

КОНТРОЛЬ ГЕТЕРОЗИГОТНОСТИ С ПРИМЕНЕНИЕМ ДНК-МАРКЕРОВ У СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

Контроль гетерозиготности у сельскохозяйственных видов животных

Д.В. Попов*¹, Г.Ю. Косовский¹, В.И. Глазко^{1,2}, Т.Т. Глазко^{1,2}

¹ФГБНУ «Научно – исследовательский институт пушного звероводства и кролиководства имени В.А. Афанасьева»

Россия, 140143, Московская обл., Раменский район, пос. Родники, ул. Трудовая, д. 6.

*e-mail: niipzk@mail.ru

²Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»

Россия, 127434, Москва, ул. Тимирязевская, д. 49

При ведении племенной работы и составлении селекционных программ нужно учитывать как положительные эффекты от выбранной системы разведения, как правило, направленной на повышение продуктивности, так и возможные негативные стороны. Уже сегодня отмечается, что интенсивные технологии, ограниченность племенного материала приводят к возникновению нежелательных проявлений в целых отраслях сельскохозяйственного животноводства. Огомозигочивание неблагоприятных рецессивных аллелей обуславливает такие негативные моменты, как гибель, снижение воспроизводства, различные генетически детерминированные заболевания, в частности, такие, как SVM синдром, бета-маннозидоз. В этой связи важным направлением является разработка методов подбора пар животных, способствующих относительно повышенной гетерозиготности потомства. С этой целью выполнен поиск наиболее полиморфных и универсальных вариантов ДНК-маркеров для использования в дальнейшем при подборе животных в селекционном процессе, чтобы исключить из воспроизводства родительские группы, близкие по генетическим структурам. Выполнена оценка полиморфизма геномных фрагментов, фланкированных инвертированными повторами наиболее полиморфных геномных элементов – участков микросателлитов (ISSR-PCR маркеры) и фрагментов ретротранспозонов (IRAP-PCR маркеры) у двух сельскохозяйственных видов, крупного рогатого скота и домашнего кролика. Полученные данные позволили обнаружить сходство полиморфизма ISSR-PCR маркеров у обоих видов, но выраженные отличия по полиморфизму IRAP-PCR маркерам. Оказалось, что наибольшая гетерозиготность у кроликов и крупного рогатого скота характерна для спектра геномных фрагментов праймера (СТС)₆C (ISSR-PCR маркеры). У кроликов высока гетерозиготность спектров, полученных при использовании в качестве праймеров фрагментов ретротранспозонов Berv-LTR-K и LTR-sire-1. Это позволяет рекомендовать в селекционном процессе анализ рассмотренных спектров у родительских групп для предупреждения повышения огомозигоченности в потомстве.

Ключевые слова: гетерозиготность, полимеразная цепная реакция, полиморфное информационное содержание, ДНК-маркеры, микросателлиты, ретротранспозоны.

Переход на интенсивные технологии в сельскохозяйственном животноводстве, неконтролируемое применение инбредных систем в разведении сельскохозяйственных видов животных привело к образованию более или менее изолированных совокупностей стад используемого поголовья. Такие субпопуляции, как правило, могут быть различными по своей численности, иметь разные системы разведения, но быть достаточно закрытыми, с низкой вероятностью обмена генетическим материалом. Длительное

применение систем отбора по признакам продуктивности при ведении селекционной работы приводит к огомозигочиванию поголовья и несёт в себе угрозу проявления инбредных депрессий [1,2,3]. Наглядным примером последствий современного этапа селекционной работы являются известное распространение гибели животных, снижение их воспроизводства от огомозигочивания ключевых генов, ассоциированных с различными заболеваниями, такими, как гены фертильности у крупного рогатого скота голштинской

породы, в том числе и SVM синдрома, бета-маннозидозов [4,5,6,7]. Большое количество рецессивных аллельных вариантов по разным генам, огомозиготивание которых приводит к неблагоприятным последствиям, описано у многих сельскохозяйственных видов, в том числе и у домашнего кролика.

В отдельных ведущих отраслях сельскохозяйственного животноводства ограниченность использования племенного материала уже сегодня привела к снижению показателей фертильности у коммерческих пород сельскохозяйственных видов, так, в молочном животноводстве отмечается высокая частота бесплодия в связи с огомозиготиванием неблагоприятных рецессивных мутаций [4]. При близкородственных скрещиваниях повышается уровень заболеваний репродуктивных органов, негативных проявлений в виде ановуляции, увеличения сервис-периода и различных регуляторных физиологических нарушений в начале лактации [7,8]. При этом отмечается, что пагубные последствия от этих проявлений выходят за рамки этого периода, влияя на последующие биологические процессы, такие как зачатие, ранняя эмбриональная смертность и гибель плода [7,8].

Таким образом, ограниченность популяционно-генетического разнообразия животных сельскохозяйственных видов, вовлекаемых в племенную работу, неизбежно приводит к проявлению обозначенных рисков и требует необходимость контроля генетической структуры поголовья, включённого в селекционные программы. Одним из важных критериев остаётся определение его генетической изменчивости.

На сегодняшний день разработаны и широко применяются различные ДНК-маркеры полиморфизма геномов и геномных участков. Благодаря полногеномному секвенированию известно, что геном млекопитающих почти наполовину состоит из транспозонов или фрагментов их рекомбинаций, в частности, у крупного рогатого скота на 48%, у кролика – на 43%, по данным Repeat Masker Genomic Datasets [9]. Высоко полиморфные, но короткие последовательности микросателлитов занимают существенно меньшее количество нуклеотидов в геномах разных видов млекопитающих, примерно 1,2– 2,0%. Генотипирование множества таких локусов позволяет оценить, в общем, ожидаемую гетерозиготность в связи с распространенностью и высо-

ким полиморфизмом этих геномных элементов. Они являются одними из лучших кандидатов, отвечающих требованиям метода мультилокусного генотипирования, благодаря их многокопийности и относительно высокому уровню полиморфизма в геномах. Основанные на них методы оценок полиморфизма фрагментов геномной ДНК, фланкированных инвертированными повторами либо микросателлитов (ISSR-PCR – Inter-Simple Sequence repeat; PCR – polymerase chain reaction), либо участков эндогенных ретровирусов (IRAP-PCR – Inter Retrotransposon Amplified Polymorphism) [10, 11, 12], широко используются для генотипирования многих растительных и животных организмов [13, 14, 15]. Для оценки гетерозиготности получаемых полилокусных спектров используют такой показатель, как усредненные значения полиморфного информационного содержания (Polymorphic Information Content – PIC).

С целью поиска наиболее полиморфных и универсальных вариантов таких маркеров в настоящем исследовании выполнена оценка полиморфизма ISSR-PCR и IRAP-PCR маркеров у двух сельскохозяйственных видов, крупного рогатого скота и домашнего кролика, для исключения из воспроизводства родительских групп, близких по генетическим структурам, при подборе животных в селекционном процессе.

Материалы и методы исследований

Биообразцы и выделение ДНК

В работе использовали образцы ДНК, выделенные из цельной крови следующих видов и пород животных:

Кролики – кросс Родник (n=10); Калифорнийская (n=10); Белый великан (n=10); Советская шиншилла (n=10);

Крупный рогатый скот – Голштинизированная черно-пестрая (n=11); Эстонская красная (n=13); Айрширская (n=11); Казахская белоголовая (n=10).

Из всех образцов цельной крови геномная ДНК была экстрагирована набором «М-сорб» («Синтол», Россия). Концентрацию ДНК определяли визуально по маркеру (GeneRuler DNA Ladder 100bp, Thermo Scientific) после электрофоретического разделения в 1% агарозном геле в 1x трис-ацетатном (ТАЕ) буфере (40 mM Tris, 1 mM EDTA, 20 mM CH₃COOH) после окрашивания бромистым этидием (10 мг/мл) при по-

стоянном напряжении 135 В 40 минут. Гель фотографировали и анализировали под ультрафиолетовыми лучами в системе гель-документации Quantum-ST4 (Vilber Lourmat, Франция).

Полилокусное генотипирование по ISSR и IRAP-маркерам

В качестве праймеров были использованы тринуклеотидные последовательности ДНК, фланкированные инвертированными повторами микросателлитов – (CTC)₆C, (GAG)₆C и (ACC)₆G, а также фрагменты длинных концевых повторов эндогенных ретровирусов – Berv-LTR-K1 и LTR-sire-1.

Последовательность праймера (CTC)₆C: 5'-CTC-CTC-CTC-CTC-CTC-CTC-C-3'

Последовательность праймера (GAG)₆C: 5'-GAG-GAG-GAG-GAG-GAG-GAG-C-3'

Последовательность праймера (ACC)₆G: 5'-ACC-ACC-ACC-ACC-ACC-ACC-G-3'

Последовательность праймера Berv-LTR-K1: 5'-GGA-CCT-TCT-CCT-TCA-AGG-C-3'

Последовательность праймера LTR-sire-1: 5'-GCA-GTT-ATG-CAA-GTG-GGA-TCA-GCA-3'

Полимеразная цепная реакция (PCR) проводилась на амплификаторе Swift Maxi (Esco, Сингапур) с применением наборов HS-Taq Polymerase dNTP («Евроген», Россия) и ПЦР-РВ («Синтол», Россия), по программе, указанной в таблице 1.

Реакционная смесь для амплификации на приборе Swift Maxi объемом 20 мкл содержала 5 нг/мкл ДНК-матрицы, смесь dNTP (содержащую 1мМ каждого нуклеотида), 0,5 ед. активности HS-Taq-полимеразы в соответствующем 10 x ПЦР буфере и 10 мкМ праймера.

Проведение электрофореза в агарозном геле

Фракционирование продуктов амплификации проводили в 1,5% агарозном геле при постоянном напряжении 135 В 100-120 минут. Для при-

готовления геля использовалась BioGrade агароза компании Helicon – 1,5 грамм и 100 мл 1-X TBE буфера. Раствор агарозы окрашивался 10 мкл бромистого этидия. Гель фотографировали и анализировали под ультрафиолетовыми лучами в системе фотогельдокументации Quantum-ST4 (Vilber Lourmat, Франция). Размеры фрагментов ДНК определяли при помощи маркера молекулярных масс 100 bp+1.5 Kb+3 Kb (12 фрагментов от 100 до 3000 bp) M27 (СибЭнзим, Россия).

Статистическая обработка результатов исследования

На основе полученных ISSR- и IRAP-профилей были составлены бинарные матрицы для каждого праймера отдельно и общие матрицы для ISSR-маркеров и IRAP-маркеров, отображающие присутствие, либо отсутствие конкретного продукта амплификации (ампликона). Бинарные матрицы использованы для вычисления значения полиморфного информационного содержания (Polymorphic Information Content – PIC). Полиморфное информационное содержание было вычислено по формуле:

$$PIC = 2f(1-f), (1)$$

где f – частота одного из двух аллелей, рассчитанная как $f = \sqrt{R}$, где R – частота вариантов, у которых отсутствовал фрагмент ДНК соответствующей длины (гомозиготы по «рецессивному» аллелю).

Для статистической обработки данных полилокусного генотипирования использовали программы Microsoft Office Excel.

Результаты исследований и обсуждение

Результаты, полученные при расчёте информационного полиморфного содержания (PIC) по ISSR-маркерам исследуемых пород кроликов и крупного рогатого скота, представлены в таблице 2.

Таблица 1. Температурная программа для амплификации на приборе Swift Maxi
Table 1. Temperature program for amplification on the Swift Maxi

| Этап/ Stage | Количество циклов/ Number of cycles | Температура/ Temperature | Время (мин:сек)/ Time (min:sec) |
|----------------|--|-----------------------------|------------------------------------|
| I | 1 | 95 °C | 2:00 |
| II | 40 | 94 °C | 0:15/0:20 |
| | | 55 °C | 0:15/0:20 |
| | | 72 °C | 2:00 |
| III | 1 | 72 °C | 2:00 |

Показано, что для исследованных пород кроликов наивысшие показатели PIC выявлены в спектрах продуктов амплификации (ампликонов) праймера (CTC)₆C и варьировали в пределах от 0,172 до 0,347, по сравнению с другими рассмотренными микросателлитами. По двум другим ISSR маркерам значения данного показателя не превышали 0,155, за исключением праймера (GAG)₆C для породы белый великан (PIC=0,223). Таким образом, можно предположить, что праймер (CTC)₆C является высокополиморфным для кроликов, не проявляя четкой породной дифференциации, и его возможно использовать как унифицированный маркер для расчета ожидаемой гетерозиготности у кроликов при ведении селекционной работы на исследуемых породах.

В тоже время показатели полиморфного информационного содержания исследованных ISSR-маркеров у исследованных пород крупного рогатого скота также были наивысшими по спектрам ампликонов праймера (CTC)₆C и варьировали в диапазоне значений от 0,092 до 0,300. Однако относительно эстонской красной породы крупного рогатого скота наивысшее значение PIC выявлено в спектрах праймера (GAG)₆C и составило 0,223. Таким образом, как и у изученных пород кроликов, праймер (CTC)₆C для исследованных пород крупного рогатого скота также может послужить унифицированным маркером для расчета ожидаемой гетерозиготности, за исключением эстонской красной породы коров.

Рассчитав средние значения полиморфного информационного содержания среди всех исследуемых пород кроликов и крупного рогатого скота (рис. 1) по таким молекулярно-генетическим маркерам как микросателлиты, можно отметить, что эти виды животных имеют наивысший полиморфизм по праймеру (CTC)₆C. Следует обратить внимание, что различия между кроликами и КРС по ISSR-праймерам являются минимальными, однако, по маркеру (ACC)₆G среднее PIC выше у КРС, при сравнении с кроликами.

Показатели, полученные при изучении полиморфного информационного содержания IRAP-маркеров у представленных пород кроликов и крупного рогатого скота, представлены в таблице 3. Значения по спектрам ампликонов IRAP-праймера Berv-LTR-K у исследуемых пород кроликов составили 0,475 у породы Белый великан и 0,425 у породы Калифорнийская, 0,392 у кросса Родник и наименьшее значение 0,188 выявлено у породы Советская шиншилла. В то же время, значения PIC спектров ампликонов IRAP-праймера LTR-sire-1 у исследованных пород кроликов оказались относительно менее полиморфными и отмечались в диапазоне 0,341-0,382.

У представленных пород крупного рогатого скота показатели полиморфного информационного содержания по исследуемым IRAP-маркерам были существенно ниже, чем у кроликов и их значения относительно праймера Berv-LTR-K

Таблица 2. Полиморфное информационное содержание по ISSR-маркерам у крупного рогатого скота и кроликов
Table 2. Polymorphic information content by ISSR-markers in cattle and rabbits

| Порода/ Breed | Праймер/Primer | | |
|--|----------------------|----------------------|----------------------|
| | (ACC) ₆ G | (CTC) ₆ C | (GAG) ₆ C |
| | PIC _{cp} | PIC _{cp} | PIC _{cp} |
| Кролики/ Rabbits | | | |
| <i>кросс Родник / cross Rodnik</i> | 0,134 | 0,210 | 0,113 |
| <i>Калифорнийская / California</i> | 0,122 | 0,172 | 0,125 |
| <i>Белый великан White giant</i> | 0,134 | 0,278 | 0,223 |
| <i>Советская шиншилла / Soviet chinchilla</i> | 0,148 | 0,347 | 0,155 |
| Крупный рогатый скот/Cattle | | | |
| <i>Голшт. ч-н / Holsteinized black spotted</i> | 0,154 | 0,210 | 0,085 |
| <i>Эстонская красная / Estonian red</i> | 0,105 | 0,190 | 0,223 |
| <i>Айрширская / Ayrshire</i> | 0,075 | 0,092 | 0,080 |
| <i>Казахская белоголовая / Kazakh white-headed</i> | 0,280 | 0,300 | 0,187 |

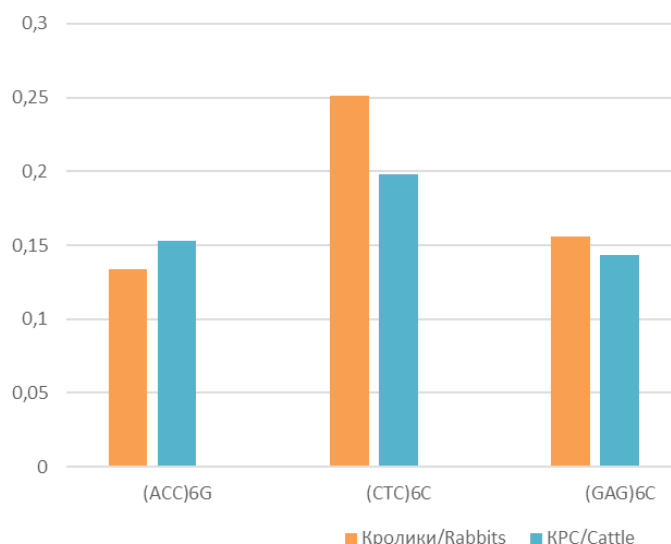


Рисунок 1. Значения PIC_{cp} по ISSR-маркерам кроликов и крупного рогатого скота
Figure 1. The average PIC values by ISSR-markers in rabbits and cattle

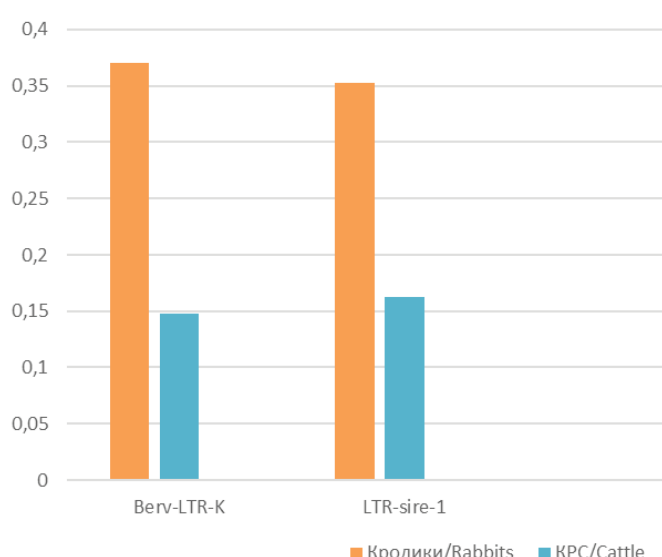


Рисунок 2. Значения PIC_{cp} по IRAP-маркерам кроликов и крупного рогатого скота
Figure 2. The average PIC values for IRAP-markers in rabbits and cattle

отмечались в диапазоне 0,093-0,165 и праймера LTR-sire-1 – в диапазоне 0,124-0,214.

Средние показатели информационного полиморфного содержания представлены на рисунке 2. Значения гистограммы показывают, что изученные IRAP-маркеры более полиморфны в геномах пород кроликов, чем у исследованных пород крупного рогатого скота.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности использования

для прогноза потенциальной гетерозиготности таких показателей, как полиморфное информационное содержание спектров продуктов амплификации, полученных при применении в качестве праймеров в полимеразной цепной реакции таких последовательностей, как $(CTC)_6C$ у пород крупного рогатого скота и кроликов, а только для кроликов еще и фрагментов ретротранспозонов Berv-LTR-K и LTR-sire-1. Для предупреждения повышения огомозиготности в потомстве

Таблица 3. Полиморфное информационное содержание (PIC) по IRAP-маркерам у крупного рогатого скота и кроликов

Table 3. Polymorphic information content (PIC) by IRAP-markers in cattle and rabbits

| Порода/Breed | Праймер/Primer | |
|--|----------------|------------|
| | Berv-LTR-K | LTR-sire-1 |
| | PIC_{cp} | PIC_{cp} |
| Кролики/ Rabbits | | |
| <i>кросс Родник / cross Rodnik</i> | 0,392 | 0,344 |
| <i>Калифорнийская / California</i> | 0,425 | 0,382 |
| <i>Белый великан / White giant</i> | 0,475 | 0,341 |
| <i>Советская шиншилла / Soviet chinchilla</i> | 0,188 | 0,347 |
| Крупный рогатый скот / Cattle | | |
| <i>Голшт. ч-п / Holsteinized black spotted</i> | 0,118 | 0,124 |
| <i>Эстонская красная / Estonian red</i> | 0,147 | 0,176 |
| <i>Айрширская / Ayrshire</i> | 0,093 | 0,214 |
| <i>Казахская белоголовая / Kazakh white-headed</i> | 0,165 | 0,140 |

целесообразно индивидуальное сравнение спектров ампликонов этих праймеров у родительских групп.

Список литературы

- Ghoreishifar SM, Moradi-Shahrbabak H, Parna N, Davoudi P, Khansefid M. Linkage disequilibrium and within-breed genetic diversity in Iranian Zandi sheep. *Arch Anim Breed.* 2019 Apr 2;62(1):143-151. doi: 10.5194/aab-62-143-2019. PMID: 31807624; PMCID: PMC6852851.
- Hajhosseinlo A, Nejati-Javaremi A, Miraei-Ashtiani SR. Genetic structure analysis in several populations of cattle using SNP genotypes. *Anim Biotechnol.* 2021 Sep 30:1-13. doi: 10.1080/10495398.2021.1960360. Epub ahead of print. PMID: 34591729.
- Ablondi M, Sabbioni A, Stocco G, Cipolat-Gotet C, Dadousis C, van Kaam JT, Finocchiaro R, Summer A. Genetic Diversity in the Italian Holstein Dairy Cattle Based on Pedigree and SNP Data Prior and After Genomic Selection. *Front Vet Sci.* 2022 Jan 13;8:773985. doi: 10.3389/fvets.2021.773985. PMID: 35097040; PMCID: PMC8792952.
- Зиновьева Н.А. Гаплотипы фертильности голштинского скота // *Сельскохозяйственная биология*, 2016, том 51, № 4, с. 423-435. doi: 10.15389/agrobiology.2016.4.423rus.
- Khan MYA, Omar AI, He Y, Chen S, Zhang S, Xiao W, Zhang Y. Prevalence of nine genetic defects in Chinese Holstein cattle. *Vet Med Sci.* 2021 Sep;7(5):1728-1735. doi: 10.1002/vms3.525.
- Windsor PA, Kessell AE, Finnie JW. Review of neurological diseases of ruminant livestock in Australia. VI: postnatal bovine, and ovine and caprine, neurogenetic disorders. *Aust Vet J.* 2011 Nov;89(11):432-8. doi: 10.1111/j.1751-0813.2011.00834.x.
- Pinedo, P., Santos, J., Chebel, R. C., Galvão, K. N., Schuenemann, G. M., Bicalho, R. C., Gilbert, R. O., Rodriguez-Zas, S. L., Seabury, C. M., Rosa, G., & Thatcher, W. (2020). Associations of reproductive indices with fertility outcomes, milk yield, and survival in Holstein cows. *Journal of dairy science*, 103(7), 6647–6660. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17867>.
- Ribeiro, E. S., Gomes, G., Greco, L. F., Cerri, R., Vieira-Neto, A., Monteiro, P., Jr, Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Thatcher, W. W., & Santos, J. (2016). Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 99(3), 2201–2220. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10337>.
- Smit, AFA, Hubley, R. & Green, P “RepeatMasker” at <http://www.repeatmasker.org>.
- Babii A, Kovalchuk S, Glazko T, Kosovsky G, Glazko V. Helitrons and retrotransposons co-localized in *Bos taurus* genomes. *Curr Genomics.* 2017;18(3):278-286. doi: 10.2174/1389202918666161108143909.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176–183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>.
- Календарь Р.Н., Глазко В.И. Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение // *Физиология и биохимия культурных растений*. – 2002. – Т. 34. – №4. – С. 279–296.
- Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. Оценка меры информационного полиморфизма генетического разнообразия // *Сельскохозяйственная биология*, 2015, том 50, №5, с. 571-578. doi: 10.15389/agrobiology.2015.5.571ru.
- Столповский, Ю. А. Геномное разнообразие по маркерам межмикросателлитного полиморфизма у пород крупного рогатого скота / Ю. А. Столповский, А. Н. Евсюков, Г. Е. Сулимова // *Генетика*. – 2013. – Т. 49. – № 5. – С. 641. – DOI 10.7868/S0016675813040152.
- Li, H. W., Wang, R. J., Wang, Z. Y., Li, X. W., Wang, Z. Y., Yanjun, Z., Rui, S., Zhihong, L., & Jinquan, L. (2017). The research progress of genomic selection in livestock. *Yi chuan = Hereditas*, 39(5), 377–387. <https://doi.org/10.16288/j.ycz.16-342>.

Информация об авторах:

Попов Дмитрий Владимирович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом биотехнологии ФГБНУ НИИПЗК, ORCID – 0000-0001-7422-5470, Author ID – 811001.

e-mail: popov.bio@gmail.com

Косовский Глеб Юрьевич – доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, директор ФГБНУ НИИПЗК, ORCID – 0000-0003-3808-3086, Author ID – 353097, e-mail: niipzk@mail.ru

Глазко Валерий Иванович – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН (иностраный член), главный научный сотрудник ФГБНУ НИИПЗК, профессор кафедры зоологии факультета зоотехнии и биологии РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ORCID – 0000-0002-8566-8717, Author ID – 297850.

e-mail: vigvalery@mail.ru

Глазко Татьяна Теодоровна – доктор сельскохозяйственных наук, профессор, главный научный сотрудник ФГБНУ НИИПЗК, профессор кафедры разведения, генетики и биотехнологии животных РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, ORCID – 0000-0002-3879-6935, Author ID – 186988

HETEROZYGOSITY CONTROL USING DNA MARKERS IN FARM ANIMAL SPECIES*Heterozygosity control in farm animal species***D.V. Popov^{*1}, G.Yu. Kosovsky¹, V.I. Glazko^{1,2}, T.T. Glazko^{1,2}**¹*Afanas'ev Research Institute of Fur-Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding
6, ul. Trudovaya, pos. Rodniki, Ramenskii Region, Moscow Province, 140143 Russia***e-mail: niipzk@mail.ru*²*Timiryazev Russian State Agrarian University–Moscow Agrarian Academy,
Russia, 127434, Moscow, ul. Timiryazevskaya, 49*

When conducting breeding work and drafting breeding programs, it is necessary to consider both the positive effects of the selected breeding system, usually aimed at increasing productivity, and the possible negative aspects. Already today it is noted that intensive technologies, limited breeding material leads to the emergence of undesirable manifestations in the whole branches of agricultural livestock breeding. Homozygosity of unfavorable recessive alleles causes such negative aspects as mortality, reduction of reproduction, various genetically determined diseases, in particular, such as CVM syndrome, beta-mannosidosis. In this connection, an important direction is the development of methods for selecting pairs of animals that contribute to relatively higher heterozygosity of the offspring. For this purpose, the search for the most polymorphic and universal variants of DNA-markers was performed for further use in the selection of animals in the breeding process in order to exclude parental groups with similar genetic structures from reproduction. We evaluated the polymorphism of genomic fragments flanked by inverted repeats of the most polymorphic genomic elements – microsatellite sites (ISSR-PCR markers) and retrotransposon fragments (IRAP-PCR markers) in two agricultural species, cattle and rabbit. The data obtained revealed a similarity in the polymorphism of ISSR-PCR markers in both species, but marked differences in the polymorphism of IRAP-PCR markers. It turned out that the highest heterozygosity in rabbits and cattle was characteristic of the spectrum of genomic fragments of primer (CTC)₆C (ISSR-PCR markers). In rabbits, the heterozygosity of the spectra obtained using the Berv-LTR-K and LTR-sire-1 retrotransposon fragments as primers is high. This makes it possible to recommend analysis of the spectra in parental groups in the breeding process to prevent the increase of heterozygosity in the progeny.

Keywords: heterozygosity, polymerase chain reaction, polymorphic information content, DNA markers, microsatellites, retrotransposons.

References

- Ghoreishifar SM, Moradi-Shahrbabak H, Parna N, Davoudi P, Khansefid M. Linkage disequilibrium and within-breed genetic diversity in Iranian Zandi sheep. *Arch Anim Breed.* 2019 Apr 2;62(1):143-151. doi: 10.5194/aab-62-143-2019. PMID: 31807624; PMCID: PMC6852851.
- Hajihosseino A, Nejati-Javaremi A, Miraei-Ashtiani SR. Genetic structure analysis in several populations of cattle using SNP genotypes. *Anim Biotechnol.* 2021 Sep 30:1-13. doi: 10.1080/10495398.2021.1960360. Epub ahead of print. PMID: 34591729.
- Ablondi M, Sabbioni A, Stocco G, Cipolat-Gotet C, Dadousis C, van Kaam JT, Finocchiaro R, Summer A. Genetic Diversity in the Italian Holstein Dairy Cattle Based on Pedigree and SNP Data Prior and After Genomic Selection. *Front Vet Sci.* 2022 Jan 13;8:773985. doi: 10.3389/fvets.2021.773985. PMID: 35097040; PMCID: PMC8792952.
- Zinovieva N.A. Haplotypes of fertility in Holstein cattle *Agricultural Biology*, 2016, vol. 51, no. 4, pp. 423-435. doi: 10.15389/agrobiol.2016.4.423rus.
- Khan MYA, Omar AI, He Y, Chen S, Zhang S, Xiao W, Zhang Y. Prevalence of nine genetic defects in Chinese Holstein cattle. *Vet Med Sci.* 2021 Sep;7(5):1728-1735. doi: 10.1002/vms3.525.
- Windsor PA, Kessell AE, Finnie JW. Review of neurological diseases of ruminant livestock in Australia. VI: postnatal bovine, and ovine and caprine, neurogenetic disorders. *Aust Vet J.* 2011 Nov;89(11):432-8. doi: 10.1111/j.1751-0813.2011.00834.x.
- Pinedo, P., Santos, J., Chebel, R. C., Galvão, K. N., Schuenemann, G. M., Bicalho, R. C., Gilbert, R. O., Rodriguez-Zas, S. L., Seabury, C. M., Rosa, G., & Thatcher, W. (2020). Associations of reproductive indices with fertility outcomes, milk yield, and survival in Holstein cows. *Journal of dairy science*, 103(7), 6647-6660. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17867>.

8. Ribeiro, E. S., Gomes, G., Greco, L. F., Cerri, R., Vieira-Neto, A., Monteiro, P., Jr, Lima, F. S., Bisinotto, R. S., Thatcher, W. W., & Santos, J. (2016). Carryover effect of postpartum inflammatory diseases on developmental biology and fertility in lactating dairy cows. *Journal of dairy science*, 99(3), 2201-2220. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10337>.
9. Smit, AFA, Hubley, R. & Green, P “RepeatMasker” at <http://www.repeatmasker.org>.
10. Babii A, Kovalchuk S, Glazko T, Kosovsky G, Glazko V. Helitrons and retrotransposons co-localized in *Bos taurus* genomes. *Curr Genomics*. 2017;18(3):278-286. doi: 10.2174/1389202918666161108143909.
11. Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20(2), 176-183. <https://doi.org/10.1006/geno.1994.1151>.
12. Calendar R.N., Glazko V.I. Types of molecular genetic markers and their application // *Physiology and biochemistry of cultivated plants*. – 2002. – T. 34. – № 4. – pp. 279-296.
13. Chesnokov Yu.V., Artemyeva A.M. Evaluation of the measure of information polymorphism of genetic diversity // *Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology]*, 2015, Vol. 50, № 5, pp. 571-578. doi: 10.15389/agrobiol.2015.5.571eng.
14. Stolpovsky Y. A. Genomic diversity by markers of inter-microsatellite polymorphism in cattle / Y. A. Stolpovsky, A. N. Evsyukov, G. E. Sulimova // *Genetics*. – 2013. – T. 49. – № 5. – С. 641. – DOI 10.7868/S0016675813040152.
15. Li, H. W., Wang, R. J., Wang, Z. Y., Li, X. W., Wang, Z. Y., Yanjun, Z., Rui, S., Zhihong, L., & Jinquan, L. (2017). The research progress of genomic selection in livestock. *Yi chuan = Hereditas*, 39(5), 377-387. <https://doi.org/10.16288/j.ycz.16-342>.

Information about the authors:

Popov Dmitry Vladimirovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, Head of Biotechnology Department, ORCID – 0000-0001-7422-5470, Author ID – 811001, e-mail: popov.bio@gmail.com

Kosovsky Gleb Yurievich – Doctor of Biological Sciences, RAS corresponding member, Chief Researcher, Head of Afanas`ev Research Institute of Fur – Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding, ORCID – 0000-0003-3808-3086, Author ID – 353097, e-mail: niipzk@mail.ru

Glazko Valery Ivanovich – Doctor of Agricultural Sciences, professor, RAS academician (foreign member), Chief Researcher of Afanas`ev Research Institute of Fur – Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding, Professor of the Department of Zoology, Faculty of Zootechnics and Biology, K.A. Timiryazev Russian State Agrarian University – named after K.A. Timiryazev, ORCID – 0000-0002-8566-8717, Author ID – 297850, e-mail: vigvalery@mail.ru

Glazko Tatiana Theodorovna – Doctor of Agricultural Sciences, professor, chief researcher of Afanas`ev Research Institute of Fur – Bearing Animal Breeding and Rabbit Breeding, Professor of the Departments of Animal Breeding, Genetics and Biotechnology K.A. Timiryazev Russian State Agrarian University – named after K.A. Timiryazev, ORCID – 0000-0002-3879-6935, Author ID – 186988