

УДК 636.2.082.12:575.17:591.11

DOI:10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2022.3.63-73

ОСОБЕННОСТИ ИММУНО-ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СТАТУСА И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ ПОПУЛЯЦИЙ АВТОХТОННОГО ЯКУТСКОГО СКОТА

¹Филиппова Н.П., ²Девришов Д.А., ³Корякина Л.П., ²Марзанова С.Н.,
⁴Павлова Н.И., ⁵Степанов Н.П. ¹Мордовской Н.Н.,
Григорьева Н.Н., ⁶Марзанов Н.С.

¹Сахаагроплем, Якутск, Республика Саха (Якутия); Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии-им. К.И. Скрябина; ³Арктический государственный агротехнологический университет, Якутск, ⁴Якутский научный центр комплексных медицинских проблем; ⁵СХПК им. И.Я. Строда, Амгинский улус, село Абага, Республика Саха (Якутия); ⁶ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Подольск-Дубровицы Московской области, Российская Федерация

Автохтонный (местный, коренной) якутский скот относится к наиболее старинным породам крупного рогатого скота не только в России, но в значительной степени и мира. Признаком высоких адаптивных качеств автохтонного якутского скота является хорошо развитый пищеварительный тракт, приспособленный к переработке большого количества малопитательного и объемистого грубого корма. Цель данного исследования - изучение клинико-иммунологических параметров и особенностей генетического статуса у автохтонного якутского скота. Объект исследования – якутский скот из двух генофондных Республики Саха (n=97). Кровь для лабораторных исследований брали у животных из яремной вены в разные периоды года в утренние часы до кормления. Определяли содержание общего белка и белковых фракций в сыворотке крови, фагоцитарную активность (ФА) и фагоцитарный индекс (ФИ). с учётом сезона года. В зимний период отмечено повышение ФА по сравнению с весенним (P<0,05) и летним (P<0,05) периодами. Максимально высокие значения ФИ отмечены в летний период. Содержание гемоглобина в крови, количество эритроцитов и лейкоцитов в зимний период выше, чем весенний и летний периоды. В зимний период у якутского скота усиливается синтез γ -глобулинов, Повышение уровня иммуноглобулинов и показателей клеточного состава крови в зимний период свидетельствуют о высоком уровне адаптации животных к воздействию неблагоприятных природно-климатических факторов. Методом ДНК-анализа у якутского скота определены генотипы и аллели по 15 микросателлитным локусам: ETH3, CSSM66, INRA23, BM1818, ILSTS6, TGLA227, TGLA126, TGLA122, SPS115, ETH225, TGLA53, CSRM60, BM2113, BM1824, ETH10 (n=97); выявлено от 2 до 9 аллельных вариантов на локус. Установлены различия по количеству и распределению частот встречаемости у якутского скота, разводимого в разных районах республики. У 9 из 15 микросателлитных локусов выявлен высокий уровень гетерозиготности ДНК – от 0,6 до 0,8. Наименьшая гетерозиготность выявлена у локусов SPS115 – (0,351) и BM1818 – (0,381). Уровень наблюдаемой гетерозиготности в исследованных популяциях выше ожидаемой, т.е. система случайного скрещивания преобладает над инбридингом. Обсуждаются проблемы сохранения уникального якутского скота при разведении в жёстких условиях окружающей среды.

Ключевые слова: автохтонный якутский скот, клеточный состав крови, белковые фракции, фагоцитарная активность, микросателлиты, полиморфизм.

Проблемы биологии продуктивных животных, 2022, 3: 63-73.

Введение

Скотоводство является традиционным занятием народов Якутии, испокон веков, занимавшихся разведением уникального якутского скота (Иванов, 1974; Горохов, 2005; Абрамов, 2017). Находясь в экстремальных природно-климатических условиях, якуты вывели прекрасно адаптированный скот, создали уникальную скотоводческую культуру на Крайнем Севере, включая зону Арктики. Якутский скот отличается неприхотливостью, минимальной потребностью в кормах, высоким содержанием жира в молоке и питательностью мяса (Попов и др., 2013).

Ещё первые русские казаки-землепроходцы и исследователи Якутского края в XII веке (Гмелин, 1752; Миддендорф, 1878; Маак, 1887) отмечали, что жители Якутского края имеют многочисленные стада крупного рогатого скота и табуны лошадей (Хомподоева, 2004). В работах первых исследователей якутского скота была дана характеристика некоторых адаптивных и продуктивных качеств аборигенного якутского скота, при этом авторы обратили особое внимание на исключительную устойчивость животных к холоду и на особенности их телосложения (Чугунов, 1993).

Якутский скот характеризуется небольшим ростом (высота в холке в среднем 109 см), бочкообразной формой туловища, короткими ногами, оброслостью туловища и вымени, носовое зеркало черного цвета, голова небольшая, широколобая, малая ширина междурожья (9,6 см). Характерной особенностью экстерьера является относительно длинное туловище, грудь глубокая и сравнительно узкая, что указывает на хорошие мясные стати и способность к откорму. Тип телосложения якутского скота характерен для животных мясомолочного направления. В популяции преобладают пёстрые животные с характерными типами пегости (Иванова, 1997).

В начале XX века поголовье крупного рогатого скота у якутов в четыре раза превышало поголовье лошадей и к 1917 году составляло 482 тыс. голов (Попов и др., 2013). В 1928 году поголовье якутского скота составляло 555 тыс. (Атласов, 1992), Начиная с 1932 г. в целях повышения продуктивности началось массовое скрещивание якутского скота с холмогорской и симментальской породами.

Одним из адаптивных качеств якутского скота является хорошо развитый пищеварительный тракт, прекрасно приспособленный к переработке большого количества малопитательного и объемистого грубого корма. Бочкообразная форма туловища связана с большим объемом преджелудков и значительно развитым тонким отделом кишечника (в среднем его длина составляет 58,5 м). В отличие от других пород, длина кишечника у якутских коров превышает косую длину туловища в 40 раз, у якутско-симментальских помесей – в 36 раз, якутско-холмогорских – в 23 раза (Хомподоева, 2004).

В преджелудках у автохтонного якутского скота обнаружено 6 видов инфузорий. При этом симбиофауна у якутских коров характеризуется высокой частотой встречаемости крупных целлюлозолитических офриосколецидов, таких как *Epidinium ecaudatum cattaneoli* (32% от общего числа инфузорий), *Epidinium ecaudatum caudatum* (22%) и *Ostracodinium dentatum* (18%). Следует отметить, что эти виды офриосколецидов являются специфическими для якутского скота. Установлено также, у якутского скота значительно развита физическая терморегуляция - при низких температурах воздуха резко снижается температура кожи, сокращается объем легочной вентиляции, понижается уровень обмена веществ (Владимиров и др., 2007; Чугунов, 1993).

Проблема сохранения генофонда местного крупного рогатого скота за последние годы резко обострилась, поскольку он вытесняется высокопродуктивными черно-пестрой и голштинской породами. При этом игнорируются многие положительные качества местных пород, такие как устойчивость к болезням, высокая плодовитость, хороший материнский инстинкт, долговечность, адаптированность к природно-климатическим условиям среды и т.д. К настоящему времени исчезли такие малочисленные породы, как местная сибирская, печорская комолая, бурятская, северная карельская комолая. К исчезающим породам относится и якутский скот (Гурьев, Заровняев, 2010). Следует отметить, что, благодаря наличию в Китае бурятского скота, его завезли в Россию, точно также, как эдильбаевскую породу овец из Казахстана. Аналогичная ситуация по многим другим видам и породам животных. В последние годы на территории Российской Федерации преобладает

евро-американская селекция. Это касается как самих приёмов селекционной работы, так и разводимых животных.

Генетическая структура популяций якутского скота была изучена по частотам антигенов групп крови (Черкашенко, 1984; Алексеева, Иванова, 1989; Иванова, 1997). В результате исследований выявлен широкий спектр распространения эритроцитарных антигенов в популяции местного якутского скота, а также характерные для них особенности в различных системах групп крови.

Открытие микросателлитных последовательностей генома, имеющих очень высокий уровень полиморфизма, стало новым этапом генетической оценки сельскохозяйственных животных (Калашникова и др., 2000; Ovaska, 2017). Согласно базы данных INRA (Франция), у крупного рогатого скота выявлено 2402 микросателлитных локусов, из них 2244 картированы на всех 30 парах хромосом (Киселёва и др., 2010).

Характеристика состояния аллелофонда и установление уровня генетического разнообразия в популяциях сельскохозяйственных животных с помощью маркирующих систем является, с одной стороны, подготовительной основой для выбора селекционной стратегии, а, с другой стороны, важным этапом описания и консервации имеющихся генетических ресурсов. Местные породы могут обладать присущими только им комбинациями аллелей и быть важным резервом генетической вариабельности для коммерческих пород домашних животных. Очевидно, что такие аллели должны быть обнаружены, сохранены и использованы в селекционной работе (Grzybowski, Prusak, 2004; Li Meng-Hua et al., 2007; Bruford et al., 2015; Boettcher et al., 2015).

Цель исследования – изучение клинико-иммунологических параметров и особенностей генетического статуса у автохтонного якутского скота.

Материал и методы

Объект исследования – якутский скот (n=97) из двух генофондных хозяйств-филиалов ГБУ Сахаагроплем Онхой Верхне-Вилуйского района и Кылыс Горного района (n=48) Республики Саха (n=49). Кровь для лабораторных исследований и постановки опсонофагоцитарной реакции брали у животных из яремной вены в одно и то же время суток – в утренние часы до кормления. Определение фагоцитарной активности микрофагов (нейтрофилов) основано на определении в условиях *in vitro* способности нейтрофилов периферической крови поглощать микробные клетки. При определении фагоцитарной активности нейтрофилов *in vitro* в качестве тест-культуры использовали суточную культуру белого стафилококка (*Staphylococcus albus*).

Комплексная оценка фагоцитоза проводилась по фагоцитарной активности (ФА) и фагоцитарному индексу (ФИ). Фагоцитарная активность – это процент фагоцитирующих нейтрофилов к общему числу подсчитанных клеток; фагоцитарный индекс – число поглощённых микробных клеток в пересчёте на один нейтрофил, от общего количества подсчитанных нейтрофилов. На скошенный агар провели посев культуры белого стафилококка. Пробирки поместили на 1 сутки в термостат при 37°C, затем суточную культуру тест-микроба смывали стерильным физиологическим раствором. Бактериальную суспензию стандартизировали на ФЭК с использованием зелёного фильтра до 0,25 Ед плотности, что соответствует содержанию 500 микробных тел в 1 мл суспензии. В лунки специальной пластины, используемой в серологической диагностике, вносили по 0,2 мл исследуемой пробы крови с антикоагулянтом, после чего пластину ставили в термостат на 30 минут. По истечению времени брали из термостата пластину, избегая перемешивания, отбирали небольшое количество и помещали на предметное стекло. Готовили толстые мазки, окрашивали их по Романовскому-Гимзе. Оценка реакции проводили с помощью микроскопа при объективе $\times 90$ и окуляре $\times 15$ под иммерсией, учитывая не менее 50 фагоцитировавших нейтрофилов (Смирнов П.Н., ред.). Оценка естественной резистентности сельскохозяйственных животных. Новосибирск, 2010. 32 с.).

Гематологические исследования проводили на автоматическом анализаторе Medonic СА 530, определяли общее количество эритроцитов и лейкоцитов, содержание гемоглобина в крови. Анализатор автоматический, комплектован Российским реагентом марки ЮНИ-ГЕМ.

Исследования уровня белковых фракций в сыворотке крови проводили в электрофоретической камере УНИФО по методу, рекомендованному для иммуноглобулинов (Чекищев В.М. Количественное определение иммуноглобулинов в сыворотке крови. Новосибирск, 1997).

Образцы цельной крови якутского скота ($n=97$) были отобраны в стерильные пробирки с антикоагулянтом K_3 ЭДТА. ДНК выделяли фенол-хлороформным методом (Калашникова и др., 1999). Качество образцов ДНК оценивали на спектрофотометре NanoPhotometer N50 по соотношению поглощения при длинах волн 260 и 280 нм (A_{260}/A_{280}). Концентрации образцов доводили до 20 нг/мкл разведением в $1 \times$ ТЕ-буфере.

Микросателлитный анализ проводили с помощью мультиплексного ПЦР-анализа 15-ти локусов, содержащих короткие tandemные повторы (STR) набором COrDIS Cattle (ООО Гордиз, г. Москва) содержащим 15 микросателлитных маркеров: ETH3, INRA023, TGLA227, TGLA126, TGLA122, SPS115, ETH225, TGLA53, BM2113, BM1824, ETH10, BM1818, CSSM66, ILSTS006 и CSRM60 (табл. 1).

Генотипирование 15 микросателлитных последовательностей методом ПЦР проводили в конечном объеме 25 мкл: в каждую пробирку вносили 19 мкл деионизированной воды, 5 мкл активатора, 1 мкл исследуемой геномной ДНК в количестве 2 нг. С каждой серией исследуемых образцов ставился один положительный контроль (1 мкл контрольной ДНК, поставляемый с набором) и один отрицательный контроль (деионизированная вода вместо ДНК). Анализ результатов ПЦР проводился методом капиллярного электрофореза с использованием автоматического генетического анализатора Нанофор-05 (ООО «НПФ Синтол», Москва) с лазериндуцированной флуоресцентной детекцией.

Таблица 1. Описание микросателлитных маркеров COrDIS Cattle

Локусы	Хромосомная локализация	Тип повтора	Структура единицы повтора
BM1824	D1S34	простой	(GT) n
BM2113	D2S26	простой	(CA) n
CSRM60	D10S5	простой	(AC) n
CSSM66	D14S31	простой	(AC) n
ETH3	D19S2	сложный	(GT) n AC(GT)6
ETH10	D5S3	простой	(AC) n
ETH225	D9S2	сложный	(TG)4CG(TG)(CA) n
ILSTS006	D7S8	простой	(GT) n
SPS115	D15	сложный	(CA) n TA(CA)6
INRA023	D3S10	простой	(AC) n
TGLA53	D16S3	сложный	(TG)6CG(TG)4(TA) n
TGLA122	D21S6	сложный	(AC) n (AT) n
TGLA126	D20S1	простой	(TG) n
TGLA227	D18S1	простой	(TG) n
BM1818	D23S21	простой	(TG) n

Для идентификации аллелей микросателлитных локусов использовали программу GeneMapper ID 3.2. Каждый локус оценивали по числу аллелей, уровню наблюдаемой гетерозиготности – H_o , коэффициенту инбридинга – F_{is} и индексу полиморфной информативности – PIC . Характеристику внутривидового полиморфизма проводили по общему числу выявленных аллелей, среднему числу аллелей на локус, числу эффективных аллелей, информационному индексу Шенонна, уровню наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности, коэффициенту инбридинга – F_{is} .

При статистической обработке генетических данных использовали программное обеспечение GenAlEx (v.6.5) (Peakall et al., 2012).

Результаты и обсуждение

Якутский скот (*Bos taurus turano-mongolicus*) относится к малочисленным породам сельскохозяйственных животных. Не обладая высокой продуктивностью, якутский автохтонный скот проявляет высокую устойчивость к крайне тяжелым экологическим условиям, в которых формировался годами (Винокурова и др., 2017).

В Республике Саха (Якутия) якутский скот разводится в одиннадцати районах – Эвено-Бытантайском, Амгинском, Намском, Горном, Таттинском, Чурапчинском, Мегино-Кангаласском, Хангаласском, Сунтарском, Жиганском и Оймяконском. С 2011 до 2015 г.г. отмечались незначительные колебания по численности общего поголовья и коров якутского скота; за последующие три года отмечена положительная динамика роста общего поголовья, что было обусловлено заинтересованностью руководства Республики Саха (Якутия) о возрождении уникальной местной породы крупного рогатого скота, востребованностью населения Республики Саха (Якутия) в получении качественной молочной и мясной продукции для изготовления традиционных блюд. В настоящее время в разных местах Республики Саха (Якутия) создаются этнографические кафе, у населения возрождается интерес к высококалорийным местным продуктам питания.

Результаты гематологических исследований якутского скота свидетельствуют о том, что показатели крови варьировали в зависимости от сезона года в пределах: количество эритроцитов – $6,3-7,5 \times 10^{12}/л$, количество лейкоцитов – $7,3-8,4 \times 10^9/л$, содержание гемоглобина в крови – 111-119 г/л (табл. 2).

Таблица 2. Сезонная динамика гематологических показателей якутского скота ($M \pm m$, $n=97$)

Показатели	Сезоны года			
	осень ₁	зима ₂	весна ₃	лето ₄
Эритроциты, $10^{12}/л$	$7,8 \pm 1,1$	$7,5 \pm 0,2$	$6,3 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,2$
Гемоглобин, г/л***	$118,0 \pm 0,1$	$119,0 \pm 0,3$	$111,0 \pm 0,4$	$113,0 \pm 0,3$
Лейкоциты, $10^9/л$	$7,6 \pm 0,9$	$8,4 \pm 1,2$	$7,8 \pm 1,0$	$7,3 \pm 0,9$

Примечание: *** $P_{(1-3)} < 0,001$; $P_{(2-3)} < 0,001$; $P_{(2-4)} < 0,001$ по t - критерию при сравнении с осенним, весенним и летним периодами года.

Установлено, что в осенне-зимний стойловый период отмечается наиболее высокое содержание в крови гемоглобина, количества эритроцитов и лейкоцитов, по сравнению с другими сезонами года. В зимний период содержание гемоглобина, количество эритроцитов и лейкоцитов в крови на 9,3, 5,0 и 13%, соответственно, выше, чем в весенний и летний периоды. В весенний период содержание гемоглобина и количество эритроцитов в крови были минимальными, что обусловлено, прежде всего, физиологическим состоянием коров – глубокой стельностью.

Полученные данные подтверждаются результатами исследований других авторов, что свидетельствует о повышенной адаптации якутского скота к экстремальным условиям среды (Слепцов, Васильев, 1969; Васильев, Слепцов, 1972; Слепцов, 1994).

Для оценки физиологического состояния якутских коров было проведено исследование динамики содержания общего белка и белковых фракций в сыворотке крови с учётом сезона года (табл. 3). Установлено, что содержание общего белка и уровень белковых фракций в сыворотке крови у якутского скота изменяется в зависимости от сезона года. Так, показатели по общему белку были в летний период на 8%, выше, чем в весенний период. По альбуминам значения в весенний период были выше на 9 и 18%, по сравнению с зимним и летним сезонами, соответственно.

Таблица 3. Содержание общего белка и белковых фракций в сыворотке крови с учётом сезона года ($M \pm m$, $n=97$)

Показатели	Сезоны года		
	зима	весна	лето
Общий белок, г/л	68,3 $\pm$ 3,4	63,6 $\pm$ 2,9	69,0 $\pm$ 5,4
альбумины, %	31,0 $\pm$ 3,4	34,0 $\pm$ 5,8	28,0 $\pm$ 4,6
α_1 - глобулин, %	4,0 $\pm$ 0,2	6,0 $\pm$ 1,6	6,0 $\pm$ 2,3
α_2 - глобулин, %	5,0 $\pm$ 0,3	8,0 $\pm$ 1,1	8,0 $\pm$ 1,9
β - глобулин, %	15,0 $\pm$ 2,6	14,0 $\pm$ 3,5	15,0 $\pm$ 4,4
γ_1 - глобулин, %	16,0 $\pm$ 1,5	19,0 $\pm$ 3,9	21,0 $\pm$ 2,1
γ_2 - глобулин, %	29,0 $\pm$ 4,1	21,0 $\pm$ 2,7	22,0 $\pm$ 3,4

Иммунологическими исследованиями показано, что якутский скот характеризуется стабильно высокими показателями опсонофагоцитарной реакции (ОФР), что свидетельствует о высоких адаптационных способностях организма. Так, фагоцитарная активность (ФА) нейтрофилов периферической крови у якутского скота составляет в среднем 86% и в зависимости от сезона варьирует в диапазоне от 82 до 91%. В зимний период характерно повышение ФА на 5% ($P < 0,05$) по сравнению с весенним и на 10% ($P < 0,05$) по сравнению с летним периодом. При этом фагоцитарный индекс (ФИ) составлял в среднем 9,2, а его максимально высокие значения отмечены в летнее время (на 17% выше, по сравнению с зимним сезоном).

По 15 микросателлитным локусам ядерной ДНК определены генотипы и аллели у 97 животных якутского скота двух хозяйств: ETH3, CSSM66, INRA23, BM1818, ILSTS6, TGLA227, TGLA126, TGLA122, SPS115, ETH225, TGLA53, CSRM60, BM2113, BM1824, ETH10 (табл. 4).

Различия во внутривидовой структуре якутского скота выявлены по 15 микросателлитным локусам. Всего у исследованных особей было идентифицировано 75 аллелей, из них 61 (81%) встречаются у животных, разводимых в разных районах Якутии, и по 14 (19%) аллелям имеются различия.

Таблица 4. Характеристика якутского скота по 15 микросателлитным локусам

Локус	Номер хромосомы	Длина локуса, п.н.	Максимальное число аллелей	Наблюдаемая гетерозиготность	F_{is}	PIC
BM1824	1	178-188	3	0,392	- 0,077	0,327
BM2113	2	125-139	5	0,722	- 0,059	0,627
ETH10	5	213-225	5	0,588	- 0,042	0,514
ETH225	9	144-188	5	0,649	0,052	0,645
ETH3	19	115-127	5	0,619	0,058	0,589
INRA023	3	206-214	3	0,474	0,008	0,393
BM1818	23	262-266	2	0,381	0,115	0,338
CSSM66	14	179-187	4	0,567	0,128	0,579
ILSTS006	7	288-298	6	0,814	- 0,091	0,712
TGLA227	18	77-97	7	0,814	- 0,050	0,742
TGLA126	20	115-123	5	0,639	0,107	0,666
TGLA122	21	141-177	6	0,701	- 0,008	0,657
CSRM60	10	92-108	7	0,649	- 0,071	0,558
TGLA53	16	158-188	9	0,711	- 0,086	0,629
SPS115	15	248-262	5	0,351	- 0,170	0,272

Примечание: F_{is} – коэффициент, отражающий дефицит или избыток гетерозигот в популяции.

Результаты показали, что индекс полиморфной информативности (polymorphism information content, PIC) по 11 из 15 локусов превышает значение 0,5, что свидетельствует о высокой информативной ценности локусов для выявления генетических различий между отдельными особями и группами животных. Наибольший PIC имели локусы TGLA 227 (0,742) и ILSTS006

(0,712). Наименьшее значение индекса полиморфной информативности отмечали у локуса SPS 115 – 0,272. Число аллелей на локус варьировало от 2 (BM1818) до 9 (TAGLA53).

Исследование показателей гетерозиготности по 15 микросателлитным локусам показало наличие высокого уровня гетерозиготности для 9 из 15 локусов. Низкий уровень гетерозиготности отмечается у локусов SPS115 (0,351), BM1818 (0,381), BM1824 (0,392) и INRA23 (0,474). Наибольшее значение степени гетерозиготности у якутского скота выявлены для локусов TGLA 227 и ILSTS006, которые имеют равное значение - 0,814.

Сравнительная генетическая характеристика по полиморфизму 15 микросателлитных локусов якутского скота, разводимого в разных районах Якутии представлена в табл. 5.

Таблица 5. Генетическая характеристика микросателлитных локусов якутского скота, разводимого в разных хозяйствах

Показатели	Районы	
	Верхне-Вилуйский (n=49)	Горный (n=48)
Общее число аллелей	64	72
Среднее число аллелей на локус	4,4±0,4	4,9±0,3
Число эффективных аллелей	2,88±0,26	2,56±0,19
Информационный индекс Шенонна	1,14±0,094	1,10±0,09
Уровень наблюдаемой гетерозиготности (H_o)	0,62±0,04	0,60±0,03
Уровень ожидаемой гетерозиготности (H_e)	0,61±0,04	0,59±0,03
PIС (индекс полиморфной информативности)	0,57±0,04	0,54±0,04
Fis – коэффициент инбридинга	- 0,03±0,02	- 0,02±0,03

Наибольшее число аллелей имеют животные Горного района (n=72), у них среднее число аллелей на локус составило 4,9±0,3. У якутского скота (n=64) Верхне-Вилуйского района они имеют значения 4,4±0,4. Несмотря на это, у якутского скота Верхне-Вилуйского района показатель эффективного числа аллелей имеет наибольшее значение (2,88±0,26), чем у животных Горного района (2,56±0,19). Средний показатель информативности (PIС) у якутского скота Верхне-Вилуйского района составляет 0,566±0,043, а Горного района - 0,542±0,042. Оба показателя превышают значение 0,5, что свидетельствует о высокой информативной ценности микросателлитных локусов.

Уровень наблюдаемой гетерозиготности выше у якутского скота Верхне-Вилуйского района (H_o =0,624±0,042), чем у животных Горного района (H_o =0,605±0,029). В целом, в двух хозяйствах уровень наблюдаемой гетерозиготности в исследованных популяциях выше ожидаемой, т.е. система случайного скрещивания преобладает над инбридингом.

У якутского скота степень гетерозиготности варьирует, так в Верхне-Вилуйском районе он составил от 0,265 (SPS115) до 0,857 (ILSTS6), в Горном – от 0,333 (BM1824) до 0,813 (TAGLA227) (рис. 1). Недостаток гетерозигот наблюдается у якутского скота Верхне-Вилуйского района по локусам CSSM66, TAGLA122, ETH225, CSRM60 и ETH10, в Горном – по локусам ETH3, CSSM66, INRA23, TAGLA126 и ETH225.

Информационный индекс Шенонна, характеризующий генетическое разнообразие, имеет низкое значение в двух изучаемых популяциях якутского скота: в Верхне-Вилуйском (1,14) и Горном (1,1) районах, что говорит о закрытости породы и необходимости постоянного ухода от инбридинга.

В исследуемых хозяйствах наблюдаемая гетерозиготность популяции выше ожидаемой, т.е. система случайного скрещивания преобладает над инбридингом, что подтверждается отрицательным значением Fis (- 0,035±0,024; - 0,022±0,030).

Таким образом, в настоящее время проблема сохранения генетических ресурсов малочисленных пород стала одной из самых актуальных в мире. Для сохранения генетической изменчивости и их эффективного использования предложены различные приемы. Так, по данным ФАО, при разделении популяций на субпопуляции, обменивающиеся между собой единичными

особями, например, быками, устойчивость системы существенно повышается, и потери аллелей в те же сроки, что и в случае не подразделенной популяции, не происходит (Столповский, Захаров-Гезехус, 2017).

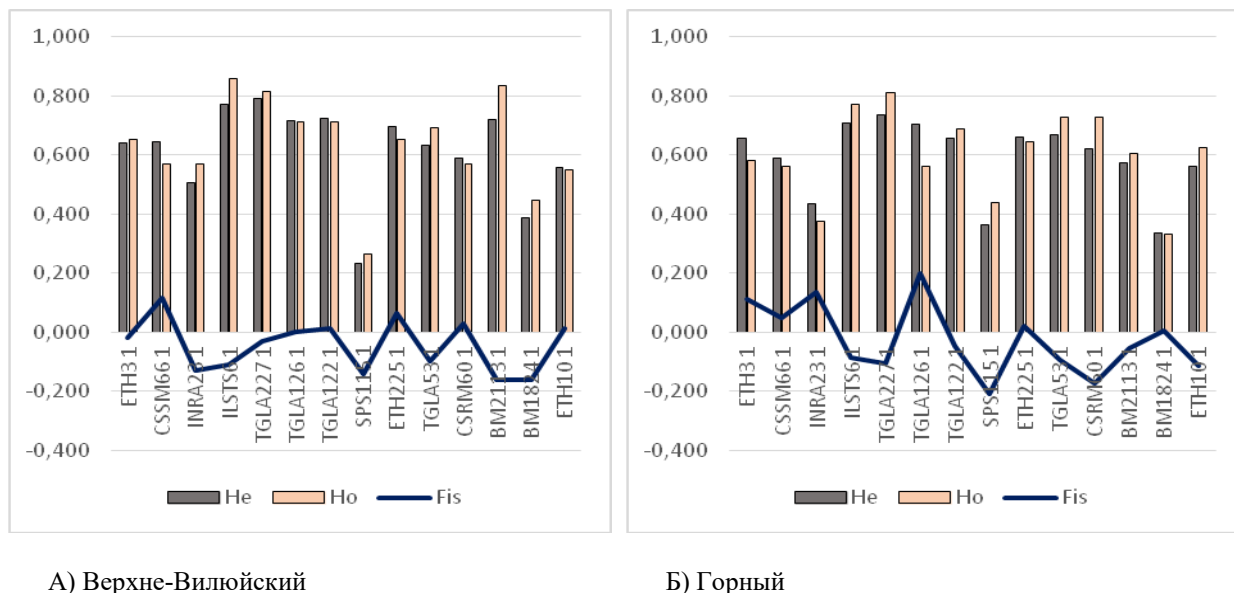


Рис. 1. Уровень ожидаемой (H_e), наблюдаемой (H_o) гетерозиготности и коэффициент инбридинга (F_{is}) у якутского скота, разводимого в разных районах: А) Верхне-Виллюйский; Б) Горный.

Проведена первая аттестация животных по 15 микросателлитным локусам. У якутского скота Верхне-Виллюйского района отмечено нарушение генетического равновесия по двум локусам: CSRM60 ($\chi^2=35,98$; $df=10$; $P<0,05$) и BM2113 ($\chi^2=29,09$; $df=10$; $P<0,05$); в то же время у животных Горного района только по локусу BM2113 ($\chi^2=41,36$; $df=10$; $P<0,05$). Микросателлитный анализ якутского скота по 15 локусам выявил 75 аллелей, при этом число аллелей на локус варьировало от 2 (BM1818) до 9 (TAGLA53). Показан высокий уровень гетерозиготности для 9 из 15 локусов. Наибольший уровень гетерозиготности был выявлен для локусов TGLA 227 и ILSTS6, он имел одинаковые значения и был равен 0,814.

Заключение

Автохтонный якутский скот обладает специфической системой адаптации к экстремальным природно-климатическим условиям – устойчивостью к холоду. В зимне-стойловый период отмечается повышенное содержание в крови гемоглобина, количества эритроцитов и лейкоцитов, в сравнении с весенним и летним периодами. Высокая адаптивная способность организма якутского скота, подтверждается результатами опсонофагоцитарной реакции. Биологические особенности автохтонного якутского скота свидетельствуют о его уникальности.

Благодаря принятым мерам государственной поддержки, за последние годы наблюдается положительная динамика роста поголовья якутского скота. Одним из путей сохранения местных локальных пород является создание закрытых генофондных стад. В экстремальных погодных условиях Республики Саха (Якутии) эффективным способом сохранения генофонда якутского скота является метод разделения популяции на субпопуляции с возможностью обмена единичными особями, что позволяет значительно повысить устойчивость генетической системы и снизить риск потери редких аллелей. Поэтому, в селекционной работе необходимо дополнительно использование принципов генетического мониторинга, уделяя особое внимание сохранению редких аллелей.

Список литературы

1. Абрамов А.Ф. Прошлое и будущее якутской породы скота. Якутск, 2017. 40 с.
2. Алексеева П.Е., Иванова З.И. Генетический полиморфизм эритроцитарных антигенов якутского скота. // Доклады ВАСХНИЛ. 1989. №7. С. 29-31.
3. Атласов С.В. История развития скотоводства и коневодства в Якутии (1917-1928 гг.). Якутск: Якут. науч. центр СО РАН, 1992. 150 с.
4. Васильев И.С., Слепцов М.К. Глутатион крови якутских телят. // В сб.: Биологические и медицинские проблемы Севера. Якутск: ЯФ СО АН СССР, 1972. С. 106-107.
5. Винокурова У.А., Заровняев С.И., Михайлова Е.А. Правовое регулирование и использование генофонда аборигенного якутского скота в Республике Саха (Якутия). // Вопросы Российского и международного права. 2017. Том 7. № 9А. С. 158-170.
6. Владимиров Л.Н., Корякина Л.П., Григорьева Н.Н., Мачахтыров Г.Н. Эндобионтные инфузории северных животных. Якутск: ЯГУ, 2007. 105 с.
7. Горохов Н.И. Проблемы совершенствования молочного скота в условиях Республики Саха (Якутия). Автореф. дисс.... д.б.н., Новосибирск, 2005. 38 с.
8. Гурьев И.П., Заровняев С.И. Работа по сохранению генофонда якутского скота. // Зоотехния. 2010. № 3. С. 2-3.
9. Иванов В.Ф. Историко-этнографическое изучение Якутии XVII - XVIII вв. М.: Наука, 1974. 286 с.
10. Иванова З.И. Генофонд антигенов крови крупного рогатого скота Якутии. Новосибирск: Сиб. отд. Якут. гос. с.-х. акад., 1997. 149 с.
11. Калашникова Л.А., Дунин И.М., Глазко В.И., Рыжова Н.В. ДНК - технологии оценки сельскохозяйственных животных. Лесные поляны (Моск. обл.): ВНИИплем, 1999. 147 с.
12. Калашникова Л.А., Дунин И.М., Глазко В.И. Селекция XXI века: использование ДНК-технологий. Лесные Поляны (Моск. обл.): ВНИИплем, 2000. 31 с.
13. Киселева Т.Ю., Подоба Б.Е., Заблудовский Е.Е., Терлецкий В.П., Воробьев Н.И., Кантанен Ю. Анализ 30 микросателлитных маркеров у шести локальных популяций крупного рогатого скота. // Сельскохозяйственная биология. 2010. № 4. С. 20-25.
14. Моисеева И.Г., Уханов С.В., Столповский Ю.А., Сулимова Г.Е., Каштанов С.Н. Генофонды сельскохозяйственных животных: генетические ресурсы животноводства России (ред. И.А. Захаров). М.: Наука, 2006. 466 с.
15. Попов Р.Г., Бравина Р.И., Заровняев С.И., Осипова Г.Н. Саха Ынага – дар предков. Якутск: Бичик, 2013. 176 с.
16. Слепцов М.К., Васильев И.С. О фетальном типе гемоглобина аборигенного скота Якутии. В сб.: II Всесоюз. биохим. съезда. Секция 23). Ташкент, 1969. С. 37-38.
17. Слепцов М.К. Стратегия адаптации животных Севера. В сб.: Механизмы адаптации организмов Севера. – Якутск, 1994. С. 3-4.
18. Столповский Ю.А., Захаров-Гезехус И.А. Проблема сохранения генофондов domesticiрованных животных. // Вавиловский журнал генетики и селекции, 2017. Т. 21. № 4. С. 477-486; <https://doi.org/10.18699/VJ17.266>.
19. Хомподоева У.В. Мясная продуктивность чистопородных холмогорских, якутских и помесных бычков-кастратов в условиях Центральной Якутии. Автореф.... дисс. к.с.-х.н. Якутск, 2004. 19 с.
20. Черкащенко В.И. Генетические особенности крупного рогатого скота турано-монгольской группы по полиморфным системам крови в связи с сохранением генофонда. Автореф. дисс... к.б.н. Ленинград–Петербург, 1984. 32 с.
21. Чугунов А.В. Адаптация крупного рогатого скота в условиях Крайнего Севера. Якутск: Изд-во ЯГУ, 1993. 64 с.
22. Boettcher P.J., Hoffmann I., Baumung R., Drucker A.G., McManus C., Berg P., Stella A., Nilsen L.B., Moran D., Naves M., Thomson M.C. Genetic resources and genomics for adaptation of livestock to climate change. // Frontiers in Genetics. 2015. Vol. 5. Article 461. doi: 10.3389/fgene.2014.00461.
23. Bruford M.W., Ginja C., Hoffmann I. et al. Prospects and challenges for the conservation of farm animal genomic resources, 2015-2025. // Frontiers in Genetics. 2015. Vol. 6. Article 314. doi: 10.3389/fgene.2015.00314.
24. Grzybowski G., Prusak B. Genetic variation in nine European cattle breeds as determined on the basis of microsatellite markers. III. Genetic integrity of the Polish Red cattle included in the breeds preservation programmes. // Anim.l Sci. Pap. Rep. 2004. Vol. 22. nr 1. P. 45-46.
25. Li Meng-Hua, Tapio I., Vilkki J., Ivanova Z., Kiselyova T., Marzanov N., Cinkulov M., Stojanović S., Ammosov I., Popov R., Kantanen J. The genetic structure of cattle populations (*Bos taurus*) in northern Eurasia and the neighbouring Near Eastern regions: implications for breeding strategies and conservation. // Mol. Ecol. 2007. Vol. 16. nr 18. P. 3839-3853. doi: 10.1111/j.1365-294X.2007.03437.x.
26. Ovaska U. Genes, Gastronomy and Gratitude. The development and future of the conservation of native breeds. Acad. diss. Tampere University Press. Tampere. Finland, 2017. 172 p.

27. Peakall R., Smouse P.E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. // *Bioinformatics*, 2012. Vol. 28. P. 2537-2539. doi: 10.1093/bioinformatics/bts460.
28. Weldenegodguad M., Popov R., Pokharel K., Ammosov I., Yao Ming, Ivanova Z., Kantanen J. Whole-genome sequencing of three native cattle breeds originating from the northernmost cattle farming regions. // *Front. Genet.* 2019. Vol. 9, P. 728. doi: 10.3389/fgene.2018.00728.
29. Yurchenko A.A., Daetwyler H.D., Yudin N., Schnabel R.D., Vander Jagt Ch.J., Soloshenko V., Lhasaranov B., Popov R., Taylor J.F., Larkin D.M. Scans for signatures of selection in Russian cattle breed genomes reveal new candidate genes for environmental adaptation and acclimation. // *Sci. Rep.* 2018. Vol. 8. nr 1. P. 12984. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31304-w>.

References (for publications in Russian)

1. Abramov A.F. *Proshloe i budushchee yakutskoy porody skota* (Past and future of the Yakut breed of cattle). Yakutsk, 2017. 40 p.
2. Alekseeva P.E., Ivanova Z.I. [Genetic polymorphism of erythrocyte antigens of Yakut cattle]. *Doklady VASKhNIL - Reports of VASKhNIL*. 1989. 7: 29-31.
3. Atlasov S.V. *Istoria razvitiya skotovodstva i konevodstva v Yakutii (1917-1928)*. Yakutsk (The history of the development of cattle breeding and horse breeding in Yakutia). Yakutsk: Yak. Sci. Cent., 1992. 150 p.
4. Cherkashchenko V.I. *Geneticheskie osobennosti krupnogo rogatogo skota turano-mongolskoy gruppy po polimorfnykh sistemam krovi v svyazi s sohraneniem genofonda*. (Genetic features of cattle of the Turano-Mongolian group according to polymorphic blood systems in connection with the preservation of the gene pool). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Biol. Leningrad-Petersburg, 1984. 32 p.
5. Chugunov A.V. *Adaptatsiya krupnogo rogatogo skota v usloviyakh Kraynego Severa* (Adaptation of cattle in the far North). Yakutsk: YaGU Publ., 1993. 64 p.
6. Gorokhov N.I. *Problemy sovershenstvovaniya molochnogo skota v usloviyakh Respubliki Saha (Yakutiya)* [Problems of improvement of dairy cattle in the conditions of the Republic of Sakha (Yakutia)]. Extended Abstract of Diss. Dr. Sci. Biol. Novosibirsk, 2005. 38 p.
7. Guriev I.P., Zarovnyaev S.I. [Work on the conservation of the Yakut cattle gene pool]. *Zootechniya - Zootechnics*. 2010. 3: 2-3.
8. Hompodoeva U.V. *Myasnaya produktivnost' chistopородnykh kholmogorskiykh, yakutskikh i pomesnykh bychkov-kastratov v usloviyakh Tsentral'noi Yakutii* (Meat productivity of purebred Kholmogor, Yakut and crossbred bull-calves in the conditions of Central Yakutia). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Biol. Yakutsk, 2004. 19 p.
9. Ivanov V.F. *Istoriiko-etnograficheskoe izucheniye Yakutii XVII - XVIII vv.* (Historical and ethnographic study of Yakutia XVII-XVIII centuries). Moscow: Nauka Publ., 1974. 286 p.
10. Ivanova Z.I. *Genofond antigenov krovi krupnogo rogatogo skota Yakutii* (The gene pool of the antigens of the blood of cattle Yakutia). Novosibirsk: Sib. Dep, Yakut. Agr. Acad., 1997. 149 p.
11. Kalashnikova L.A., Dunin I.M., Glazko V.I. et al. *DNK - tekhnologii ocenki sel'skokozyajstvennykh zhivotnykh* (DNA-technology of farm animals evaluation). Lesnye Poliany: VNIIPlem Publ., 1999. 147 p.
12. Kalashnikova L.A., Dunin I.M., Glazko V.I. *Selekcija XXI veka: ispol'zovanie DNK-tekhnologii* (Breeding of the XXI century: the use of DNA technology). Lesnye Polyany: VNIIPlem Publ., 2000. 31 p.
13. Kiseleva T.YU., Podoba B.E., Zabludovskiy E.E., Terletsky V.P., Vorobieov N.I., Kantanen J. [Analysis of 30 microsatellite markers in six local populations of cattle]. *Sel'skokozyajstvennaya biologiya - Agricultural Biology*. 2010. 4: 20-25.
14. Moiseeva I.G., Ukhanov S.V., Stolpovsky Yu.A., Sulimova G.E., Kashtanov S.N. *Genofondy sel'skokhoziastvennykh zhivotnykh: geneticheskie resursy zhivotnovodstva Rossii*. [Farm animal gene pools: livestock genetic resources in Russia] (Ed. I.A. Zakharov). Moscow: Nauka Publ., 2006. 466 p.
15. Popov R.G., Bravina R.I., Zarovnyaev S.I., Osipova G.N., Filippova I.A. *Saha Ynaga – dar predkov* (Sakha Unaga - the gift of ancestors). Yakutsk: Bichik Publ., 2013. 176 p.
16. Sleptsov M.K., Vasiliev I.S. [On the fetal type of hemoglobin in native cattle of Yakutia]. In: *Proc. of II All-Union. biochem. congress. Section 23*. Tashkent, 1969. P. 37-38.
17. Sleptsov M.K. [Adaptation strategy for animals of the North]. In: *Mechanisms of Adaptation of the Organisms of the North*. Yakutsk, 1994. P. 34.
18. Stolpovskiy Yu.A., Zaharov-Gezekhus I.A. [The problem of conservation of gene pools of domesticated animals]. *Vavilovskiy Zhurnal Genetiki i Selekcii. – Vavilov Journal of Genetics and Plant Breeding*. 2017. 21(4): 477-486.
19. Vasiliev I.S., Sleptsov M.K. [Blood glutathione of Yakut calves]. In: *Biological and medical problems of the North*. Yakutsk: Yak. Sib. Dep. AS USSR, 1972. P. 106-107.

20. Vinokurova U.A., Zarovnyaev S.I., Mikhailova E.A. [Legal regulation and use of gene pool of aboriginal Yakut cattle in the Republic of Sakha (Yakutia)]. *Voprosy rossiiskogo i mezhdunarodnogo prava - Matters of Russian and International Law*. 2017. 7 (9A): 158-170.
21. Vladimirov L.N., Koryakina L.P., Grigor'eva N.N., Machahtyrov G.N. *Endobiontnye infuzorii severnykh zhivotnykh* (Endobiont ciliates Northern animals). Yakutsk: YSU Publ., 2007. 105 p.

UDC 636.2.082.12:575.17:591.11

Features of the immuno-physiological status and molecular-genetic parameters of the autochthonic Yakut cattle populations

¹Filippova N.P., ²Devrishov D.A., ³Koryakina L.P., ²Marzanova S.N., ⁴Pavlova N.I.,
⁵Stepanov N.P. ¹Mordovskoy Ayferkuy sha N.N., ³Grigoryeva N.N., ⁶Marzanov N.S.

¹Sakhaagrobrem, Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia); ²Moscow Scriabin State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology; ³Arctic State Agrotechnological University, Yakutsk; ⁴Yakutsk Scientific Center for Complex Medical Problems; ⁵Stroda ShPK, Amginsky ulus, Abaga village, Republic Sakha (Yakutia); ⁶Ernst VIZh, Podolsk-Dubrovitsy, Moscow obl'st, Russian Federation

ABSTRACT. Autochthonous Yakut cattle is one of the oldest breeds of cattle not only in Russia, but to a large extent in the world. A sign of the high adaptive qualities of autochthonous Yakut cattle is a well-developed digestive tract, adapted to the processing of a large amount of low-nutrient and bulky roughage. The purpose of this study is to study clinical and immunological parameters and features of the genetic status in autochthonous Yakut cattle. The object of the study is Yakut cattle from two gene pool farms-branches of the Sakhaagroplem Onkhai, Verkhne-Vilyui region of the Republic of Sakha (n=49) and Kylys of the Gorny region (n=48). Blood for laboratory studies was taken from the jugular vein of animals in different periods of the year in the morning before feeding. The content of total protein and protein fractions in blood serum, phagocytic activity (FA) and phagocytic index (PI) were determined. according to the season of the year. In the winter period, an increase in FA was noted compared to the spring (P<0.05) and summer periods (P<0.05). the highest FI values were noted in the summer period. The content of hemoglobin in the blood, the number of erythrocytes and leukocytes in winter is higher than in spring and summer. In winter, the synthesis of α -globulins in Yakut cattle increases. An increase in the level of immunoglobulins and indicators of the cellular composition of blood in winter indicates a high level of adaptation of animals to the effects of adverse natural and climatic factors. Genotypes and alleles of 15 microsatellite loci were determined in Yakut cattle by DNA analysis: ETH3, CSSM66, INRA23, BM1818, ILSTS6, TGLA227, TGLA126, TGLA122, SPS115, ETH225, TGLA53, CSRM60, BM2113, BM1824, ETH10 (n=97); 2 to 9 allelic variants per locus were identified. Differences have been established in the number and distribution of frequencies of occurrence in Yakut cattle bred in different regions of the republic. In 9 out of 15 microsatellite loci, a high level of DNA heterozygosity was found - from 0.6 to 0.8. The lowest heterozygosity was found in loci SPS115 – (0.351) and BM1818 – (0.381). The problems of preserving the unique Yakut cattle during breeding in harsh environmental conditions are discussed.

Keywords: autochthonous Yakut cattle, cellular blood composition, phagocytic activity, microsatellites, polymorphism.

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh - Productive Animal Biology, 2022, 3: 63-73.

Поступило в редакцию: 26.08.2022. Получено после доработки: 13.09.2022.

Сведения об авторах:

Филиппова Наталья Павловна, к.б.н., доц., с.н.с.; 8 914 303-43-95; inniah1970@list.ru
Девришов Давуд Абдулсемедрович, д.б.н., проф., член-корр. РАН; +7-985-288-64-22, davud@agrovet.ru
Корякина Лена Прокопьевна – к.в.н., доц.; 8 924 360-81-67; lena.koryakina@inbox.ru
Марзанова Саида Нурбиевна, к.б.н., доц.; 8 916 948-00-47; s.marzanova@mail.ru
Степанов Николай Прокопьевич, к.с.-х.н.; 8 964 415-74-05; nikprok74@mail.ru
Павлова Надежда Ивановна, к.б.н.; 8 914 289-39-36; Solnishko_84@inbox.ru
Мордовской Нургун Николаевич, зав. отд.; 8 914 272-84-85; mordovskoi@mail.ru
Григорьева Наталья Николаевна, к.б.н., доц.; 8 914 108-58-86; nataliag@mail.ru
Марзанов Нурбий Сафарбиевич, д.б.н., проф., г.н.с.; 8 915 353-45-72; nmarzanov@yandex.ru