prep 200», (ООО Лаборатория «Изоген», Россия), согласно инструкции производителя. Праймеры для амплификации изучаемого участка D-петли мтДНК были подобраны с учетом референсной последовательности ископаемой шведской лошади X79547 (Xu X., Arnason U., 1994). Секвенирование фрагмента мтДНК размером 530 п.н. проводили с использованием набора BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kit (PE Applied Biosystems) на генетическом анализаторе ABI 3130xl (PE Applied Biosystems), в ООО «Генетика» (г. Москва). Для идентификации полученных нуклеотидных последовательностей к определенным гаплогруппам были использованы последовательности 18 известных гаплогрупп, депонированные в GenBank под номерами JN398377-JN398457.

СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЙ

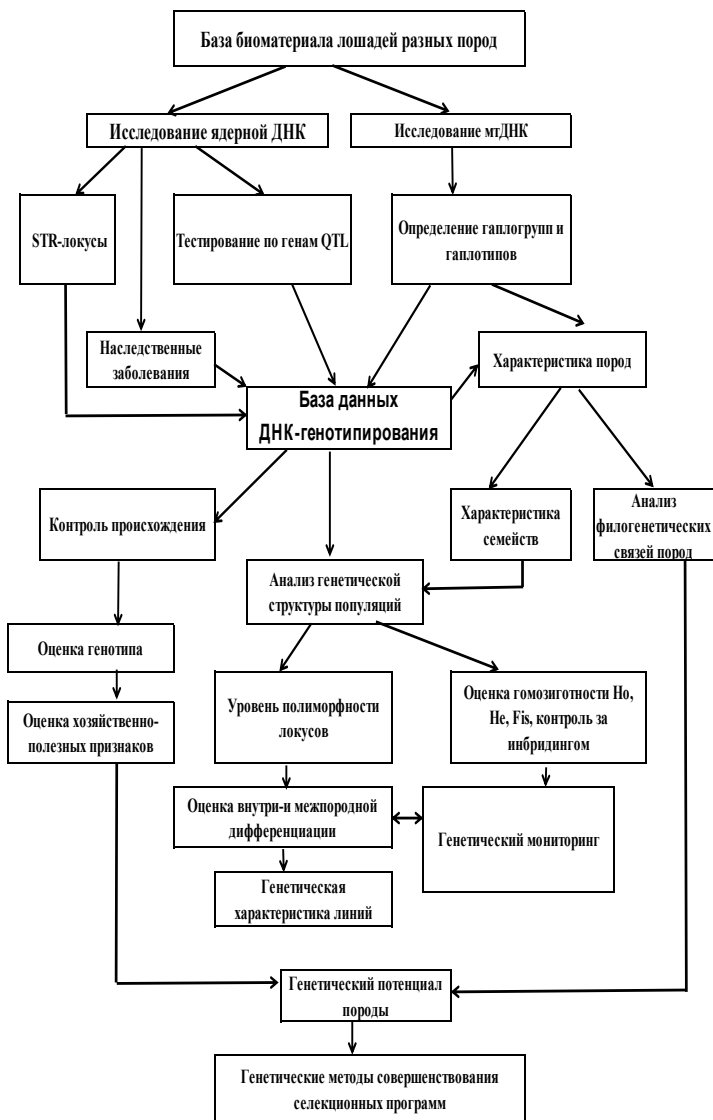


Рис. 1. Схема проведения исследований

Выявленные новые гаплогруппы были обозначены в алфавитном порядке, как S, T, U, V, W, X, Y и Z. Анализ региона D-петли мтДНК с 15471 по 16000 основание проводили с использованием программ BioEdit Sequence и Mega7.

Определение генотипов миостатина (*MSTN*) и гликогенсинтазы (*GYS1*), проводили методом АС-ПЦР с использованием авторских праймеров, подобранных по программе Primer3. Электрофорез ампликонов проводили в 2% агарозном геле. Для окрашивания проб использовали бромистый этидий, результаты электрофореза фиксировали визуально в УФ-излучении.

Определение полиморфизма гена *DMRT3* g.22999655C>A у лошадей производили по методу ПЦР-ПДРФ с использованием рестриктазы BstDE-I, с последующим электрофорезом в 2% агарозном геле и окрашиванием бромидом этидия. В качестве референтного значения была использована ДНК домашней лошади *Equus caballus* из базы данных NCBI под номером NC_009166.2. Статистические расчеты данных осуществляли с использованием программы MS Excel 10.

Скаковую работоспособность лошадей чистокровной верховой породы оценивали по индексу побед по формуле: $P_u = \sum 1-x \text{ мест} + \sum 2-x \text{ мест} / 2 + \sum 3-x \text{ мест} / 3$ по отношению к числу выступлений.

Плодовитость кобыл оценивали по фактическому выходу жеребят, рассчитанному по отношению к числу плодовых лет. Для получения информации о работоспособности и плодовитости лошадей использовали базу данных ИПС КОНИ 3 (www.ruhorses.ru).

3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1 Паспортизация заводских и местных пород по микросателлитным локусам ДНК

3.1.1. Использование микросателлитных локусов ДНК при контроле происхождения лошадей

Изучение генетической структуры лошадей разной специализации показало, что между ними имеются значительные различия по спектру аллелей STR-локусов и основным генетико-популяционным показателям. Среди 30 обследованных пород и популяций наибольшие значения практически всех показателей (*Ae*, *Ho*, *He* и *Na*) были определены у лошадей местных пород (Табл. 1). Общее число аллелей в STR-локусах варьировало от 3 до 21, при этом наиболее вариабельным оказался локус *ASB17*. Локализованный в X-хромосоме локус *LEX3*, также характеризовался достаточно высокой степенью

полиморфности (6-12), при этом у лошадей отечественного происхождения преобладали аллели LEX3L и LEX3M.

Сравнительный анализ генетической структуры верховых пород лошадей показал, что в этой группе по уровню генетического разнообразия лидирует кабардинская порода, которая характеризуется максимальными значениями общего числа аллелей ($N_a=147$), уровня полиморфности ($A_e = 5,14$) и достаточно высокой наблюдаемой гетерозиготностью ($H_o=0,723$). Эта порода отличалась наличием ряда аллелей (ANG4Q, ANT4R, LEX3Q и CA425P), которые были обнаружены только у местных пород.

Самые низкие уровни полиморфности ($A_e = 3,18$) и фактической гетерозиготности ($H_o=0,631$) были определены у лошадей чистокровной арабской породы, в которой также был зарегистрирован максимальный показатель F_{is} (0,032), свидетельствующий о недостатке гетерозиготных генотипов и наличии внутривидового инбридинга.

Среди четырех рысистых пород лошадей максимальные показатели уровня полиморфности ($A_e=3,810$) и степени гетерозиготности H_e (0,715) были определены у французского рысака, в создании которого принимали участие многие породы лошадей, включая орловского рысака. Самый низкий уровень генетического разнообразия наблюдался у американских стандартбредных рысаков: A_e (3,457), H_o (0,663), H_e (0,679) и F_{is} (0,016), что очевидно связано с длительной селекцией по резвости на рысистом аллюре.

Генетическая структура орловской рысистой породы характеризовалась достаточно высокими показателями популяционного разнообразия ($A_e=3,748$; $H_o=0,700$), при этом в породе был выявлен уникальный аллель ANT5P, встречающийся еще и у лошадей местных пород. Это указывает на то, что в создании орловского рысака принимали участие лошади не только заводских, но и отечественных местных пород.

На основании анализа полиморфизма STR-локусов у трех отечественных тяжеловозных пород лошадей было установлено, что советская тяжеловозная порода лидирует по уровню генетического разнообразия и имеет максимальные значения уровня полиморфности ($A_e=3,982$) и гетерозиготности ($H_o=0,723$). Несмотря на сокращение численности заводских маток практически до 200 голов, советская тяжеловозная порода ещё сохраняет достаточный ресурс генетического разнообразия и гетерозиготности, о чем свидетельствует отрицательное значение коэффициента F_{is} (-0,002).

Таблица 1. Генетико-популяционная характеристика пород и популяций лошадей по 17 STR – локусам ДНК (n=20559)

Порода	<i>N</i>	<i>MNA</i>	<i>Ae</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>	<i>Na</i>
Арабская	2978	6,118	3,180	0,631	0,655	0,032	104
Ахалтекинская	1040	7,412	3,442	0,649	0,643	-0,010	126
Буденовская	93	7,000	3,793	0,722	0,713	-0,013	119
Ганноверская	33	5,882	3,863	0,702	0,704	0,003	100
Донская	21	5,647	3,426	0,677	0,678	0,007	96
Кабардинская	289	8,647	5,140	0,723	0,782	0,071	147
Тракененская	59	6,176	3,904	0,727	0,715	-0,018	105
Чистокровная верховая	8179	5,882	3,488	0,681	0,682	0,001	100
Американская Стандартbredная	434	7,647	3,457	0,663	0,679	0,016	129
Орловская рыс.	4177	7,529	3,748	0,700	0,702	0,003	128
Русская рысистая	975	8,059	3,771	0,686	0,706	0,020	137
Французская	381	7,647	3,810	0,703	0,715	0,017	130
Владимирская	233	6,765	3,630	0,707	0,704	-0,005	115
Першеронская	57	6,412	3,966	0,711	0,704	-0,007	109
Русская тяжелов.	71	7,118	3,753	0,676	0,705	0,036	121
Советская тяжелов.	51	7,118	3,982	0,723	0,720	-0,002	121
Алтайская	39	7,882	4,750	0,772	0,759	-0,020	134
Башкирская	100	9,000	4,847	0,776	0,773	-0,002	153
Бурятская	20	6,882	4,288	0,736	0,746	0,012	117
Вятка	297	8,000	3,763	0,691	0,676	8,000	136
Забайкальская	24	7,471	4,602	0,752	0,762	0,006	127
Мезенская	97	7,765	4,189	0,738	0,725	-0,020	132
Мугалжарская	94	9,059	5,056	0,797	0,780	-0,021	154
Новоалтайская	150	8,706	4,904	0,764	0,757	-0,009	148
Печорская	17	7,118	4,173	0,732	0,705	-0,038	121
Пони	46	7,706	4,338	0,713	0,749	0,047	131
Приобская	25	7,118	4,157	0,741	0,731	-0,017	121
Тувинская	569	10,00	5,197	0,753	0,782	0,029	170
Хакасская популяц	43	7,235	4,315	0,731	0,747	0,025	123
Якутская	24	6,706	4,177	0,730	0,725	-0,019	114

Самый низкий уровень полиморфности ($A_e=3,630$) был определен у лошадей владимирской породы, которая также имеет малочисленный генофонд. Сравнительно низкая степень гетерозиготности ($H_o=0,676$) в сочетании с внутрипопуляционным инбридингом ($F_{is}=0,036$) была отмечена у лошадей русской тяжеловозной породы. В целом созданные в нашей стране тяжеловозные породы лошадей характеризовались достаточно высоким уровнем генетического разнообразия, позволяющим успешно вести селекционную работу даже в условиях ограниченного генофонда.

Среди 14 местных пород и популяций самым высоким уровнем генетического разнообразия выделялась тувинская порода лошадей ($N_a=170$, $A_e=5,197$, $H_o=0,782$). Самый низкий уровень генетического разнообразия наблюдался у лошадей малочисленной вятской породы ($A_e=3,765$, $H_e=0,677$, $H_o=0,691$).

Местные популяции лошадей Сибири по спектру аллелей и генетико-популяционным показателям отличались от пород, локализованных в европейской части РФ – вятской, мезенской и печорской. Мезенская порода лошадей характеризовалась наличием уникальных аллелей ASB17X, ASB17Y, HMS6J, LEX3R и LEX3S, у лошадей вятской породы – HTG6L и АНТ5Р.

Характерной особенностью местных пород было наличие аллелей ASB2T, HMS1O, HMS2T, HMS6H, HMS6J, HMS7S, HTG6H, HTG6L, HTG7L, VHL20S, ASB17U, ASB17X, ASB17Z, LEX3R, LEX3S и CA425E, которые отсутствовали у заводских пород.

Изученные популяции лошадей различались по своей генетической структуре и степени дифференциации. Генетические дистанции между породами варьировали в очень широком интервале 0,022-0,510.

Проведенный филогенетический анализ показывает два четких субкластера (Рис.2), в первый из которых вошли лошади только заводских пород (верховые и рысистые). На дендрограмме отчетливо видно, что лошади буденновской породы имеют близкое генетическое родство с чистокровной верховой породой (0,961), а русская рысистая порода с американской стандартбредной (0,976). Также установлено высокое генетическое сходство башкирской и тувинской пород (0,945), а также русской и советской тяжеловозных пород (0,941).

Второй субкластер объединил популяции местных пород, кабардинскую породу, а также орловского рысака и тяжеловозов, которые многие десятилетия планомерно использовались в качестве улучшателей местного поголовья лошадей.

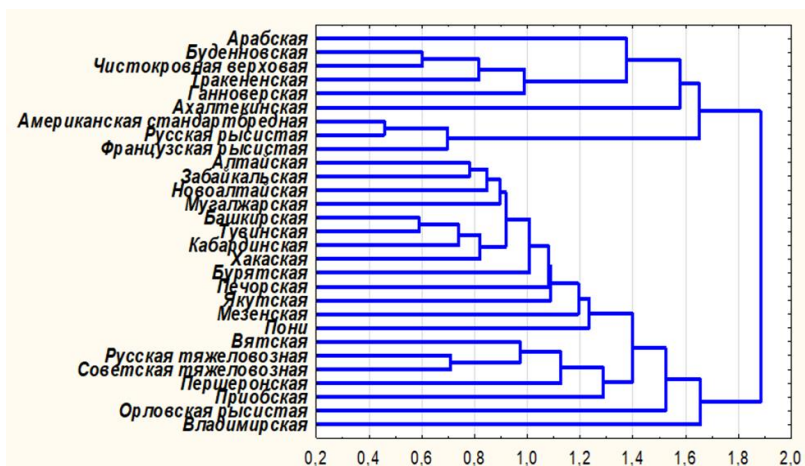


Рисунок 2. Дендрограмма генетических дистанций между лошадьми разных пород по Nei (1975)

Проведенный филогенетический анализ пород показывает, что уровень генетического сходства по микросателлитным локусам на уровне 0,940 может указывать на близкое родство пород, тогда как уровень генетического сходства 0,850 и ниже показывает на далекое генетическое сходство и значительную дифференциацию пород на генетическом уровне.

3.2. Сравнение гаплогрупп мтДНК у лошадей разных пород

3.2.1. Анализ гаплотипов мтДНК в маточных семействах чистокровной верховой породы

Изучение полиморфизма контрольного региона мтДНК у 94 маток чистокровной верховой породы, относящихся к 23 основным семействам, показало наличие 93 гаплотипов, соответствующих 9 гаплогруппам: A, B, E, G, H, I, L, M и N по классификации Achilli et al., (2012). При этом у кобыл 16 из 23 маточных семейств была определена принадлежность только к одной группе. В пяти маточных семействах этой породы (№1, 2, 4, 5 и 9 по классификации B. Lowe) было выявлено по две гаплогруппы. У кобыл маточного семейства 19 были обнаружены митотипы, относящиеся к 3 гаплогруппам (B, H и L).

В матрилинейной структуре чистокровной верховой породе лошадей наибольшее распространение получили гаплогруппы B, G, I и L. Фактически митохондриальный геном чистокровных верховых лошадей представлен 50% известных гаплогрупп, так как генофонд этой породы был сформирован ограниченным числом лошадей,

записанных в I том Генерального студбука, изданного в Англии в 1793 году.

Проведенные исследования показали, что большинство маточных семейств отечественной популяции этой породы относятся к гаплогруппам L (3, 4, 6, 7, 8, 10, 14, 16, 17, 19, 27); B (5, 19, 21, 22, 43) и I (4, 11, 13) что показано на рисунке 3. Наиболее многочисленное в мировом рейтинге семейство №1 Tregonwell's Natural Barb Mare в нашем исследовании состояло из 7 кобыл трех разных ответвлений, представленных редкими митогруппами M и N с высокой степенью бутстрэп поддержки (98%). У кобыл этого семейства было определено пять вариантов митотипов N, все протестированные кобылы ветвей 1-с и 1-d имели практически одинаковую последовательность нуклеотидов.

Лидирующее по численности чистокровно верховых маток в России семейство №4 Layton Barb Mare было представлено 10 кобылами, при этом все кобылы четырех первых ветвей (4-b, 4-c, 4-h, 4-m) восходили к гаплогруппе I. Три остальные матки, относящиеся к ответвлению 4-o, представили гаплогруппу L (с уровнем соответствия 98%) (Рис. 3). Анализ развития ветви 4-o показал, что все три протестированные матки из семейств Вельташ, Оморики и Фламбонетт восходят к кобыле Waternymph 1860 г.р..

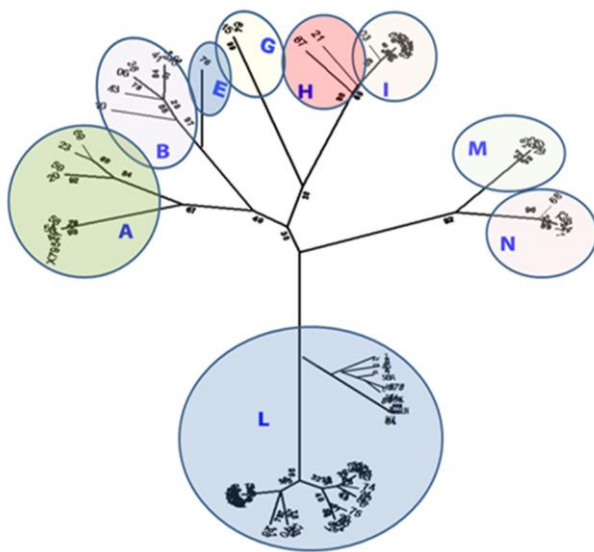


Рис. 3. Схема распределения кобыл основных маточных семейств чистокровной верховой породы по гаплогруппам мтДНК

Редко встречающаяся у лошадей гаплогруппа Н была определена только у представительницы 19 семейства, а гаплогруппа Е выявлена у одной из кобыл 8 семейства. Митогруппа G оказалась базовой для кобыл 2 и 9 семейств, каждое из которых характеризовалось своеобразными гаплотипами мтДНК. Анализ филогенетических связей материнских линий в чистокровной верховой породе лошадей показал, что практически половина из них, имеет гаплогруппу L, и, возможно, общих женских предков в более далеких поколениях. Вместе с тем в кластере митогруппы L было зарегистрировано 8 различных гаплотипов, характерных для современных маточных семейств.

Проведенный кластерный анализ матрилинейной структуры основных маточных семейств чистокровной верховой породы свидетельствует о достаточно высоком уровне разнообразия гаплотипов на фоне четкой дифференциации женских линий в отечественной популяции этой породы. Полученные данные позволяют дополнить важную информацию о генетических особенностях сложившейся генеалогической структуры современных представителей чистокровной верховой породы в России.

3.2.4. Анализ спектра гаплотипов мтДНК у лошадей местных пород

При тестировании лошадей десяти местных пород была выявлена широкая вариабельность гаплотипов мтДНК (n=196), относящихся к 16 из 18 известных гаплогрупп по классификации Achilli et al, 2012. Дополнительно были выявлены 5 новых гаплогрупп дифференцированных от 18 остальных при 60% уровне бутстреп-поддержки и обозначенных как T, U, W, Y и Z. У протестированных лошадей не были определены редко встречающиеся гаплогруппа K, а также гаплогруппа F, специфичная для дикой лошади Пржевальского. Сравнительный анализ структуры мтДНК аборигенных пород лошадей показал, что варианты гаплогрупп A и L встречались у лошадей практически всех исследуемых пород. Интересно, что гаплогруппа A была представлена в геномах многих аборигенных лошадей Евразии, включая ископаемую шведскую лошадь X79547 (Xu X., Arnason U., 1994, Kusliy, M.A. et al., 2021).

Все исследуемые местные породы лошадей заметно различались между собой по своей матрилинейной структуре (Табл. 2). Для бурятских лошадей были наиболее типичны гаплогруппы B, L, O-P и Q (13,33%). Дополнительно к этому у лошадей бурятской породы были выявлены три новых гаплогруппы (T, Y, Z) мтДНК, не входящие в стандартный перечень A-R. Доля лошадей, относящихся к трем

дополнительным гаплогруппам, составила 20%. В контрольном регионе мтДНК этих лошадей довольно часто встречались транзиции (36) и трансверсии (67), коэффициент нуклеотидных замен $R=si/sv$ составил 0,5.

Вятская порода лошадей была представлена 38 гаплотипами, относящимися к 11 гаплогруппам мтДНК – А, В, С, L, М, N, Р, Q, U и Y, что свидетельствует об участии в ее создании и азиатских митогрупп. В матрилинейной структуре этой породы были наиболее широко представлены гаплогруппы В (30,0%) и L (30%), а также дополнительные митогруппы U (2,5%) и Y (7,5%). Вместе с тем у вятских лошадей отсутствовала гаплогруппа I, распространенная в мезенской породе, занимающей самый северный ареал Европейской части РФ. Наличие гаплогрупп D и Q в генофонде мезенской лошади свидетельствует об участии в ее создании женских предков азиатского происхождения. Обе аборигенные лесные породы Европейской части РФ - вятская и мезенская имели общие гаплогруппы L, M, Q и U, но гаплогруппы D, G и I встречались только у лошадей мезенской породы и отсутствовали у вятков.

В генетической структуре тувинской породы лошадей, представленной лошадьми из трех хозяйств, доминировала древняя евразийская гаплогруппа А (41,67%), типичная для ископаемых лошадей Северной Европы и Азии (Kusliy, M.A. et al., 2021). У 25% тувинских лошадей встречалась редкая гаплогруппа J, указывающая на участие в создании этой породы предков восточного происхождения (Рис. 4). Значительно реже в породе встречались лошади с гаплогруппами С (8,33%), G (8,33%) и O-P (16,67%). Матрилинейная структура тувинской породы лошадей по данным GenBank, также представлена гаплогруппами D, E, H, K, L, Q и R, что указывает на ее родство с монгольской лошадей.

Значительное разнообразие гаплотипов и гаплогрупп было определено и у лошадей якутской породы, включавшей 11 из 18 известных гаплогрупп мтДНК. Наиболее часто у якутских лошадей встречались гаплогруппы А (16,67%), С (20,00%), Е (16,67%) и L (16,67%). Генетической особенностью этой северной породы лошадей является наличие редкой митогруппы Е (16,7%) и сравнительно высокая частота встречаемости митогруппы С (20,0%). Контрольный участок мтДНК якутских лошадей включал 10 нуклеотидных замен, представленных транзициями. Все изучаемые аборигенные породы лошадей характеризовались высоким уровнем вариабельности митотипов и различались по числу транзиций и трансверсий. Среднее

число нуклеотидных замен на сайт варьировало в интервале 0,01-0,19 и было максимальным в популяции бурятских лошадей.

**Таблица 2 - Распределение гаплогрупп мтДНК (в %) у лошадей
местных пород**

Гаплогруппа мтДНК	Бурятская n=15	Вятская n=40	Забайкальская n=31	Мезенская n=23	Печорская n=13	Приобская n=16	Тавдинская n=7	Тувинская n=12	Хакасская популяция n=18	Якутская n=30
A	0,00	7,50	0,00	4,35	46,2	12,5	14,3	41,7	11,1	16,7
B	13,33	30,0	19,5	0,00	0,00	6,25	14,3	0,00	0,00	3,33
C	0,00	2,50	6,45	0,00	0,00	0,00	0,00	8,33	5,55	20,0
D	6,66	0,00	0,00	8,69	0,00	0,00	0,00	0,00	5,55	3,33
E	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	16,7
F	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
G	6,66	0,00	16,1	4,35	30,8	31,2	14,3	8,33	0,00	0,00
H	0,00	0,00	12,9	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
I	6,66	0,00	0,00	26,1	0,00	0,00	0,00	0,00	22,2	3,33
J	0,00	7,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	25,0	5,55	6,67
K	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
L	13,3	30,0	3,23	8,69	7,69	25,0	14,3	0,00	5,55	16,7
M	0,00	2,50	9,68	8,69	0,00	0,00	14,3	0,00	0,00	0,00
N	6,66	2,50	0,00	8,69	0,00	0,00	0,00	0,00	11,1	0,00
O	13,3	5,00	0,00	13,0	0,00	6,25	14,3	16,7	0,00	10,0
P	13,3	2,50	25,8	13,0	7,69	6,25	14,3	0,00	27,8	3,33
Q	0,00	0,00	6,45	0,00	0,00	6,25	0,00	0,00	0,00	0,00
R	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
S	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
T	6,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
U	0,00	2,50	0,00	4,35	0,00	6,25	0,00	0,00	0,00	0,00
V	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
W	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	6,25	0,00	0,00	0,00	0,00
X	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Y	6,66	7,50	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	5,55	0,00
Z	6,66	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Представленное на рисунке 4 филогенетическое дерево гаплогрупп местных пород лошадей (Рис.5) свидетельствует о высокой индивидуальной вариабельности гаплотипов и гаплогрупп мтДНК и определенной общности матрилинейной структуры этих пород, сформировавшихся под влиянием коневодства азиатских кочевых племен.

До недавнего времени информация о генетической структуре аборигенных пород лошадей России практически отсутствовала, что не позволяло получить более полную картину одомашнивания лошади.

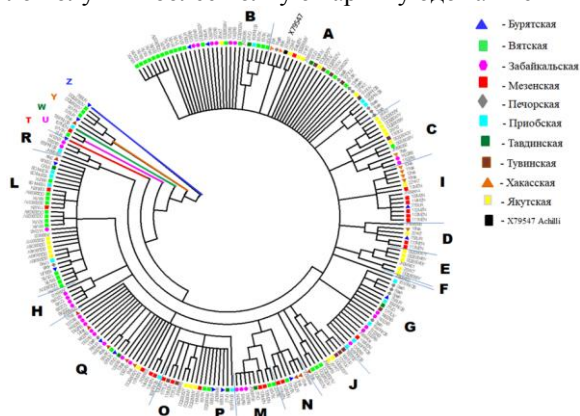


Рисунок 4. Филогенетическое дерево гаплогрупп мтДНК лошадей местных пород и популяций, построенное по методу Neighbor-Joining при бутстреп-поддержке >60%.

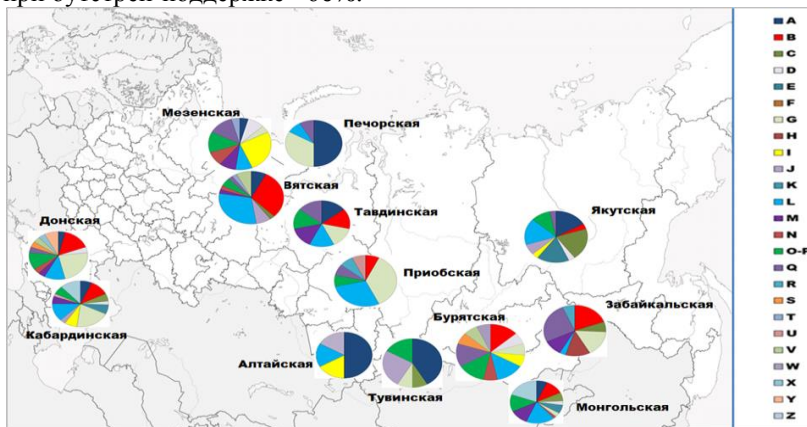


Рисунок 5. Географическое распределение гаплогрупп мтДНК в разных популяциях местных лошадей

Генетический анализ и филогенетических связей лошадей отечественных пород проведенный на основании изучения полиморфизма ядерного и митохондриального геномов, подтвердил гипотезу о том, что дрейф генов в мировых популяциях шел в двух основных направлениях. Первая волна миграции лошадей в V веке до н.э. шла в Европу и Восточную Азию из региона южных степей Волги и Дона, а вторая – из Средней и Восточной Азии по всему Евразийскому континенту (Librado P.N. et al., 2021). Поэтому современные отечественные породы лошадей характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия и уникальным аллелофондом с наличием частных аллелей и митотипов, отсутствующих в других Европейских регионах.

3.3.2. Инбридинг и степень гомозиготности микросателлитных локусов ДНК у лошадей чистокровной верховой породы

Анализ динамики средних значений коэффициента инбридинга у чистокровных верховых лошадей разных половозрастных групп показал, что жеребцы-производители, матки и молодняк в I-й (1990-1999) период характеризовались наиболее низкой степенью инбредности. Проведенный мониторинг выявил тренд постепенного увеличения коэффициента инбридинга во всех половозрастных группах лошадей чистокровной верховой породы (жеребцов, маток и молодняка), что в среднем по периодам составило 0,68-0,81-0,90%.

В 90-х годах прошлого века в анализируемых группах лошадей доля аутбредных животных колебалась в интервале 43,37-47,76%, при этом самый высокий показатель был отмечен у жеребцов-производителей. Коэффициент инбридинга 3,1% и выше встречался только у 4% жеребцов, 7,4% маток и 7,1% молодняка. В первое десятилетие XXI века, на фоне увеличения коэффициента инбридинга и повышения степени гомозиготности STR-локусов, количество инбредных лошадей в группах сократилось до 37,7-41,4%, что может быть связано с использованием комплексного инбридинга на выдающихся производителей доминирующих линий. При этом доля лошадей с инбридингом выше 3,1% увеличилась незначительно, до 6,1- 7,5%. В третий период (2010-2018) тенденция уменьшения лошадей с аутбредными родословными в структуре поголовья сохранилась. В результате этого доля аутбредного молодняка снизилась до 29,7%, произошло небольшое увеличение части лошадей (36,5-42,7%) с невысоким коэффициентом инбридинга до 1%. Инбридинг на уровне 3,1% и выше встречался у 5,6-8,1% лошадей, при этом максимальный показатель был определен в группе маток.

Большинство лошадей чистокровной верховой породы, в течение трех последних десятилетий было получено методом аутбридинга (37,88%) или отдаленного и умеренного инбридинга (35,96%). При этом независимо от величины коэффициента инбридинга, модальный класс степени гомозиготности составил 25,3-31,5%.

Изменения степени гомозиготности в разных группах чистокровных верховых лошадей были незначительными, при этом небольшое повышение этого показателя было отмечено у жеребцов и маток с инбридингом 3,1-4,0% (Рисунок 6).

Коэффициент ранговой корреляции Спирмена между уровнем инбридинга и степенью гомозиготности был близок к нулю ($r=0,022$, $P>0,05$). При этом статистически значимая величина этого показателя была зарегистрирована только в группе маток ($r=0,030$, $P=0,037$).

Тенденция некоторого повышения уровня инбридинга и степени гомозиготности лошадей чистокровной верховой породы в нашей стране в целом отражает мировой тренд снижения генетического разнообразия в этой породе, обусловленный как явным доминированием потомков Фэллариса (до 80%) в современной генеалогической структуре, так и строгим отбором по скаковой работоспособности.

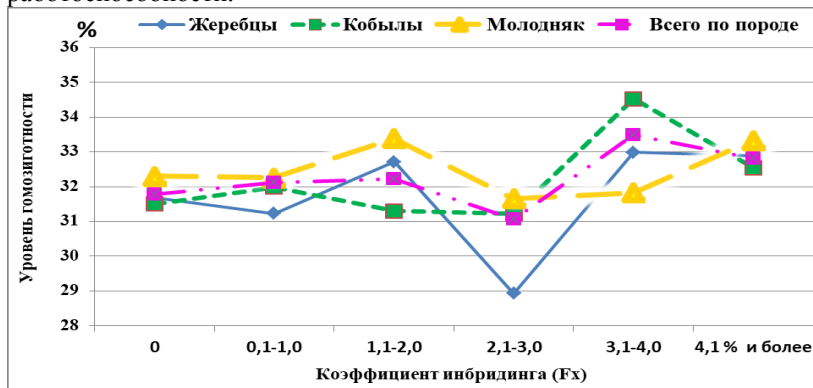


Рисунок 6. Динамика степени гомозиготности чистокровных верховых лошадей при повышении коэффициента инбридинга по Райту

3.4.1. Генетический мониторинг биоразнообразия чистокровной верховой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК

В результате генотипирования 8160 лошадей чистокровной верховой породы по 17-ти панельным STR-локусам было идентифицировано всего 100 аллелей, при этом для генетической

структуры породы были типичны 70, частота встречаемости которых во все анализируемые периоды превышала 0,05.

В целом эта уникальная порода, которая на протяжении более 50 поколений совершенствуется методом чистокровного разведения, имеет сравнительно невысокий уровень аллельного разнообразия микросателлитных локусов, что можно считать вполне закономерным. Число редких аллелей в STR-локусах в анализируемые периоды варьировало в небольшом интервале от 27 до 29 и было максимальным в группе лошадей 2000-2009 г.р., что связано с интенсивным импортом поголовья чистокровных верховых лошадей из стран Европы и Америки в течение первого десятилетия нового века. В этот период аллелофонд отечественной популяции пополнился тремя новыми редкими аллелями ASB17H, HMS1L и LEX3I за счет генотипов импортированных кобыл. Но уже в следующем поколении, у лошадей 2010-2018 г.р., аллель HMS1L был утрачен. Поэтому у современного поголовья лошадей чистокровной верховой породы (III период) общая численность аллелей по 17-ти STR-локусам составила 98.

Сравнительный анализ основных генетико-популяционных показателей по периодам свидетельствует, что на протяжении трех поколений с 1987 по 2017 годы изучаемые характеристики менялись незначительно: Na (5,71-5,82), Ae (3,41-3,51), Ho (0,674-0,686). Самый высокий уровень генетического разнообразия отечественной популяции чистокровных верховых лошадей наблюдали в конце 90-х годов (I период), при наибольшей численности племенных маток в конных заводах и на племенных фермах. Увеличившийся импорт чистокровных верховых лошадей во второй период несколько повысил вариативность редких аллелей, но не внес существенных изменений в генетическую структуру породы. По полученным данным видно, что в I-м и III-м периодах число гетерозиготных генотипов вполне соответствовало теоретически ожидаемым величинам, что подтверждают отрицательные значения Fis. Нарушение генного равновесия в породе ($Fis=0,002$) было зарегистрировано только во II-м периоде и, как показывает анализ генотипов, было обусловлено дрейфом генов, который сопутствовал возросшему импорту чистокровных верховых лошадей в нашу страну.

Благодаря пополнению племенного состава импортированными кобылами аллелофонд отечественной популяции чистокровной верховой породы пополнился новыми аллелями ASB17H, HMS6O, HTG10S, LEXI. Рожденные в других странах матки характеризовались достоверно более высокой частотой встречаемости аллелей ANT5K, ASB2Q, HMS7J и HTG4 K ($P<0,001$).

В целом жеребцы-производители и матки отечественного происхождения имели типичный для породы аллелофонд по 17-ти STR-локусам и незначительно отличались от импортированного поголовья чистокровных верховых лошадей.

3.5. Характеристика линейной структуры лошадей чистокровной верховой породы по STR-локусам

Сравнительный анализ современных линий жеребцов чистокровной верховой породы по основным генетико-популяционным параметрам свидетельствует, что они различаются между собой по числу аллелей (Na), уровню полиморфности (Ae) и степени наблюдаемой гетерозиготности (Ho). Число аллелей у представителей разных линий по 17 STR-локусам варьировало в широком диапазоне от 55 до 83. Уровень полиморфности колебался в пределах 2,151-3,231, степень фактической гомозиготности – 0,587-0,725. Самая многочисленная в породе линия Northern Dancer характеризовалась максимальным спектром аллелей (n=83), достаточно высокими показателями уровня полиморфности (Ae=3,231) и степени гетерозиготности (Ho=0,661). Высокие показатели генетического разнообразия имели и отдельные малочисленные линии - Blandford, Teddy и Fair Trial.

Продолжатели отечественной линии Дугласа имели средний уровень генетического разнообразия и отличались от других линий высокой частотой встречаемости аллелей VHL20I, HTG4M, HMS6P и CA425N. Жеребцы линии Tourbillon характеризовались невысоким уровнем генетического разнообразия, но выделялись на общем фоне достоверно более высокой частотой встречаемости аллелей VHL20M, AHT4H, HMS7L и HMS1M ($P < 0,001$). Еще одна историческая генеалогическая ветвь, идущая от Matchem (1748) к Man O'War (1917), в нашей выборке была представлена 20 лошадьми. Представители этой линии достоверно выделялись среди других и породы в целом высокой концентрацией аллелей VHL20L, AHT4H, HTG6G, AHT5J, ASB2B, HMS2L, ASB17R. Достоверные межлинейные различия по частотам встречаемости отдельных аллелей изученных STR-локусов были зарегистрированы для всех анализируемых линий, при этом только ведущая многочисленная линия Northern Dancer имела структуру частот аллелей, сходную с популяционной.

На рисунке 7 представлена дендрограмма филогенетических связей современных линий чистокровной верховой породы, построенная на основании генетических дистанций, которая хорошо согласуется со сложившейся генеалогической структуры. На дендрограмме видно, что все базовые линии - Northern Dancer, Nasrullah, Mr. Prospector, Nearco,

Native Dancer и A.P. Indy восходящие к Фэлларису - объединяются в один общий кластер.

По данным генетико-популяционного анализа наиболее консолидированными линиями являются линия Дугласа и линия Massine, которые продолжают через ограниченное число потомков этих жеребцов. В целом в чистокровной верховой породе превалируют представители линий, восходящие к Фэлларису. Интересно отметить, что новая линия A.P. Indy (1989), сформировавшаяся в кластере Фэллариса, на уровне микросателлитной ДНК заметно дистанцирована от многих других родственных линий, что может обусловить эффект внутривидового гетерозиса при межлинейных кроссах.

Работа с наиболее дифференцированными линиями, такими как Дугласа, Massine, Tourbilon и Ribot, несомненно, важна для поддержания генетического разнообразия в породе.

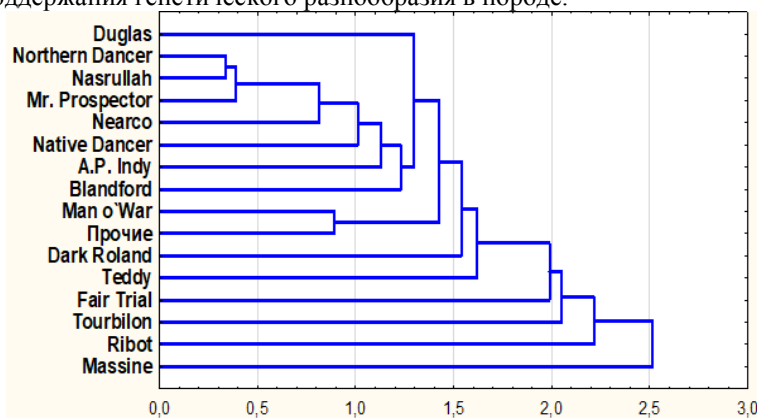


Рисунок 7. Дендрограмма генетических дистанций жеребцов-производителей чистокровной верховой породы разных линий по STR-локусам

Анализ генетических особенностей отечественной популяции чистокровной верховой породы лошадей показал, что между линиями имеются различия, как по спектру, так и по частотам аллелей, уровню полиморфности, степени гетерозиготности и генетическим дистанциям между ними.

3.6. Взаимосвязь степени гомозиготности STR-локусов с плодовитостью и работоспособностью лошадей чистокровной верховой породы

Одной из важнейших производственных технологий в животноводстве, в особенности в племенном коневодстве, является организация воспроизводства поголовья или плодовой деятельности

животных. Именно показатели воспроизводства поголовья определяют эффективность племенной работы, себестоимость продукции животноводства и конечный экономический результат отрасли.

Проведение сравнительного анализа показателей воспроизводственных качеств 3662 заводских маток чистокровной верховой породы, сгруппированных в зависимости от степени гомозиготности STR-локусов, базировалось на оценке делового выхода жеребят в процентах и продолжительности плодовой деятельности кобыл. При оценке воспроизводственных показателей кобыл, отбирали маток продуцирующих не менее трех лет.

Средние значения числа плодовых лет в анализируемых группах маток с разной степенью гомозиготности колебались в интервале от 5,14 до 10,00 лет. Максимальный показатель выхода жеребят (75,92%) имели кобылы с гомозиготностью 62,78-69,02%. Самый низкий показатель делового выхода жеребят на уровне 45,73% был отмечен у кобыл с наибольшей степенью гомозиготности (75,28-76,92%). Различия между остальными группами были несущественными ($P < 0,05$).

Анализ связи плодовой деятельности кобыл с коэффициентом инбридинга по Райту показал, что максимальный выход жеребят (65,85%) был в группе инбредных маток с коэффициентом инбридинга 4,1% и более, имевших достаточно продолжительную заводскую карьеру – в среднем 6,26 плодовых лет. Минимальные показатели воспроизводства кобыл были отмечены при уровне инбридинга 3,1-4,0 %.

При увеличении уровня инбридинга кобыл не было отмечено заметного роста степени гомозиготности, этот показатель менялся плавно. Самая многочисленная группа кобыл из 786 маток образовала отдельный класс со степенью гомозиготности 25,28-31,52%.

Рассчитанные коэффициенты корреляции Спирмена между уровнем гомозиготности и показателями выхода жеребят и числом плодовых лет оказались отрицательными ($R = -0,010$ и $R = -0,004$, соответственно) и недостоверными ($P > 0,05$). Связь между коэффициентом инбридинга и продолжительностью плодовой деятельности оказалась более сложной: уровень инбридинга практически не влиял на выход жеребят ($R = 0,010$ при $P > 0,05$), но отрицательно коррелировал с числом плодовых лет ($R = -0,092$ при $P < 0,05$). Ассоциация между инбридингом и степенью гомозиготности STR-локусов оказалась положительной, но незначительной по величине ($R = 0,019$ при $P > 0,05$).

Коэффициент детерминации степени гомозиготности по отношению к выходу жеребят составил всего 0,44 ($F=1,23$ $p=0,246$), фактор инбридинга демонстрировал еще меньшее и недостоверное влияние на этот показатель (0,06; $F=0,446$ $p=0,816$). Зато оба этих фактора оказывали небольшое, но статистически значимое влияние на числа плодовых лет кобыл чистокровной верховой породы: коэффициент детерминации инбридинга составил 1,022 ($F=7,551$ $p<0,001$), степень гомозиготности STR-локусов – 2,340 ($F=6,723$ $p<0,001$) (рис.8).

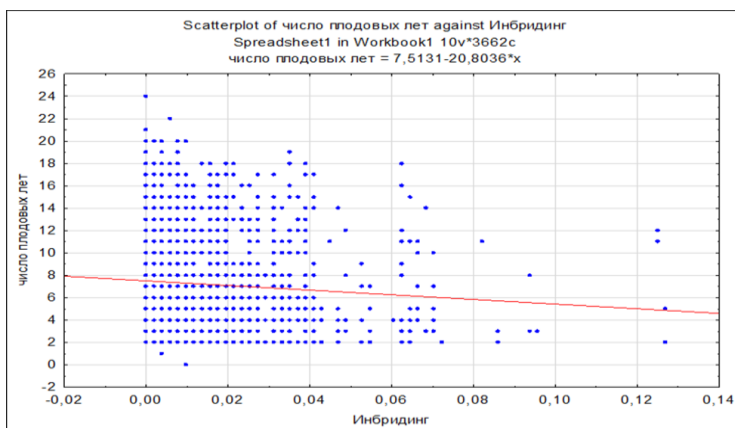


Рисунок 8. Распределение кобыл по числу плодовых лет и степени инбридинга

Оценку влияния степени гомозиготности STR-локусов на скаковую работоспособность лошадей чистокровной верховой породы ($n=604$) проводили на поголовье, которое было испытано на ипподромах страны. В качестве критерия скаковой работоспособности использовали индекс побед, который рассчитывали по сумме занятых первых, вторых и третьих мест по отношению к числу стартов. Данные по показателям скаковой работоспособности каждой лошади брали из базы данных ИПС КОНИ-3 www.ruhorses.ru и на сайте <http://hippodrom.ru/>.

При проведении сравнительного анализа скаковой работоспособности лошадей чистокровной верховой породы, все лошади были сгруппированы в зависимости от степени гомозиготности и проанализированы по показателям индекса побед и числа стартов.

Среднее значение индекса побед в анализируемой группе лошадей с разной степенью гомозиготности колебалось в интервале от 19,7 до

33,4%. Максимальный показатель успешности выступлений (33,4%) был определен у лошадей с гомозиготностью на уровне 50-59%. Самый низкий индекс победы был отмечен у лошадей с гомозиготностью 60-69%. Различия между остальными группами были незначительными ($P>0.05$). Модальная группа лошадей из 193 голов со степенью гомозиготности 30-39% имела индекс победы на уровне 26,6%.

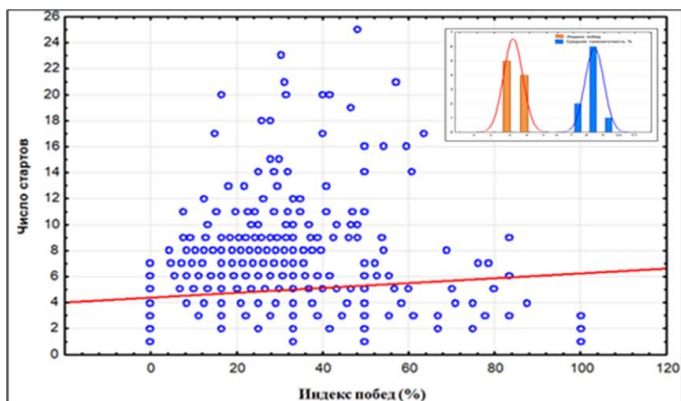


Рисунок 9. Анализ корреляции индекса победы с числом стартов и характер распределения средней гомозиготности у лошадей чистокровной верховой породы

На рисунке 9 показана положительная взаимосвязь индекса победы с числом стартов, а также нормальный характер распределения занятых призовых мест с тенденцией сдвига кривой вправо графика, подтверждающий тот факт, что селекция в чистокровной верховой породе направлена на отбор лошадей по одному фактору – скаковой работоспособности. Контроль степени гомо/гетерозиготности в породах лошадей пока еще осуществляется путем использования преимущественно умеренных и отдаленных степеней инбридинга. Оценка гомозиготности лошадей по STR-локусам может быть использована в качестве дополнительного селекционного критерия.

Полученные данные свидетельствуют о том, что лошади чистокровной верховой породы с разной степенью гомозиготности по STR-локусам не различались по индексу победы. Коэффициент ранговой корреляции Спирмена этих показателей был близок к нулю $r=0,003$ при $P>0.05$. Зато количество выступлений лошадей оказывало существенное и достоверное влияние на индекс победы $r=0,112$, $P<0.05$.

3.7. Гены, ассоциированные с хозяйственно-полезными признаками и наследственными заболеваниями у лошадей

3.7.1. Полиморфизм гена миостатина (*MSTN*) у лошадей разных пород

Ген миостатина (*MSTN*) влияет на рост и развитие скелетных мышц, поэтому оказывает значимое влияние на скаковую карьеру лошади. Мутации в этом гене могут приводить к чрезмерному увеличению мышечной массы животных. У лошадей ген миостатина функционирует в большей степени, как фактор роста тканей и определяет соотношение коротких и длинных волокон в мышцах.

При генотипировании 131 лошади разных пород с использованием SNP-маркера гена *MSTN* (g.66493737C/T), было выявлено только две гомозиготные по данной мутации особи с генотипом C/C. Большинство протестированных лошадей (75,4%) имели генотип T/T, 29 лошадей оказались гетерозиготами с генотипом C/T (22,5%). Однуклеотидная мутация в интроне миостатина был выявлен у представителей восьми местных пород и отсутствовал только у якутских лошадей колымского типа (Таблица 3). Возможно, эта особенность характерна для самой северной популяции якутских лошадей, так как имеются данные о редкой встречаемости генотипа C/T в этой породе (Воронкова В.Н. и др., 2018).

Таблица 3 - Распространение мутации g.66493737 T>C в гене *MSTN* у лошадей разных пород

Порода	n	CC	CT	TT	<i>MSTN</i> C	<i>MSTN</i> T
Алтайская	7	0,000	0,571	0,429	0,286	0,714
Башкирская	10	0,000	0,300	0,700	0,150	0,850
Вятская	31	0,064	0,290	0,613	0,217	0,783
Мезенская	12	0,000	0,083	0,917	0,042	0,958
Печорская	14	0,000	0,286	0,714	0,143	0,857
Полесская	6	0,000	0,500	0,500	0,250	0,750
Русская тяжел.	24	0,000	0,375	0,625	0,188	0,813
Тавдинская	7	0,000	0,286	0,714	0,143	0,857
Тувинская	10	0,000	0,200	0,800	0,100	0,900
Якутская	10	0,000	0,000	1,000	0,000	1,000

Частота встречаемости аллеля C в позиции g.66493737 T>C у лошадей девяти аборигенных пород варьировала в интервале 0,100 (тувинская) до 0,286 (алтайская), что свидетельствует о распространенном полиморфизме гена *MSTN*. При этом данная

мутация получила распространение в популяциях местных лошадей, как Европейской части РФ, так и Сибири, что свидетельствует о ее ассоциации с адаптивными качествами лошадей. Наличие этой структурной замены у лошадей местных пород разных стран дает основание считать, что она уже существовала в геноме их древних предков в период одомашнивания.

3.7.2. Полиморфизм гена *DMRT3* у лошадей аборигенных пород

Нонсенс-мутация C>A (g:22999655) в гене *DMRT3* приводит к преждевременной остановке синтеза и обуславливает производство укороченной молекулы регуляторного белка, что оказывает существенное влияние на характер передвижения лошадей. Данная мутация облегчает движение лошади на рыси или иноходи, но затрудняет переход в галоп, особенно при увеличении скорости движения.

У лошадей аборигенных пород с использованием SNP-маркера гена *DMRT3* (g.22999655 C>A) было выявлено два генотипа – A/C и C/C. Большинство лошадей (n=64) имели гомозиготный генотип дикого типа C/C, а у семи голов был идентифицирован мутантный гетерозиготный генотип C/A. Мутантный аллель *DMRT3A* был обнаружен у лошадей трех пород – вятской, мезенской и тувинской.

Частота встречаемости аллеля A в позиции g.22999655 C>A гена *DMRT3* в породах лошадей варьировала в интервале от 0,043 (вятская) до 0,167 (тувинская). При этом полиморфизм гена *DMRT3* был обнаружен как у лошадей северных лесных пород европейского региона РФ (вятской и мезенской), так и у тувинских лошадей, обитающих в разных ландшафтах Юго-Западной Сибири. Самый высокий уровень фиксации мутантного аллеля *DMRT3A* был отмечен у местных лошадей Республики Тыва (Рис. 10), в меньшей концентрации этот же аллель встречается у алтайских лошадей в регионе Горного Алтая.

Длительная практика улучшения местного поголовья лошадей орловскими рысаками в нашей стране могла привести к интродукции мутантного аллеля *DMRT3* в отдельные популяции, включая тувинскую лошадь. Разрешить этот непростой вопрос смогут только дальнейшие исследования на уровне полногеномного анализа. В любом случае наличие данной функциональной мутации важно учитывать как при оценке микроэволюции и филогенетических связей пород лошадей, так при разработке стратегии сохранения и совершенствования пород. Генотипирование 71 лошади 10 местных пород по локусу *DMRT3* выявило наличие стоп-мутации в

генетической структуре трех пород: вятской (0,043), мезенской (0,250) и тувинской (0,167), что подтверждает распространение этой мутации в популяциях лошадей разных географических зон Евразии. Наличие мутации *DMRT3* (g.22999655 C>A) у лошадей местных пород может рассматриваться как ценное качество, позволяющее им адаптироваться к самым разным видам спортивных соревнований.

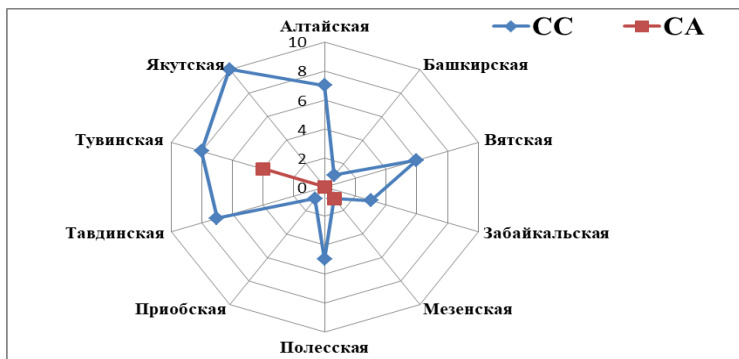


Рисунок 10. Частота встречаемости генотипов *DMRT3* (g.22999655 C>A) у лошадей местных пород

3.7.3. Выявление частоты мутации *GYS1* десяти заводских и местных пород лошадей, вызывающей дефект полисахаридного накопления PSSM1

Миопатия полисахаридного происхождения (PSSM1) обусловлена излишним накопления гликогена в мышцах и кодируется ферментом гликогенсинтазой (*GYS1*). Лошади с мутацией в локусе (*GYS1*) при интенсивной работе часто испытывают боль в мышцах, сильно потеют и скованы в движениях, что в целом сопровождается снижением их работоспособности. Проявление данной мутации, имеющей характер неполного доминирования, во многом зависит от условий содержания и кормления лошадей.

При тестировании 181 головы лошадей разных пород с использованием SNP-маркера гена *GYS1* (g.18940324 G>A), было обнаружено две гомозиготные по данной мутации особи с генотипом AA (1,1%) в русской тяжеловозной породе.

Большинство протестированных лошадей 84% имели генотип GG и 14,9% были гетерозиготными с генотипом GA. Мутация *GYS1* была обнаружена у лошадей башкирской 3,2%, бурятской 10%, вятской 9,5%, советской тяжеловозной 30%, русской тяжеловозной 49,9%.

Максимальное распространение дефекта PSSM1 было выявлено у лошадей першеронской породы 90%.

Частота встречаемости нуклеотидной замены g.18940324 G>A у лошадей десяти разных пород варьировала в интервале 0,016 башкирской до 0,450 першеронской пород (рис. 11).

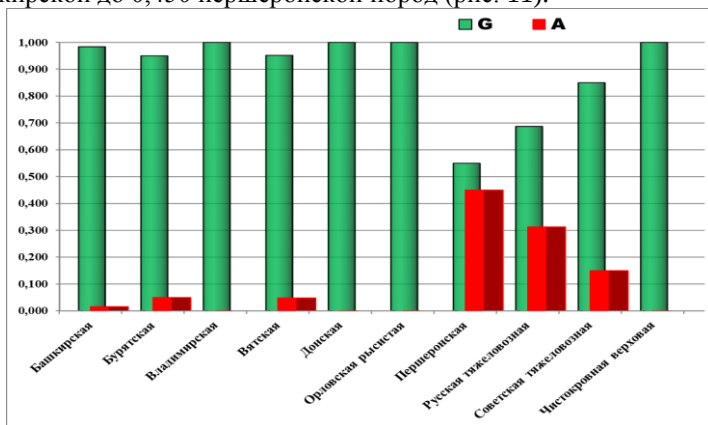


Рисунок 11. Распространение мутации GYS1 g.18940324 G>A у лошадей разных пород

Данная мутация была более характерна для лошадей тяжелоупряжных пород, что отмечают и зарубежные авторы (Herszberg B. et al., 2008; McCue M.E. et al., 2006, 2008). Интересно отметить, что мутация GYS1 не была обнаружена у протестированных нами лошадей владимирской, донской, орловской рысистой и чистокровной верховой пород.

ВЫВОДЫ

1. Проведенные исследования показали, что использование ДНК-маркеров для идентификации, сохранения и развития генетических ресурсов коневодства Российской Федерации является эффективным инструментом практической селекции и представляет существенное теоретическое значение для совершенствования селекционных программ в практике коневодства.

2. Сравнительный анализ полиморфизма 17-ти микросателлитных локусов у лошадей 30 пород, разводимых в нашей стране, показал, что они характеризуются высоким уровнем генетического разнообразия и своеобразным аллелофондом. У лошадей отечественных пород был определен весь спектр стандартных аллелей, зарегистрированных Международным обществом генетики животных (ISAG). Дополнительно в локусах ASB2, ASB17, CA425,

HMS2, HMS6, HMS7, HMS10, HTG6, HTG7, LEX3 и VHL20, были выявлены 16 новых аллелей, не встречающиеся у лошадей Западной Европы.

3. Все изученные породы лошадей имели достаточно высокий уровень полиморфности A_e (3,18-5,197) и степени фактической гетерозиготности H_o (0,631-0,797). Большинство популяций характеризовалось отрицательными значениями F_{is} (-0,038-0,071), свидетельствующими об отсутствии внутрипородного инбридинга.

4. Анализ филогенетических связей отечественных пород лошадей показал их разделение на два четких субкластера, первый из которых объединил лошадей теплокровных пород (верховых и призовых). Основу второго субкластера составила обширная группа местных пород, в него также вошли орловская рысистая и отечественные тяжелоупряжные породы лошадей, которые многие десятилетия использовались в качестве улучшателей.

5. Анализ генетической структуры верховых пород лошадей показал, что чистокровная верховая, буденновская, тракененская и ганноверская породы лошадей образуют общий субкластер с высокими коэффициентами генетического сходства (0,922-0,961). Две старейшие культурные породы лошадей - ахалтекинская и арабская - имели своеобразный спектр аллелей и формировали отдельные ветви.

6. Оценка генетической индивидуальности четырех рысистых пород лошадей выявила обособленность орловского рысака и достаточно близкое генетическое сходство между тремя призовыми породами - американским, русским и французским рысакими (0,935-0,978). Во всех рысистых породах был зарегистрирован достаточно высокий уровень генетического разнообразия ($A_e = 3,457$ -3,810; $H_o = 0,663$ - 0,703) и отсутствие внутрипородного инбридинга ($F_{is} = 0,016$ -0,020).

7. Лошади трех отечественных тяжелоупряжных пород характеризовались достаточно высоким уровнем генетического разнообразия STR-локусов, даже несмотря на малочисленность племенного поголовья. Наиболее высокий коэффициент генетического сходства (0,941) был установлен между русскими и советскими тяжеловозами, тогда как сходство владимирской и советской тяжеловозной пород было минимальным (0,680).

8. Местные породы лошадей отличались высоким уровнем генетического разнообразия и широким спектром аллелей. В 17-ти STR-локусах у них было выявлено 16 новых аллелей, не встречающихся у лошадей заводских пород. Приватные аллели были определены у нескольких пород, включая тувинскую (VHL20S,

HMS6H, ASB23W, ASB17D, ASB17U, ASB17X, ASB17Y, ASB17Z), мезенскую (HMS6J, ASB17X, ASB17Y, LEX3R, LEX3S), алтайскую (HMS1O, ASB17V, ASB17W), бурятскую (HMS2T, HTG6L), приобскую (HMS7S) и якутскую (ASB23R).

9. Матрилинейная структура ДНК многих отечественных пород является вариабельной и уникальной. Помимо 17-ти стандартных групп мтДНК (A-R), она включала еще 8 новых гаплогрупп, которые были выявлены у лошадей донской (S, V, X и Y), бурятской (T, Y, Z), вятской (U и Y) и мезенской (U) пород.

10. В чистокровной верховой, донской и вятской породах лошадей, имеющих сформированную генеалогическую структуру, выявлена четкая дифференциация женских семейств по определённым гаплотипам и гаплогруппам мтДНК. В изученных породах выявлена высокая степень генетической идентичности маточных семейств на уровне 92-100%, что позволяет с помощью анализа мтДНК устанавливать принадлежность лошадей к определенной материнской линии.

11. Генетический мониторинг в чистокровной верховой породе в течение трех десятилетий выявил тенденцию постепенного увеличения коэффициента инбридинга, который сопровождался повышением степени гомозиготности во всех половозрастных группах лошадей. Данная закономерность в целом отражает мировой тренд снижения генетического разнообразия в этой породе, обусловленный как явным доминированием потомков Фэллариса (до 80%), так и строгим отбором лошадей по скаковой работоспособности.

12. Самый высокий уровень генетического разнообразия отечественной популяции чистокровных верховых лошадей наблюдался в конце 90-х годов, при наибольшей численности племенных маток в конных заводах и на племенных фермах. На протяжении последних десятилетий порода стабильно сохраняла свою генетическую структуру и основные популяционные характеристики ($A_e = 3,41-3,51$; $H_o = 0,674-0,686$), даже несмотря на интенсивный импорт лошадей из других стран.

13. Сравнительный анализ чистокровных верховых лошадей разных линий показал, что они различаются между собой по числу аллелей (N_a), уровню полиморфности (A_e) и степени наблюдаемой гетерозиготности (H_o). Достоверные межлинейные различия по частотам встречаемости отдельных аллелей STR-локусов были зарегистрированы практически для всех генеалогических линий. Кластерный анализ подтвердил генетическое сходство современных

родственных линий Northern Dancer, Nasrullah, Mr. Prospector, Nearco, Native Dancer и A.P. Indy, восходящих к Фэлариусу.

14. Анализ связи степени гомозиготности с плодовой деятельностью кобыл показал несущественное и недостоверное влияние этого показателя на деловой выход жеребят ($F=1,23$; $p=0,246$). Более существенной оказалась связь между степенью гомозиготности и числом плодовых лет ($F=6,723$ $p<0,001$).

15. Степень гомозиготности STR-локусов практически не влияла на успех скаковых выступлений лошадей чистокровной верховой породы, коэффициент ранговой корреляции был близок к нулю ($r=0,003$, $p>0.05$). Определена незначительная достоверная взаимосвязь между индексом побед и количеством выступлений лошадей ($r=0,112$, $p<0.05$).

16. Мутация в гене миостатина (*MSTN* g.66493737 T>C), контролирующая формирование мускулатуры, была выявлена практически у всех местных пород лошадей (0,100 - 0,286). Высокая частота встречаемости варианта *MSTN* C была зарегистрирована у лошадей алтайской (0,286) и вятской (0,217) породы.

17. Полиморфизм гена *DMRT3* (g.22999655 C>A) был обнаружен у лошадей местных лесных пород, включая вятскую (0,043), мезенскую (0,250) и у тувинскую (0,167). Наличие мутации гена *DMRT3*, определяющего устойчивость аллюра, может служить базой для получения лошадей с оригинальными движениями, включая иноходь.

18. Однонуклеотидная мутация в гене гликогенсинтазы 1 (*GYS1* g.18940324 G>A), вызывающая аномальное накопление полисахаридов в мышцах, была обнаружена у лошадей башкирской, бурятской, вятской, советской и русской тяжеловозных, а также першеронской пород. Частота встречаемости дефектного аллеля в заводских и местных породах лошадей варьировала от 2,5% до 90%, что свидетельствует о необходимости тестирования лошадей на эту и другие генетические аномалии.

Предложения производству

1. Генетическую паспортизацию пород использовать как базу данных для оценки биологического разнообразия и трендов дальнейших селекционных процессов, а также селекционного совершенствования пород.

2. Использовать гаплотипы митохондриальной ДНК для оценки матрилинейной структуры пород, а также при контроле происхождения лошадей по материнской линии.

3. Регулярно проводить тестирование жеребцов-производителей, а при возможности и всего производящего состава лошадей, по генам, ассоциированным с работоспособностью и другими селекционируемыми признаками.

4. Жеребцов-производителей необходимо своевременно тестировать на наличие генетических породных аномалий, чтобы в дальнейшем избежать накопления генетического груза в популяциях и породах.

**Список научных работ, опубликованных по теме диссертации
в изданиях, индексируемых в международных базах
Web of Science и Scopus**

1.Храброва, Л.А. Оценка генеалогической структуры вятской породы лошадей (*Equus Ferus Caballus*) с использованием анализа ДНК / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина**, Н.Ф. Белоусова, Е.Г. Котран // Генетика. – 2022. - Т. 58, № 4. - С. 457-462.

2.**Blohina, N.V.** Application of modern technologies in identifying distinctive features in the subpopulation of Novoaltaiskaya horses / N.V. Blohina, , L.A. Khrabrova, I.S. Gavrilicheva // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science [this link is disabled](#), 2021, 624(1), 012019

3.Zaitcev, A.M. Assessment of the population structure of horses of the Priobskaya breed based on modern technologies / A.M. Zaitcev, I.S. Gavrilicheva, **N.V. Blohina**, L.A. Khrabrova, N.V. Kokorina // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science [this link is disabled](#), 2021, 624(1), 012032

4.**Blohina, N.V.** Biodiversity and functional variability of the allele pool of horse breed populations / N.V. Blohina, S.I. Sorokin, L.A. Khrabrova, A.A. Zelenchenkova, B.Z. Bazon // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 848 (2021) 012229: doi:10.1088/1755-1315/848/1/012229

5.Khrabrova, L. A. Assessment of mtDNA variability and phylogenetic relationships of Siberian local horse breeds / L.A. Khrabrova, **N.V. Blohina**, R.B. Chysyma, B.Z. Bazon, T.N. Khamiruev // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 839 (2021) 052009: doi:10.1088/1755-1315/839/5/052009

6. Khrabrova, L. A. Variability of mitochondrial DNA D-loop sequences in Zabaikalskaya horse breed / L.A. Khrabrova, **N.V. Blohina**, B.Z. Bazon, T.N. Khamiruev // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2021. Т. 25. №5. С. 486-491.

7.Kalashnikov, V.V. Dynamics of the inbreeding coefficient and homozygosity in Thoroughbred horses in Russia / V.V. Kalashnikov, L.A. Khrabrova, **N.V. Blohina**, A.M. Zaitcev, T.V. Kalashnikova // Animals. 2020. Т. 10. №7. С. 1-10.

8.Khrabrova, L.A. Assessment of line differentiation in the Thoroughbred horse breed using DNA microsatellite loci / L.A. Khrabrova, **N.V. Blohina**, O.I.

Suleymanov, G.A. Rozhdestvenskaya, V.F. Pustovoy // Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019. T. 23. №5. С. 569-574.

9.Khrabrova, L.A. Myostatin gene polymorphism in local horse breeds / L.A. Khrabrova, S.I. Sorokin, **N.V. Blohina**, T.V. Kalashnikova // В сборнике: Modern Trends in Agricultural Production in the World Economy. XVIII International Scientific and Practical Conference "Modern Trends in Agricultural Production in the World Economy". Кемерово, 2020. С. 27-33.

10.Khrabrova, L.A. MtDNA haplotype analysis in dam families of the Thoroughbred riding horses / L.A. Khrabrova, A.M. Zaitsev, L.L. Vikulova, M.V. Adamkovskaya, **N.V. Blohina**, S.I. Sorokin // В сборнике: Modern Trends in Agricultural Production in the World Economy. XVIII International Scientific and Practical Conference "Modern Trends in Agricultural Production in the World Economy". Кемерово, 2020. С. 34-42.

Список научных работ, опубликованных по теме диссертации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

11.Храброва, Л.А. Особенности матрилинейной структуры донской породы лошадей, сформировавшейся в центральном ареале одомашнивания / Л.А. Храброва, А.А. Николаева, **Н.В. Блохина** // Коневодство и конный спорт. 2022. № 1. С. 18-21.

12.Калашников, В.В. Содержание химических элементов в организме чистокровных верховых лошадей в зависимости от их характеристики по локусам ДНК / В.В. Калашников, **Н.В. Блохина** // Коневодство и конный спорт. 2021. № 6. С. 7-9.

13.**Блохина, Н.В.** Влияние степени гомозиготности STR-локусов на плодовитость лошадей чистокровной верховой породы / Н.В. Блохина, А.В. Устьянцева // Генетика и разведение животных. 2021. № 2. С. 22-27.

14.Храброва, Л.А. Генетическая паспортизация хакасской лошади по маркерам ядерной и митохондриальной ДНК / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина**, Ю.Ю. Коломеец, И.С. Гавриличева // Коневодство и конный спорт. 2021. № 6. С. 23-26.

15.Храброва, Л.А. Вариабельность генотипов миостатина (MSTN) у лошадей аборигенных пород / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина**, С.И. Сорокин // Коневодство и конный спорт. 2020. № 1. С. 26-27.

16.**Блохина, Н.В.** Генетическая оценка популяции "мустангов" Мурманской области / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва, И.Б. Юрьева, Н.В. Вдовина, В.А. Трошин // Коневодство и конный спорт. 2020. № 3. С. 16-18.

17.Храброва, Л.А. Структура вятской породы лошадей по гаплогруппам мтДНК / Л.А. Храброва, А.М. Зайцев, В.В. Калашников, **Н.В. Блохина**, Н.Ф. Белоусова, С.И. Сорокин // Коневодство и конный спорт. 2020. № 4. С. 4-6.

18.Зиновьева, С.А. Спектр гаплотипов миостатина (MSTN) у лошадей разных пород / С.А. Зиновьева, Л.А. Храброва, С.И. Сорокин, **Н.В.**

Блохина, А.А. Зеленченкова // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2020. № 3. С. 57-63.

19.Храброва, Л.А. Сравнительная оценка аллелофонда новоалтайской лошади с породами, участвовавшими в ее создании / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина** // Коневодство и конный спорт. 2019. № 4. С. 20-22.

20.**Блохина, Н.В.** Генетическая характеристика линий лошадей владимирской породы / Н.В. Блохина // Коневодство и конный спорт. 2019. № 3. С. 6-8.

21.**Блохина, Н.В.** Характеристика чистокровных верховых жеребцов разных линий по микросателлитным локусам / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва // Генетика и разведение животных. 2019. № 3. С. 11-17.

22.**Блохина, Н.В.** Влияние методов селекции на молекулярно-генетическую структуру лошадей буденновской породы / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва, А.А. Николаева // Генетика и разведение животных. 2019. № 2. С. 97-102.

23.**Блохина, Н.В.** Генетическая характеристика лошадей першеронской породы по полиморфным системам крови и микросателлитам ДНК / Н.В. Блохина, Е.Г. Самандеева, М.А. Царева, Т.И. Орехова, Л.П. Готлиб, А.Б. Дубровская // Коневодство и конный спорт. 2018. № 2. С. 18-20.

24.**Блохина, Н.В.** Мониторинг генофонда лошадей русской тяжелойвозной породы по полиморфным системам крови / Н.В. Блохина, Л.П. Готлиб, Т.И. Орехова, Е.Г. Самандеева, М.А. Царева // Коневодство и конный спорт. 2018. № 1. С. 29.

25.**Блохина, Н.В.** Генетический профиль русской тяжеловозной породы лошадей / Н.В. Блохина, А.М. Зайцев, Л.А. Храброва // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2018. № 3. С. 67-71.

26.Храброва, Л.А. Генетический мониторинг чистокровной верховой породы лошадей по локусам микросателлитов ДНК / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина** // Генетика и разведение животных. 2018. № 3. С. 11-16.

27.**Блохина, Н.В.** Оценка генетического разнообразия микросателлитных локусов у лошадей тяжелоупряжных пород / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва, А.М. Зайцев, И.С. Гавриличева // Генетика и разведение животных. 2018. № 2. С. 39-44.

28.Калашников, В.В. Изучение генетических особенностей и элементного статуса аборигенной тувинской лошади / В.В. Калашников, А.М. Зайцев, Л.В. Калинкова, Т.В. Калашникова, М.М. Атрощенко, **Н.В. Блохина**, Г. Брем // Коневодство и конный спорт. 2017. № 6. С. 23-25.

29.Калинкова, Л.В. Дополнительные возможности изучения внутрипородной структуры лошадей на примере кабардинской породы / Л.В. Калинкова, И.С. Гавриличева, Т.В. Калашникова, **Н.В. Блохина**, В.В. Калашников, А.М. Зайцев, М.М. Атрощенко, А.Д. Хаудов, М.Х. Жекамухов, Х.К. Амшонов, З.А. Коков // Коневодство и конный спорт. 2017. № 3. С. 25-26.

30.Калинкова, Л.В. Результаты генетического тестирования при контроле происхождения лошадей с использованием микро-сателлитных маркеров ДНК / Л.В. Калинкова, **Н.В. Блохина**, И.С. Гавриличева, Т.В. Калашникова // Коневодство и конный спорт. 2017. № 1. С. 32-33.

31.Сорокина, И.И. Оценка генетического разнообразия в советской тяжеловозной породе лошадей / И.И. Сорокина, О.С. Милько, **Н.В. Блохина** // Коневодство и конный спорт. 2016. № 1. С. 13-15.

32.Храброва, Л.А. Генетическая экспертиза происхождения лошадей с применением микросателлитной ДНК / Л.А. Храброва, Л.В. Калинкова, И.С. Гавриличева, **Н.В. Блохина**, Л.П. Готлиб, О.И. Коршунова, Т.И. Орехова, М.А. Царева, Т.В. Калашникова // Коневодство и конный спорт. 2015. № 6. С. 25-27.

33.Храброва, Л.А. Инбридинг и степень гомозиготности микросателлитных локусов у лошадей (*Equus Caballus*) орловской рысистой породы / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина**, А.В. Устьянцева // Сельскохозяйственная биология. 2014. Т. 49. №4. С. 35-41.

34.**Блохина, Н.В.** Молекулярно-генетические особенности субпопуляций лошадей чистокровной верховой породы / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва // Коневодство и конный спорт. 2012. № 4. С. 13-15.

35.Храброва, Л.А. Эффективность контроля происхождения лошадей по полиморфным системам крови и микросателлитам ДНК / Л.А. Храброва, Р.М. Дубровская, Л.В. Калинкова, **Н.В. Блохина**, М.А. Царева // Коневодство и конный спорт. 2012. № 2. С. 7-8.

36.Зайцев А.М. Разработка методических подходов оценки уровня обмена генетическим материалом при анализе генетической структуры орловской рысистой породы по микросателлитам ДНК / А.М. Зайцев, Г.В. Калинкина, М.А. Зайцева, И.С. Гавриличева, **Н.В. Блохина** // Коневодство и конный спорт. 2012. № 5. С. 8-9.

37.Храброва, Л.А. Влияние степени гомозиготности микросателлитных локусов на плодовитость и работоспособность кобыл чистокровной верховой породы / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина** // Коневодство и конный спорт. 2011. № 4. С. 8-9.

38.**Блохина, Н.В.** Межпопуляционная дифференциация лошадей русской тяжеловозной породы / Н.В. Блохина // Коневодство и конный спорт. 2010. № 1. С. 21-24.

39.Храброва, Л.А. ДНК-технологии в селекции лошадей арабской породы / Л.А. Храброва, Л.В. Калинкова, Р.А. Халилов, **Н.В. Блохина**, А.Е. Шемарыкин // Коневодство и конный спорт. 2010. № 6. С. 6-7.

40.**Блохина, Н.В.** Генетические особенности аллелофонда популяции лошадей тяжеловозных пород / Н.В. Блохина // Коневодство и конный спорт. 2009. № 5. С. 14-16.

Публикации в рецензируемых научных изданиях

41.Зайцев, А.М. Исследование популяционно-геномной структуры и характера генетической дивергенции пород лошадей (*EQUUS CABALLUS L.*) / А.М. Зайцев, В.В. Калашников, Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина**, Т.В. Калашникова // В книге: Биотехнология: состояние и перспективы развития. Материалы международного конгресса. Москва, 2021. С. 335-338.

42.Khrabrova, L.A. Occurrence of the DMRT3 Mutation in Native Horse Breeds / L.A. Khrabrova, **N.V. Blohina**, S.I. Sorokin // В сборнике: .2020. С. 126-132. <https://doi.org/10.32743/agri.gl.econ.2020.126-132>

43.**Блохина, Н.В.** Генетическая характеристика лошадей рысистых пород по микросателлитным локусам ДНК / Н.В. Блохина, И.С. Гавриличева // АгроЗooТехника. 2020. Т. 3. № 4. С. 3.

44.**Блохина, Н.В.** Полиморфизм микросателлитных локусов у лошадей буденновской породы / Н.В. Блохина, М.А. Царева, И.С. Гавриличева // В книге: Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и сельскохозяйственной микробиологии. Сборник тезисов докладов 19-ой Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева. Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии». 2019. С. 131-132.

45.Храброва, Л.А. Характеристика генетической структуры печорской лошади по локусам микросателлитов ДНК / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина**, И.С. Гавриличева, И.Б. Юрьева // В сборнике: Современные достижения и актуальные проблемы в коневодстве. Сборник докладов международной научно-практической конференции. 2019. С. 282-287.

46.**Блохина, Н.В.** Анализ генетической структуры новоалтайской породы лошадей с учетом аллелофонда базовых пород / Н.В. Блохина, М.А. Царева // АгроЗooТехника. 2019. Т. 2. № 2. С. 4.

47.**Блохина, Н.В.** Изучение полиморфизма микросателлитных локусов у лошадей першеронской породы / Н.В. Блохина, М.А. Царева, Т.И. Орехова, Л.П. Готлиб // В сборнике: Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии. Сборник тезисов XVIII Всероссийской конференции молодых учёных, посвященной памяти академика РАСХН Георгия Сергеевича Муромцева. 2018. С. 186-187.

48.**Блохина, Н.В.** Генотипирование и контроль происхождения лошадей локальных пород / Н.В. Блохина, Л.П. Готлиб, Т.И. Орехова, М.А. Царева // В сборнике: Аборигенное коневодство России: история, современность, перспективы. Сборник научных трудов по материалам II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Приморский филиал ФГБУН Федерального исследовательского центра комплексного изучения Арктики Российской академии наук

«Архангельский научно-исследовательский институт сельского хозяйства». 2018. С. 43-47.

49. **Блохина, Н.В.** Генетический профиль шетлендских пони по STR-локусам / Н.В. Блохина В сборнике: Достижения молодых ученых - зоотехнической науке и практике. Сборник докладов научно-практической конференции. 2018. С. 89-93.

50. Храброва, Л.А. Влияние инбридинга на гомозиготность лошадей орловской рысистой породы / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина** // Научно-технический бюллетень Института животноводства Национальной академии аграрных наук Украины. 2014. № 111. С. 156-162.

51. **Блохина, Н.В.** Внутрипопуляционная дифференциация лошадей русской тяжеловозной породы по полиморфным белкам и эритроцитарным антигенам // Н.В. Блохина, А.М. Зайцев, Л.А. Храброва // Вестник Рязанского государственного агротехнологического университета им. П.А. Костычева. 2009. № 3. С. 15-19.

Статьи в других изданиях

52. **Блохина, Н.В.** Микросателлитный профиль лошадей тракененской породы / Н.В. Блохина, М.А. Царева, И.С. Гавриличева, Е.Г. Самандеева // В сборнике: Современные тенденции развития естествознания и технических наук. Сборник научных трудов по материалам Международной научно-практической конференции. 2018. С. 93-96.

53. **Блохина, Н.В.** Изучение полиморфизма микросателлитных локусов у лошадей новоалтайской породы / Н.В. Блохина, Л.А. Храброва, И.С. Гавриличева // XIV Международной научно - практической конференции: сб. статей – Пенза: МЦНС «Наука и Просвещение». – 2018. – С.88-91.

54. **Блохина, Н.В.** Изучение полиморфизма микросателлитных локусов у лошадей тракененской породы. Проблемы и перспективы развития животноводства: [Электронный ресурс] материалы Международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию биотехнологического факультета, Витебск, 31 октября - 2 ноября 2018 г. / УО ВГАВМ; редкол. : Н. И. Гавриченко (гл. ред.) [и др.]. – Витебск : ВГАВМ, 2018. – Режим доступа : <http://www.vsavm.by>. свободный. – Загл. с экрана. – Яз. рус., англ. С.121-122.

55. **Блохина, Н.В.** Генетическая структура новоалтайской породы и сравнительная оценка ее с тяжелоупряжными породами лошадей / Н.В. Блохина, М.А. Царева // Интеграция науки и высшего образования, как основа инновационного развития аграрного производства: материалы всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 50-летию юбилею Ярославского научно-исследовательского института животноводства и кормопроизводства – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр кормопроизводства и

агроэкологии имени В.Р. Вильямса», г. Ярославль, 18-20 июня 2019 г.- Ярославль: Канцлер, 2019. С. 25-26. ISBN 978-5-91730-871-5

56. Гавриличева, И.С. Идентификация и паспортизация генотипов лошадей по микросателлитам ДНК / И.С. Гавриличева, **Н.В. Блохина**, Л.А. Храброва, М.А. Царева // Сборник тезисов докладов: «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии»: 17-я Всероссийская молодежная научная конференция (Москва, 6-7 апреля 2017 г., ФГБНУ ВНИИСБ), 2017. С 24-27.

57. Храброва, Л.А. Воспроизводительные качества чистокровных верховых кобыл с разной степенью гетерозиготности микросателлитных локусов / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина** // Теоретические и прикладные аспекты современной науки. 2014. № 6-1. С. 185-187.

Научно-практическое руководство

58. Храброва, Л.А. Руководство по использованию микросателлитов ДНК при генотипической оценке лошадей / Л.А. Храброва, **Н.В. Блохина**. – Дивово. 2012. – 20 с.

Свидетельство о государственной регистрации баз данных

59. Калашников, В.В. "Результаты иммуногенетического анализа лошадей" для проведения контроля достоверности происхождения и популяционно-генетического анализа / В.В. Калашников, В.А. Подобаев, Л.В. Калинкова, А.М. Зайцев, Л.А. Храброва, Д.А. Салин, Т.В. Калашникова, Л.П. Готлиб, О.И. Коршунова, Т.И. Орехова, **Н.В. Блохина**, И.С. Гавриличева // Свидетельство о регистрации базы данных RU 2016620649, 23.05.2016. Заявка № 2016620413 от 06.04.2016.

60. Калашников, В.В. "Результаты молекулярно-генетического анализа лошадей" для проведения контроля достоверности происхождения и популяционно-генетического анализа / В.В. Калашников, В.А. Подобаев, Л.В. Калинкова, А.М. Зайцев, Л.А. Храброва, Д.А. Салин, И.С. Гавриличева, **Н.В. Блохина** // Свидетельство о регистрации базы данных RU 2016621345, 03.10.2016. Заявка № 2016620396 от 05.04.2016.

Подписано в печать 24.02.2022г. Зак. № 2326
Объем 2,75 п.л. Тираж 100 экз.
Полиграфия «А1-формат», г. Рязань, ул. Крупской, д. 27