

Copyright © 2017 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
International Journal of Environmental Problems
Has been issued since 2015.
ISSN: 2410-9339
E-ISSN: 2413-7561
2017, 3(1): 36-46

DOI: 10.13187/ijep.2017.1.36
www.ejournal33.com



Generation of Molecular Genetic Markers in Studies of Genetic Structures of Horses

Timur A. Erkenov ^a, Valery I. Glazko ^{a, b, *}, Eugeniya F. Knyaseva ^a, Tatina T. Glazko ^{a, b}

^a Russian State Agrarian University – MAA named after K.A. Timiriazev, Moscow, Russian Federation

^b Centre of Experimental Embryology and Reproductive Biotechnologies RAAS, Moscow, Russian Federation

Abstract

An overview of the different generations of molecular genetic markers used to solve the traditional problems of breeding work – exception errors of origin; determine the distribution of genetic flow of agricultural animal species; the identification of genetic systems, polymorphism of which is associated with variability of economically valuable traits are carried out. The history of the use of genotypic characteristics as "signalview" to predict the desired manifestation of economically valuable traits, starting with the works of A.S. Serebrovsky, are discussed. The need for consistent study of the gene pools of native breeds with a unique capacity of adaptation to specific ecological and geographical factors, in which farm animal breeding, is underlined. It is noted the similarity of molecular-genetic systems involved in adaptation, in particular, to high-altitude hypoxia, such mammal species as domestic horses and people. As an example of adaptation to high-altitude conditions of breeding discusses the specificity of Karachai horses. The different methods of genomic scanning (multigene genotyping) using as genomic anchors randomly selected decanucleotide (RAPD-PCR), sequences of microsatellite loci (ISSR-PCR markers), retrotransposons (IRAP-PCR markers) are discussed. It is noted the particularities of the representation in animal genomes microsatellite loci, DNA and RNA transposons.

Keywords: molecular genetic markers, blood groups, electrophoretic variants of proteins, microsatellites, transposons, endogenous retroviruses

1. Введение

В докладе 2007 года Организации по продовольствию и сельскому хозяйству при ООН (Food and Agriculture Organization – [FAO, 2007, 2015](#)) отмечается, что до сих пор управление генетическими ресурсами животных сельскохозяйственных видов в глобальном масштабе ограничивается отсутствием концептуальных разработок. FAO положила начало идентификации ключевых элементов такой концепции, используя как исходную точку определение устойчивого использования, предложенное Конвенцией по Биологическому Разнообразию (Convention on Biological Diversity – CBD): “устойчивое использование – это использование компонентов биологического разнообразия таким путем и с такой скоростью, которые не приводят к долговременному уменьшению биологического разнообразия, таким образом поддерживая его потенциал, чтобы удовлетворять потребности и стремления

* Corresponding author

E-mail address: vigvalery@gmail.com (V.I. Glazko)

настоящих и будущих поколений” (Статья 2 CBD) (Kalinitchenko et al., 2014, 2016). В этой связи FAO выдвигает необходимость выявления, изучения и сохранения локально адаптированных пород. Признаки приспособленности к конкретным средовым условиям особо важны, поскольку они не могут быть легко созданы отбором за короткий период времени. Предложенный FAO подход предполагает, что генетическое усовершенствование должно быть тесно связано с вовлечением в селекционную работу локально адаптированных генетических ресурсов, препятствуя утрате генофондов пород с уникальными характеристиками. Именно РФ остается одной из стран, наиболее богатых генетическим разнообразием животных сельскохозяйственных видов в связи с большим размером территорий и обилием разных эколого-географических условий разведения животных. В ряде работ отмечается, что многие отечественные породы, незначительно уступая родственным иностранным по продуктивности и технологическим свойствам, превосходят их по приспособленности к местным условиям, долголетию, устойчивости к отдельным заболеваниям, вкусовым и биологическим качествам продукции и другим признакам (Kalashnikov et al., 2011).

В настоящее время основным видом использования лошадей в большинстве развитых стран мира стал конный спорт. Одним из популярных видов конного спорта во всем мире является дистанционный конный пробег. В этом виде спорта от лошадей требуется выносливость и хорошее здоровье. В нашей стране существуют отечественные породы, соответствующие этим требованиям, одной из которых является карачаевская порода лошадей. Выступления карачаевских лошадей в дистанционных конных пробегах убедительно показывают, что они обладают отличными дистанционными задатками (Parphenov, Khotov, 2010).

Популяционная генетика пород лошадей имеет особое значение еще и для выявления молекулярно-генетических механизмов адаптации крупных млекопитающих, в том числе и человека, к экстремальным условиям воспроизводства, в частности, к высокогорной гипоксии.

Воспроизводство крупных травоядных на большой высоте над уровнем моря приводит к существенным физиологическим и метаболическим изменениям, связанным с интенсивным селекционным давлением окислительного стресса, UV радиации и других факторов, зависящих от специфических видовых характеристик. В этой связи особого внимания требуют исследования генетических структур горных пород лошадей, в том числе и отечественной карачаевской породы, высоко адаптированных к горным условиям, что может способствовать не только консолидации генофондов пород, но и рассматриваться как модель для поисков генетических основ адаптации к высокогорным условиям разных видов.

2. Материалы и методы

Сравнительный анализ молекулярно-генетических механизмов адаптации к горным условиям воспроизводства крупных наземных млекопитающих позволил обнаружить определенное сходство между биохимическими системами, вовлекаемыми в этот процесс, у разных видов, в частности, человека и горных пород лошадей по гену EPAS1 (Hendrickson S.L., 2013). В работе Hendrickson S.L. (2013) выполнено сравнение результатов геномного сканирования между одичавшей популяцией лошадей Анд, потомков, завезенных из Испании в Анды в 1500 годах, и пород их испанских родственников. В результате анализа 50-ти тысячных ДНК микроматриц с мононуклеотидными заменами (Single Nucleotide Polymorphism – SNPs) в геномах домашней лошади выявлен 131 ген – кандидат на участие в адаптации к высокогорным условиям. Наиболее выраженное отличие обнаружено по гену EPAS1 в метаболическом пути, индуцируемым гипоксией (Hypoxia-Induction-Pathway – HIF). Отличия обнаружены также в семействе генов цитохрома P450 3A, которые могут объясняться влиянием эндемической растительности в условиях высокогорья, используемой лошадьми в качестве корма. Отличия по гену тенуерину (tenuerin 2 – TENM2) свидетельствуют о том, что нервная деятельность также важна для адаптации к высокогорью. На основании анализа полиморфизма по копиям коротких геномных участков (Copy Number Variability – CNV) обнаружено сходство между высокогорными породами лошадей и их отличие от равнинных; отмечается, что в повышенную частоту CNV

у горных пород вовлекаются районы локализации семи генов, продукты которых участвуют в связывании гема, метаболизме ретинола, а также в том же метаболическом пути HIF.

3. Результаты и их обсуждение

В общем, полученные данные свидетельствуют о том, что для крупных млекопитающих при их адаптации к высокогорью универсальную для разных видов и определяющую роль играет метаболический путь HIF, однако в этот процесс могут вовлекаться и другие метаболические пути в связи с особенностью эволюции вида и уникальной экологией высокогорья. Таким образом, генофонды отечественных горных пород лошадей могут представлять специальный интерес для данных исследований. К представителям местных отечественных пород относятся такие, как карачаевская и алтайская.

Карачаевская порода лошадей уникальна тем, что она универсальна и успешно может использоваться в сельскохозяйственном производстве, для массового конного спорта и пробежек, конной охоты и туризма, цирка и проката, службы в армии и милиции. До настоящего времени они остаются незаменимыми для пограничных войск, в трудных горных районах Средней Азии, Закавказья и Закарпатья.

Лошади карачаевской породы разводятся в Карачаево-Черкесской республике, а также за ее пределами. В республике функционирует Карачаевский конный завод и 17 коневодческих ферм. В Министерстве сельского хозяйства Карачаево-Черкесской республики совместно с кафедрой коневодства Московской сельскохозяйственной академии им. К.А. Тимирязева организован централизованный племенной учет карачаевских лошадей и их паспортизация (Parphenov, Khotov, 2010). В последние годы интерес к карачаевской породе вышел за пределы республики. Созданы племенные коневодческие хозяйства в следующих районах: в Предгорном Ставропольского края, Можайском Московской области и в других. Кроме этого разведением карачаевской породы лошадей занимаются частные коннозаводчики Чехии и Германии.

Суть основных задач, решением которых занимается популяционная генетика, состоит в том, чтобы научиться получать организмы с необходимыми хозяйственно-ценными признаками, адаптированные к конкретным агроэкологическим регионам разведения, не имеющие врожденных патологий и высокоустойчивые к различным заболеваниям. Именно сейчас сельское хозяйство остро нуждается в резком ускорении процесса создания новых пород животных, сочетающих устойчивость к биотическим и абиотическим факторам стресса с высоким потенциалом продуктивности (Kalinitchenko et al., 2014, 2016).

Попытки маркирования наследственной предрасположенности к проявлению различных фенотипических признаков в отечественной генетике сельскохозяйственных видов начались с работ А.С. Серебровского еще в 20-е годы (Серебровский, 1928). Он предложил использовать фенотипические признаки с моногенным характером наследования в качестве «сигналий» – генетических маркеров – для облегчения контроля передачи определенного генетического материала в поколениях, и, соответственно, облегчения подбора и отбора организмов при формировании хозяйственно ценных групп. Идеи, заложенные А.С. Серебровским, широко применяются в настоящее время: сформировано направление, известное как «селекция с помощью маркеров» (Marker Assistant Selection – MAS). Его суть заключается в попытках выявления генетических маркеров (генов или последовательностей ДНК), которые были бы тесно сцеплены с «главными» генами хозяйственно-ценных признаков, а также могли бы маркировать гены, играющие ключевую роль в развитии различных генетических патологий, нарушений процессов метаболизма, устойчивости к патогенам.

В качестве одного из первых поколений молекулярно-генетических маркеров использовали группы крови. Если к применению термина «новые методы генетики» подходить со всей строгостью, то генотипирование по группам крови вряд ли можно включить в их число. Важным этапом в развитии иммуногенетики животных принято считать применение методов искусственной иммунизации с целью выявления антигенного состава эритроцитов. И сейчас метод типирования групп крови находит достаточно широкое практическое применение. Использование метода генотипирования по группам крови подробно рассматривается в работах К. Стормонта. (Stormont, 1951, 1958, 1967; Stormont,

Morris, 1992). Он подчеркивает, что применение методики типирования групп крови для идентификации индивидуумов и установления отцовства внесло неоценимый вклад в правильное регистрирование пород крупного рогатого скота. Сходные методы тестирования крови были затем последовательно адаптированы для работы с овцами, свиньями, лошадьми. Исследования систем групп крови лошадей разных пород проводятся в России более четырех десятилетий. За это время накоплена уникальная информационная база, в основном во Всероссийском институте коневодства. Формирование такой базы особенно важно для малочисленных популяций, находящихся на грани исчезновения, поскольку способствует развитию методов генетически обоснованных подходов к сохранению и совершенствованию их генофондов. Этот метод имеет и свои ограничения, поскольку анализ генетической изменчивости с применением иммунологических методов возможен при наличии донорского стада соответствующего вида, от которого можно получать эталонный набор антигенов для генотипирования групп крови, что является достаточно сложной экспериментальной задачей.

Следующим поколением молекулярно-генетических маркеров, применяемых для генотипирования животных сельскохозяйственных видов были электрофоретические варианты белков с известной биохимической функцией (генетико-биохимические маркеры). Время возникновения биохимической генетики относится к 50-60 годам и связано с трудами Маркерта и соавторов (Hunter, Markert, 1957; Markert, Miller, 1959). Тогда биохимическая генетика занималась исследованиями исключительно только диких видов, при этом использовался довольно скромный набор биохимических маркеров. Однако это новое направление оказало большое влияние как на традиционные направления в биологии, так и на расширение видов и генетических систем, вовлекаемых в исследования, которые ведутся в самых разнообразных и разноплановых направлениях: изучается онтогенез, сцепление и хромосомная локализация генов, тканевая и внутриклеточная специфичность их экспрессии, роль взаимодействия аллельных и неаллельных генов, влияние на генетическую структуру популяции различных форм отбора. Генетика полиморфных белков находит свое приложение в эволюционной и популяционной генетике. Однако особое место генетико-биохимические маркеры заняли в генотипировании животных сельскохозяйственных видов (Глазко, Созинов, 1993; Kaminski, 2011). В селекционной практике применение этих маркеров носит ограниченный характер, что обусловлено низким полиморфизмом, поскольку в общем, средняя гетерозиготность популяций, рассчитанная по этим маркерам, оценивается в 6 %. Эта оценка занижена по сравнению с истинной гетерозиготностью популяций, что объясняется двумя причинами. Во-первых, некоторые из аминокислотных замен не приводят к изменениям суммарного электрического заряда или молекулярной конфигурации, и, следовательно, не могут быть обнаружены методом электрофореза. Во-вторых, анализ белков позволяет тестировать изменения только в белок-кодирующих последовательностях ДНК экспрессирующихся генов. Но в геноме высших эукариот кодирующие аминокислотные последовательности составляют около 1 % от всего генома, значительную долю составляют повторяющиеся последовательности, сами структурные гены имеют экзон-интронную структуру. Ясно, что при анализе белкового полиморфизма от внимания исследователей ускользает большая часть генома. При этом в состав неанализируемых последовательностей могут входить функционально значимые участки. В этой связи, благодаря появлению полимеразной цепной реакции (Mullis, Faloona, 1987), позволяющей нарабатывать в доступном для генотипирования любого участка ДНК, появились методы оценок полиморфизма различных геномных элементов, в частности, длин микросателлитных локусов.

Микросателлиты или простые tandemные повторы – последовательности ДНК, состоящие из много раз повторенных олигонуклеотидов длиной в 1–6 нуклеотидов. Для них характерен высокий уровень полиморфизма. Среди микросателлитов наиболее распространены динуклеотидные повторы. В популяционно-генетических исследованиях предметом изучения является полиморфизм микросателлитов, состоящих от 10 до 16 и более 16 динуклеотидных повторов. Полиморфизм их длины может быть следствием ошибок репликации, что было подтверждено экспериментально при изучении механизмов репликации *in vitro* (Ellegren et al., 1992). В большинстве случаев микросателлиты выявляются в некодирующих областях ДНК. Скорость мутирования микросателлитных

локусов по их длине оценивается в среднем, как 10-2 на локус за поколение, что в тысячу раз выше, чем оценки частот мутирования локусов, кодирующих структурные белки. Выдвинуто предложение, что наличие повторов, таких как GT, CA, CT, GA, GC или AT, повышает частоты рекомбинаций в генах, стимулируя образование специфичных вторичных структур ДНК (Ellegren et al., 1992). Изменение количества повторов внутри микросателлитных локусов предположительно связывают с процессом рекомбинации путем кроссинговера. Неравный кроссинговер в комбинации со случайным генетическим дрейфом и отбором влияют на накопление тандемных повторов. Повышенный интерес в настоящее время проявляется к структурно-функциональным механизмам воздействий микросателлитных локусов на процесс формирования генома. Их широко используют в качестве маркеров в работах по изучению особенностей генетических структур у различных видов млекопитающих, как на межвидовом, так и на внутривидовом уровнях. В России генотипированием лошадей разных пород по микросателлитам занимается только ВНИИ коневодства, имеющий международную сертификацию для выдачи генетических паспортов лошадей.

К настоящему времени опубликовано множество работ по генофондным характеристикам различных пород и внутривидовых групп лошадей, включающих результаты исследований полиморфизма по микросателлитам, лидером в этих исследованиях также является ВНИИ коневодства (Kalashnikov et al., 2011; Khrabrova, 2011; Zaitseva, 2010).

Геномные сканирования (Feofilov et al., 2011) – основная тенденция современной популяционной геномики. Для целей геномного сканирования используют от нескольких десятков или сотен маркеров до полного геномного сканирования – сиквенс генома.

Один из методов геномного сканирования – генотипирование по фрагментам ДНК разной длины, фланкированных инвертированным повтором случайно выбранного декануклеотида – метод RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) – наиболее простой из методов геномного сканирования, в котором, как правило, применяются праймеры длиной 10-20 п.н. с произвольными нуклеотидными последовательностями (Caetano-Anolles, 1994, 1996). В результате полимеразной цепной реакции (ПЦР или PCR) амплифицируются анонимные участки ДНК, длины продуктов амплификации анализируют с помощью электрофореза. Отсутствие или наличие соответствующих фрагментов определяет полиморфизм RAPD-маркеров. Метод RAPD быстрый, недорогой и дает возможность одновременной детекции большого количества локусов, однако этот метод чувствителен к условиям реакции, что может снизить воспроизводимость результатов и оценки уровня полиморфизма. Считается, что изменчивость RAPD-маркеров нейтральна к факторам отбора, а также к эволюционным изменениям, в целом. Соответственно, эти маркеры удобны для оценки генетических взаимосвязей между генофондами на основании сканирования отдельных геномов по многим геномным участкам. Такие исследования выполнялись и на генофондах лошади Пржевальского, некоторых породах домашней лошади (Bailey, Lear, 1994).

Одними из разновидностей RAPD-маркеров являются ISSR-маркеры (Inter-Simple Sequence Repeat) (Zietkiewicz et al., 1994). Известно, что микросателлиты относительно равномерно распределены по геномам высших млекопитающих, частота их встречаемости в большей степени зависит от количества нуклеотидов в элементарной единице тандемного повтора (динуклеотидные микросателлиты встречаются чаще, чем тринуклеотидные и т.д.), примерно 5 % из них формируют инвертированные повторы на сравнительно коротких расстояниях (100 ~ 2000 пар оснований – п.о.). В 2009 г. геном домашней лошади был полностью секвенирован, подробно исследован его нуклеотидный состав, хромосомное распределение различных тандемных и диспергированных повторов, выполнено сравнение геномов представителей разных пород лошадей, составлена карта мононуклеотидных полиморфизмов (Single Nucleotide Polymorphisms) (Wade et al., 2009).

Тандемные повторы представлены несколькими типами последовательностей: часть из них сконцентрирована в отдельных морфологических участках хромосом, такие как теломерные повторы и повторы в гетерохроматиновых перицентромерных участках, другие тандемные повторы рассеяны по всему геному. К наиболее широко исследуемым тандемным повторам в последнее время относятся последовательности микросателлитных локусов,

полиморфизм которых широко используется при подборе генетических маркеров в генетико-популяционных исследованиях, при картировании главных генов количественных признаков, в определении отцовства, диагностике некоторых наследственных заболеваний, в криминально-следственной экспертизе и т.п.

Диспергированные повторы подразделяются на два класса: I класс – ретротранспозоны, II класс – ДНК транспозоны. В геномах млекопитающих основной вклад в диспергированные повторы вносят ретротранспозоны. Ретротранспозоны подразделяются, в свою очередь, на эндогенные ретровирусы (ERV), содержащие длинные концевые повторы (Long Terminal Repeats – LTR), лишённые LTR с геном обратной транскриптазы (*pol*) и полиаденилированным 3' концом длинные диспергированные повторы (Long Interspersed Nuclear Elements) и неавтономные (без гена *pol*) короткие диспергированные повторы (SINE). ДНК транспозоны занимают небольшую часть генома домашней лошади, наибольший процент от генома приходится на семейство ретротранспозонов LINE1.

В связи с широкой представленностью в геномах млекопитающих участков гомологии к ретротранспозонам, сформировано следующее поколение молекулярно-генетических маркеров. Достаточно удобным методом оказалось использование в качестве праймера фрагмента LTR различных эндогенных ретровирусов (Inter-Retrotransposon Amplificated Polymorphisms – IRAP-PCR) (Liu et al., 2011; Van der Kuyl, 2011). Следует отметить, что распространённым явлением является элиминация из геномов хозяина всего тела эндогенного ретровируса при сохранении LTR, такие последовательности получили название LTR-Solo.

Геномы позвоночных, как правило, содержат большое количество элементов, которые были приобретены видом-хозяином в течение долгого времени (Yang, Bennetze, 2009). Традиционно считается, что эндогенные ретровирусы происходят от экзогенных ретровирусов и активно участвуют в эволюции геномов (Horie, et al., 2010). Выделяют три класса эндогенных ретровирусов. Так, для ERV класса I предполагается тесная связь с ретровирусами *Gammaretrovirus* и *Epsilonretrovirus*; для ERV класса II – *Alpharetrovirus*, *Betaretrovirus*, *Deltaretrovirus*, и *Lentivirus*; для ERV класса III – с *Spumavirus* (Liu et al., 2011; Van der Kuyl, 2011). Описаны такие последовательности и в геномах домашней лошади (*Equus caballus*) (Van der Kuyl, 2011).

Сравнительный анализ представленности тандемных и диспергированных повторов в геноме домашней лошади позволяет полагать, что использование методов геномного сканирования с применением ISSR-PCR и IRAP-PCR маркеров может позволить оценить полиморфизм наиболее изменчивых геномных элементов в целях выявления породоспецифичных генофондных характеристик.

Ещё одним высоко полиморфным геномным элементом, участвующим в глубоких геномных преобразованиях, является ДНК транспозон хелитрон. Перемещение генетического материала между изолированными видами, названное горизонтальным переносом, описано во многих работах. У эукариот это было выявлено по ряду генов (Thomas et al., 2010), а также по транспозирующимся элементам (Van der Kuyl, 2011). Особое место среди таких транспозирующихся элементов занимают ДНК транспозоны, которые реплицируются по типу «катящегося кольца». Они получили название хелитронов. Идентификационным признаком хелитронов является присутствие нуклеотидов 5' TC и 3' CTRR на конце, а также палиндрома длиной в 16 или 20 пар оснований (п.о.) близко от 3' конца. Присутствие таких последовательностей выявлено у разных таксонов, от грибов до позвоночных (Liu et al., 2011; Thomas et al., 2010). Последовательности палиндрома (TCCCGTGC_GAT_GCACGGGA) и фланги высоко консервативны, внутренняя часть часто включает фрагменты других генетических элементов, в том числе и других хелитронов. Хелитроны, в отличие от большинства других ДНК транспозонов, вместо транспозазы для репликации ДНК используют собственный белок, PIF1 подобную ДНК геликазу, объединяющую все хелитроны. Этот белок имеет высокую степень гомологии с бактериальным белком RC (rolling-circle), известным своим участием в горизонтальном переносе генов устойчивости к антибиотикам между разными бактериями. Как и их бактериальные «родственники», некоторые хелитроны функционируют как «машины перетасовки экзонов». У кукурузы, например, выявлено около 20000 фрагментов разных

генов, которые были «перетасованы» с участием хелитрона (Liu et al., 2011; Thomas et al., 2010). Показано, что высоко гомологичные участки к нему сохраняются в геномах эукариотических организмов и, по-видимому, принимают участие в эволюции.

4. Заключение

Учитывая тот факт, что в геноме лошадей нуклеотидные последовательности занимают только около 2 % от количества нуклеотидов, а диспергированные повторы – более 40 %, очевидно, что использование для полилокусного генотипирования в качестве геномных «якорей» последовательностей транспозонов, позволяет охватить большую часть генома по сравнению генотипированием по микросателлитным локусам.

Литература

- Глазко, Созинов, 1993 – Глазко В.И., Созинов И.А. (1993). Генетика изоферментов животных и растений. Киев: “Урожай”, 528 с.
- Серебровский, 1928 – Серебровский А.С. (1928). Геногеография и генофонд сельскохозяйственных животных // *Научн. Слово*, №8, с. 7–42.
- Bailey, Lear, 1994 – Bailey E., Lear T. (1994). Comparison of Thoroughbred and Arabian horses using RAPD markers // *Animal Genetics*, Vol. 25, Sup. 1. pp. 105–108.
- Caetano-Anolles, 1994 – Caetano-Anolles G. (1994). MAAP: a versatile and universal tool for genome analysis // *Plant Molecular Biology*, Vol. 25. pp.1011–1026.
- Caetano-Anolles, 1996 – Caetano-Anolles G. (1996). Scanning of nucleic acids by in vitro amplification: New developments and applications // *Nature Biotechnology*, Vol. 14. pp.1668–1674.
- Ellegren et al., 1992 – Ellegren H., Johansson M., Sundberg K., Andersson L. (1992). Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse // *Animal Genet*, Vol. 23. pp.133–142.
- FAO, 2007 – FAO (2007). The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments Rome. (<http://www.fao.org/3/a-a1250e.pdf>)
- FAO, 2015 – FAO. (2015). The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by B.D. Scherf & D. Pilling. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments. Rome (available at <http://www.fao.org/3/a-i4787e/index.html>).
- Feofilov et al., 2011 – Feofilov A.V., Bardukov N.V., Glazko V.I. (2011). Gene pool differentiation between Altaic and trotting horse breeds inferred from ISSR-PCR marker data, *Genetika*, Vol. 47, No. 9, pp.1230–1235.
- Hendrickson S.L., 2013 – Hendrickson S.L. (2013). A genome wide study of genetic adaptation to high altitude in feral Andean horses of the paramo. *BMC Evol Biol.*, Vol.13, 273. DOI: 10.1186/1471-2148-13-273.
- Horie, et al., 2010 – Horie M.; Honda, T.; Suzuki, Y.; Kobayashi, Y.; Daito, T.; Oshida, T.; Ikuta, K.; Jern, P.; Gojobori, T.; Coffin, J.M.; Tomonaga, K. (2010). Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes // *Nature*, 463, 84–87.
- Hunter, Markert, 1957 – Hunter R.L., Markert C.L. (1957). Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels // *Science*, Vol. 125, No. 3261, pp.1294–1295.
- Kalashnikov et al., 2011 – Kalashnikov V.V., Khrabrova L.A., Zaitsev A.M. et al. (2011). Polymorphism of microsatellite DNA in horses of stud and local breeds // *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*, 2011, No. 2, pp. 41–45.
- Kalinitchenko et al., 2014 – Kalinitchenko V.P., Batukaev A.A., Zinchenko V.E., Zarmaev A.A., Magomadov A.S., Chernenko V.V., Startsev V.F., Bakoev S.U., Dikaev Z.S. (2014) Biogeosystem technique as a method to overcome the Biological and Environmental Hazards of modern Agricultural, Irrigational and Technological Activities // *Geophysical Research Abstracts*, EGU General Assembly, Vienna, 2014. DOI: Vol. 16, EGU2014-17015

[Kalinitchenko et al., 2016](#) – Kalinitchenko V., A. Batukaev, A. Zarmaev, V. Startsev, V. Chernenko, Z. Dikaev, S. Sushkova (2016). Biogeosystem technique as the way to certainty of soil, hydrosphere, environment and climate // *Geophysical Research Abstracts*, Vol. 18, EGU General Assembly, Vienna, EGU2016-3419

[Kaminski, 2011](#) – Kaminski M. (1979). The biochemical evolution of the horse // *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 63B, No. 2, pp.175–178.

[Khrabrova, 2011](#) – Khrabrova L.A. (2011) Theoretical and practical aspects of genetic monitoring in breeding – Thesis of diss. Agricultural Sciences, 2011, Divovo, Government of all-Russian Research Institute of Horse Breeding of Russian Agrarian Academy, 26 p.

[Liu et al., 2011](#) – Liu H., Fu Y., Li B., Yu X., Cheng J., Ghabrial S. A., Li G., Yi X, Jiang D. (2011). Widespread Horizontal Gene Transfer from Circular Single-stranded DNA Viruses to Eukaryotic Genomes // *BMC Evolutionary Biology*, Vol. 11, No. 276, pp. 1–15.

[Markert, Miller, 1959](#) – Markert C.L., Miller F. (1959). Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 45, No. 5, pp. 753–763.

[Mullis, Faloona, 1987](#) – Mullis K.B., Faloona F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction // *Methods Enzymol.*, Vol.155, pp. 335–350.

[Parphenov, Khotov, 2010](#) – Parphenov V.A., Khotov V.H. (2010). State Studbook horses of Karachai breed. Ministry of Agriculture of Russian Federation, Moscow, Russian State Agrarian University – MTAA, Vol. 6.

[Stormont, 1951](#) – Stormont C. (1951). An example of a recessive blood group in sheep // *Genetics*, Vol. 36, pp. 577–578.

[Stormont, 1958](#) – Stormont C. (1958). On the applications of blood Groups in Animal Breeding // *International Congress of Genetics*, Vol. 1, pp. 20–27.

[Stormont, 1967](#) – Stormont C. (1967). Contribution of Blood typing to dairy science progress // *J. Dairy Sci*, Vol. 50, pp. 253.

[Stormont, Morris, 1992](#) – Stormont C., Morris B.G. (1992). New antibodies in beson blood tuping: 23^{ed} Conf. Jnt. Sos. Anim. Genet. Interlaken, 3-7 Aud., 1992 // *Anim. Genet*, 23, NO. 1 Suppl, p. 12.

[Thomas et al., 2010](#) – Thomas J., Schaack S., Pritham E.J. (2010). Pervasive Horizontal Transfer of Rolling-Circle Transposons among Animals // *Genome Biol. Evol*, Vol. 2. pp. 656–664.

[Van der Kuyl, 2011](#) – Van der Kuyl A.C. Characterization of a Full-Length Endogenous Beta-Retrovirus, EqERV-Beta1, in the Genome of the Horse (*Equus caballus*) // *Viruses*, Vol. 3. pp. 620–628.

[Voronkova et al., 2011](#) – Voronkova V. N., Tsendsuren Tsedev, Sulimova G. E. (2011). Comparative Analysis of the Informativeness of ISSR Markers for Estimating Genetic Diversity of Horse Breeds // *Genetika*, Vol. 47, No. 8, pp. 1131–1134.

[Wade et al., 2009](#) – Wade C.M., Giulotto E., Sigurdsson S. et al. (2009). Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse // *Science*, Vol. 326, No. 5954, pp. 865–867.

[Yang, Bennetze, 2009](#) – Yang L., Bennetze J.L. (2009). Structure-based discovery and description of plant and animal Helitrons // *PNAS*, Vol. 106, No. 31, pp. 12832–12837.

[Zaitseva, 2010](#) – Zaitseva M.A. (2010). Breed specific features of microsatellite allele DNA of horses stud and local breeds – Thesis of diss. Agricultural Sciences 2010, Divovo, Government of all-Russian Research Institute of Horse Breeding of Russian Agrarian Academy, 24 p.

[Zietkiewicz et al., 1994](#) – Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics*, Vol. 20, pp. 176–183.

References

[Glazko, Sozinov, 1993](#) – Glazko V.I., Sozinov I.A. (1993). Isoenzyme genetics of animals and plant. Kiiv: Urozhai, 528 p.

[Serebrovsky, 1928](#) – Serebrovsky A.S (1993). Gene geography and gene pools of farm animals, *Nauch. Slovo*, №8, pp. 7–42.

Bailey, Lear, 1994 – Bailey E., Lear T. (1994). Comparison of Thoroughbred and Arabian horses using RAPD markers, *Animal Genetics*, Vol. 25, Sup. 1. pp. 105–108.

Caetano-Anolles, 1994 – Caetano-Anolles G. (1994). MAAP: a versatile and universal tool for genome analysis, *Plant Molecular Biology*, Vol. 25. pp.1011–1026.

Caetano-Anolles, 1996 – Caetano-Anolles G. (1996). Scanning of nucleic acids by in vitro amplification: New developments and applications, *Nature Biotechnology*, Vol. 14. pp.1668–1674.

Ellegren et al., 1992 – Ellegren H., Johansson M., Söndberg K., Andersson L. (1992). Cloning of highly polymorphic microsatellites in the horse, *Animal Genet*, Vol. 23. pp.133–142.

FAO, 2007 – FAO (2007). The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Barbara Rischkowsky & Dafydd Pilling. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments Rome. (<http://www.fao.org/3/a-a1250e.pdf>)

FAO, 2015 – FAO. (2015). The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by B.D. Scherf & D. Pilling. FAO Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture Assessments. Rome (available at <http://www.fao.org/3/a-i4787e/index.html>).

Feofilov et al., 2011 – Feofilov A.V., Bardukov N.V., Glazko V.I. (2011). Gene pool differentiation between Altaic and trotting horse breeds inferred from ISSR-PCR marker data, *Genetika*, Vol. 47, No. 9, pp.1230–1235.

Hendrickson S.L., 2013 – Hendrickson S.L. (2013). A genome wide study of genetic adaptation to high altitude in feral Andean horses of the paramo. *BMC Evol Biol.*, Vol.13,273. DOI: 10.1186/1471-2148-13-273.

Horie, et al., 2010 – Horie M.; Honda, T.; Suzuki, Y.; Kobayashi, Y.; Daito, T.; Oshida, T.; Ikuta, K.; Jern, P.; Gojobori, T.; Coffin, J.M.; Tomonaga, K. (2010). Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes, *Nature*, 463, 84–87.

Hunter, Markert, 1957 – Hunter R.L., Markert C.L. (1957). Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels, *Science*, Vol. 125, No. 3261, pp.1294–1295.

Kalashnikov et al., 2011 – Kalashnikov V.V., Khrabrova L.A., Zaitsev A.M. et al. (2011). Polymorphism of microsatellite DNA in horses of stud and local breeds, *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya*, 2011, No. 2, pp. 41–45.

Kalinitchenko et al., 2014 – Kalinitchenko V.P., Batukaev A.A., Zinchenko V.E., Zarmaev A.A., Magomadov A.S., Chernenko V.V., Startsev V.F., Bakoev S.U., Dikaev Z.S. (2014) Biogeosystem technique as a method to overcome the Biological and Environmental Hazards of modern Agricultural, Irrigational and Technological Activities, *Geophysical Research Abstracts*, EGU General Assembly, Vienna, 2014. DOI: Vol. 16, EGU2014-17015

Kalinitchenko et al., 2016 – Kalinitchenko V., A. Batukaev, A. Zarmaev, V. Startsev, V. Chernenko, Z. Dikaev, S. Sushkova (2016). Biogeosystem technique as the way to certainty of soil, hydrosphere, environment and climate. *Geophysical Research Abstracts*, Vol. 18, EGU General Assembly, Vienna, EGU2016-3419

Kaminski, 2011 – Kaminski M. (1979). The biochemical evolution of the horse, *Comp. Biochem. Physiol.*, Vol. 63B, No. 2, pp.175–178.

Khrabrova, 2011 – Khrabrova L.A. (2011) Theoretical and practical aspects of genetic monitoring in breeding – Thesis of diss. Agricultural Sciences, 2011, Divovo, Government of all-Russian Research Institute of Horse Breeding of Russian Agrarian Academy, 26 p.

Liu et al., 2011 – Liu H., Fu Y., Li B., Yu X., Cheng J., Ghabrial S. A., Li G., Yi X, Jiang D. (2011). Widespread Horizontal Gene Transfer from Circular Single-stranded DNA Viruses to Eukaryotic Genomes, *BMC Evolutionary Biology*, Vol. 11, No. 276, pp. 1–15.

Markert, Miller, 1959 – Markert C.L., Miller F. (1959). Multiple forms of enzymes: tissue, ontogenetic and species specific patterns, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. Vol. 45, No. 5, pp. 753–763.

Mullis, Faloona, 1987 – Mullis K.B., Faloona F. (1987). Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalyzed chain reaction, *Methods Enzymol.*, Vol.155, pp. 335–350.

Parphenov, Khotov, 2010 – Parphenov V.A., Khotov V.H. (2010). State Studbook horses of Karachai breed. Ministry of Agriculture of Russian Federation, Moscow, Russian State Agrarian University – MTAA, Vol. 6.

[Stormont, 1951](#) – Stormont C. (1951). An example of a recessive blood group in sheep, *Genetics*, Vol. 36, pp. 577–578.

[Stormont, 1958](#) – Stormont C. (1958). On the applications of blood Groups in Animal Breeding, *International Congress of Genetics*, Vol. 1, pp. 20–27.

[Stormont, 1967](#) – Stormont C. (1967). Contribution of Blood typing to dairy science progress, *J. Dairy Sci*, Vol. 50, pp. 253.

[Stormont, Morris, 1992](#) – Stormont C., Morris B.G. (1992). New antibodies in beson blood tuping: 23^{ed} Conf. Jnt. Sos. Anim. Genet. Interlaken, 3–7 Aud., 1992, *Anim. Genet*, 23, NO. 1 Suppl, p. 12.

[Thomas et al., 2010](#) – Thomas J., Schaack S., Pritham E.J. (2010). Pervasive Horizontal Transfer of Rolling-Circle Transposons among Animals // *Genome Biol. Evol*, Vol. 2. pp. 656–664.

[Van der Kuyl, 2011](#) – Van der Kuyl A.C. Characterization of a Full-Length Endogenous Beta-Retrovirus, EqERV-Beta1, in the Genome of the Horse (*Equus caballus*), *Viruses*, Vol. 3. pp. 620–628.

[Voronkova et al., 2011](#) – Voronkova V. N., Tsendsuren Tsedev, Sulimova G. E. (2011). Comparative Analysis of the Informativeness of ISSR Markers for Estimating Genetic Diversity of Horse Breeds, *Genetika*, Vol. 47, No. 8, pp. 1131–1134.

[Wade et al., 2009](#) – Wade C.M., Giulotto E., Sigurdsson S. et al. (2009). Genome sequence, comparative analysis, and population genetics of the domestic horse, *Science*, Vol. 326, No. 5954, pp. 865–867.

[Yang, Bennetze, 2009](#) – Yang L., Bennetze J.L. (2009). Structure-based discovery and description of plant and animal Helitrons, *PNAS*, Vol. 106, No. 31, pp. 12832–12837.

[Zaitseva, 2010](#) – Zaitseva M.A. (2010). Breed specific features of microsatellite allele DNA of horses stud and local breeds – Thesis of diss. Agricultural Sciences 2010, Divovo, Government of all-Russian Research Institute of Horse Breeding of Russian Agrarian Academy, 24 p.

[Zietkiewicz et al., 1994](#) – Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification, *Genomics*, Vol. 20, pp. 176–183.

Поколения молекулярно-генетических маркеров в исследованиях генетических структур лошадей

Тимур А., Эркенов ^а, Валерий И. Глазко ^{а,б,*}, Евгения А. Князева ^а, Татьяна Т. Глазко ^{а,б}

^а РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Российская Федерация

^б Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий, Российская Федерация

Аннотация. Представлен обзор различных поколений молекулярно-генетических маркеров, применяемых для решения традиционных задач селекционной работы – исключения ошибок происхождения; выяснения путей распространения генетических потоков животных сельскохозяйственных видов; выявления генетических систем, полиморфизм которых ассоциирован с изменчивостью хозяйственно ценных признаков. Рассматривается история использования генотипических характеристик в качестве «сигналиев» для прогноза желательного проявления хозяйственно ценных признаков, начиная с работ А.С. Серебровского. Обсуждается необходимость последовательного изучения генофондов местных пород, обладающих уникальным потенциалом адаптации к действию конкретных эколого-географических факторов условий разведения животных. Отмечается общность молекулярно-генетических систем, вовлеченных в адаптацию, в частности, к высокогорной гипоксии, у таких видов млекопитающих, как домашняя лошадь и человек. В качестве примера адаптации к высокогорным условиям разведения

* Корреспондирующий автор

Адрес электронной почты: vigvalery@gmail.com (В.И. Глазко)

обсуждаются особенности карачаевской лошади. Рассматриваются разные методы геномного сканирования (полилокусного генотипирования) с использованием в качестве геномных «якорей» случайно выбранных декануклеотидов (RAPD-PCR), последовательностей микросателлитных локусов (ISSR-PCR маркеры), ретротранспозонов (IRAP-PCR маркеры). Обсуждаются особенности представленности в геномах животных микросателлитных локусов, ДНК и РНК транспозонов.

Ключевые слова: молекулярно-генетические маркеры, группы крови, электрофоретические варианты белков, микросателлиты, транспозоны, эндогенные ретровирусы.