

УДК 636.47:636.082

АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ СВИНЕЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ НА ОСНОВЕ МУЛЬТИЛОКУСНЫХ ГЕНОТИПОВ МИКРОСАТЕЛЛИТОВ

В.С.Топиха, доктор сельскохозяйственных наук, профессор
С.С.Крамаренко, кандидат биологических наук, доцент
С.И.Луговой, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент
Николаевский государственный аграрный университет

У статті наведено результати оцінки генетичної розмаїтості свиней великої білої породи на основі мультилокусних генотипів мікросателітів. Встановлено, що найменша кількість мультилокусних генотипів і, відповідно, найменша реальна генетична різноманітність спостерігається у тварин селекції компанії "UPB". Виявлено низьку частку загальних з батьківськими формами генотипів у гібридів I та II поколінь.

Ключові слова: генотип, частота, генетична розмаїтість, локус.

Постановка проблеми. Оценка и сохранение генетического разнообразия в популяциях сельскохозяйственных животных является одним из основных направлений научно-производственной деятельности, которые предложены Отделением зоотехнии УААН в связи с возможностью интеграции в Европейское научное пространство [1].

На современном этапе развития отрасли свиноводства в Украине наиболее многочисленной породой в стране является крупная белая, характерной особенностью племенной работы с которой можно считать тенденцию насыщения генофонда страны генетическим материалом зарубежного происхождения, в первую очередь, английского [2].

Одним из крупнейших племенных хозяйств в Украине, занимающихся разведением свиней крупной белой породы английской селекции, является племенная завод «Степной» За-

порожской области. Основу стада данного хозяйства составляют животные, импортированные из английских фирм «PIC» и «UPB» [3].

Вступление Украины во Всемирную торговую организацию предполагает повышение требований отечественных селекционеров к качеству завозимого из-за рубежа племенного поголовья [4]. Кроме того, в научной литературе высказываются весьма противоречивые мнения об эффективности и целесообразности использования животных импортного происхождения в селекционном процессе. Это обуславливает необходимость проведения тщательного анализа генетической структуры популяций свиней крупной белой породы зарубежного происхождения.

Анализ последних исследований и публикаций. На сегодняшний момент для оценки генетической изменчивости в популяциях диких или домашних животных используется два главных показателя. Во-первых, это – аллельное богатство (A), которое также называется аллельное разнообразие или среднее число аллелей на локус. A , во-вторых, это – фактическая (т.е. наблюдаемая) гетерозиготность (H_{obs}), т.е. фактическая доля гетерозигот, подсчитанная для данной выборки особей. Однако, при оценке этих двух популяционных параметров мы сталкиваемся с одной очень важной проблемой. Дело в том, что полученные оценки или аллельного богатства, или фактической гетерозиготности являются выборочными и их величина зависит от объема проанализированной выборки животных. Причем, чаще всего, эти оценки являются смещенными, прежде всего, оказываются недооцененными (т.е. их значения ниже, чем можно было бы оценить на основании популяции большего объема).

С другой стороны, оба эти показателя оцениваются для каждого из включенных в анализ локуса, а затем рассчитывается средний показатель – среднее число аллелей на локус или средняя гетерозиготность на локус. При этом упускается из вида, что каждое животное, прежде всего, име-

ет мультилокусный генотип, и именно сочетаемость различных аллелей разных локусов в конечном итоге формирует фенотипическое проявление этого мультилокусного генотипа (в том числе показатели продуктивности для сельскохозяйственных животных).

Постановка задачи. Более оправданным, на наш взгляд, является анализ генетической изменчивости животных на основе их мультилокусных генотипов. Пример такого анализа для свиней крупной белой породы мы изложим в настоящей работе.

Материалы и методы исследования. В зависимости от происхождения были сформированы четыре группы свиней крупной белой породы:

- 1 – чистокровные животные селекции компании «РІС»;
- 2 – гибриды, полученные в результате сочетания чистокровных свиноматок селекции компании «РІС» с чистокровными хряками селекции компании «УРВ» ($1/2$ «РІС» \times $1/2$ «УРВ»);
- 3 – гибриды, полученные в результате сочетания гибридных свиноматок ($1/2$ «РІС» \times $1/2$ «УРВ») с чистокровными хряками селекции компании «УРВ» ($1/4$ «РІС» \times $3/4$ «УРВ»);
- 4 – чистокровные животные селекции компании «УРВ».

Объектом исследований была ДНК свиней вышеназванных групп, которые принадлежат племенному заводу «Степной» Запорожской области. В целом, для каждого животного был оценен его генотип по пяти микросателлитным локусам: S0005, S0155; S0090, S0101 и SW857. Все лабораторные исследования микросателлитов ДНК были проведены на основании методики, описанной в работе В.С. Топихи и др. [5].

После этого для каждого животного был составлен его мультилокусный генотип. Животные, у которых невозможно было определить одну или более аллелей по любому использованному локусу, из дальнейшего анализа исключались. В целом, в анализ было включено 201 животное.

Далее были подсчитаны частоты с которыми встречаются различные варианты мультилокусных генотипов для

животных в каждой из групп. Эти значения и явились основой для дальнейшего анализа.

На основе распределения мультилокусных генотипов была проведена оценка фактического и потенциального генетического разнообразия свиней. Для этого использовалось два различных подхода.

Первый подход. Была построена кривая, отражающая увеличение генетического разнообразия (т.е. числа выявленных мультилокусных генотипов) в зависимости от количества включенных в анализ особей. При этом использовался метод «разрежения» (rarefaction), при котором случайным образом формировались многочисленные псевдовыборки различного объема, куда включались особи из эмпирических данных [6]. В последующем, используя регрессионные модели – метод М. Коха и др. [7] и метод Форда-Волфорда, была произведена оценка асимптоты данной кривой [8]. Эта величина и была принята за оценку фактического генетического разнообразия в популяции.

Второй подход. Использовались непараметрические методы оценки разнообразия, основанные на моделях А. Чао [9], ранее хорошо зарекомендовавшие себя в синэкологических исследованиях видового разнообразия биоценозов.

Кроме того, была оценена сопряженность встречаемости различных мультилокусных генотипов в различных группах свиней на основе критерия Хи-квадрат Пирсона с поправкой Йетса.

Все расчеты были проведены с использованием программ PAST v.1.82, SPADE v. 3.1 и STATISTICA v.5.5.

Результаты исследований. Всего в анализе было выявлено 131 мультилокусный генотип. В таблице 1 приведено число выявленных мультилокусных генотипов в различных группах свиней и число уникальных генотипов, обнаруженных только в одной из этих групп.

Уровень генетического разнообразия, оцененный на основании доли выявленных мультилокусных генотипов, достовер-

но различался среди свиней различной селекции ($\chi^2 = 15,48$; $df = 3$; $p < 0,001$). Наибольшее число различных вариантов мультилокусных генотипов было выявлено во второй группе, свиньи которой имели генотип $1/2$ «PIC» \times $1/2$ «UPB».

Таблица 1

Распределение мультилокусных генотипов на основании пяти микросателлитных локусов в четырех группах свиней крупной белой породы

Показатели генетического разнообразия	Группа			
	1	2	3	4
Объем группы	35	124	24	18
Общее число мультилокусных генотипов*	$\frac{31}{23,7}$	$\frac{83}{63,4}$	$\frac{23}{17,6}$	$\frac{16}{12,2}$
Число уникальных мультилокусных генотипов**	$\frac{20}{64,5}$	$\frac{68}{81,9}$	$\frac{15}{62,5}$	$\frac{12}{75,0}$

Примечания: * – в числителе абсолютная частота, в знаменателе – относительная от общего числа выявленных мультилокусных генотипов для всей популяции в целом (т.е. 131); ** – в числителе абсолютная частота, в знаменателе – относительная от числа выявленных мультилокусных генотипов для данной группы.

Доля выявленных мультилокусных генотипов среди животных этой группы составляет 63,4% от общего числа выявленных генотипов для всей популяции в целом (т.е. 131). А наименьшее число вариантов мультилокусных генотипов было обнаружено в четвертой группе – группе чистокровные животные селекции компании «UPB» – всего 12,2% от общего числа выявленных генотипов. Это свидетельствует об очень высоком уровне генетической консолидированности, на которую направлена работа компании «UPB».

С другой стороны, отсутствовала достоверная разница в отношении доли уникальных генотипов, выявленных для животных отдельных групп ($\chi^2 = 5,14$; $df = 3$; $p = 0,162$).

В целом, между количеством проанализированных животных и числом выявленных вариантов мультилокусных генотипов имеется высокая достоверная корреляция ($r = 0,998$; $n = 4$; $p = 0,002$). Это еще раз подтверждает необходимость оценки реального генетического разнообразия для

того, чтобы можно было сравнивать эти оценки в выборках животных различного объема.

В таблице 2 приведены оценки реального генетического разнообразия в четырех группах свиней крупной белой породы, полученные с использованием различных методов.

Таблица 2

Оценки реального генетического разнообразия в четырех группах свиней крупной белой породы

Показатели	Группа			
	1	2	3	4
Регрессионные методы				
Метод М.Коха и др.	274,1	275,8	521,9	131,5
Метод Форда-Волфорда	149,8	163,4	263,5	68,5
Непараметрические методы				
Chao1	227,0	201,0	265,0	65,0
Chao1-bc	157,0	191,6	138,5	46,3
ACE	197,4	204,5	276,0	72,0
ACE-1	247,2	223,0	276,0	72,0
Jack1	58,2	140,4	44,1	29,2
Jack2	82,8	184,9	63,4	40,0
$X_{boot} \pm SE^*$	174,1±25,0	198,0±13,5	231,0±49,4	65,5±9,9
95% CI**	86,4-231,5	168,6-235,9	112,6-374,2	46,3-96,3

Примечания: * – бутстреп-оценка среднего арифметического и его статистическая ошибка; ** – нижняя и верхняя границы 95% доверительного интервала бутстреп-оценки среднего арифметического.

В целом, для свиней различных групп отмечается некоторый разброс в оценках фактического генетического разнообразия, полученными с использованием различных подходов (табл. 2). Данный показатель варьирует в среднем от 65,5 вариантов мультилокусных генотипов (для свиней группы 4) до 231,0 варианта (для свиней группы 1), т.е. фактическое разнообразие данной популяции превышает свою выборочную оценку почти в 1,8 раза.

Сравнивая использование различных методов оценивания генетического разнообразия, можно отметить, что аналитические (регрессионные) методы дают достаточно близкие оценки к значениям, полученным при использовании непараметрических методов. Хотя среди последних методы «складного ножа» (Jack1 и Jack2) дают самые низкие оценки (табл. 2).

Как видно, наивысший уровень реального генетического разнообразия (т.е. потенциальное число вариантов мультилокусных генотипов, выявленное в данной выборке бесконечного объема) отмечается или в группе 2, или в группе 3. Таким образом, генетическое разнообразие, как и следовало ожидать, оказалось наивысшим среди гибридных свиной крупной белой породы, полученных в результате скрещивания животных разного направления селекции.

С другой стороны, не меньший интерес вызывает сопряженность различных вариантов мультилокусных генотипов, выявленных среди свиной селекции компаний «PIS» и «UPB», а также их гибридов. И прежде всего, насколько сохраняются генные варианты, характерные для свиной различной селекции, у гибридных свиной первого поколения и свиной, полученных в результате их возвратного скрещивания с одной из материнских пород. В таблице 3 приведено число общих мультилокусных генотипов для животных различных групп.

Таблица 3

Число общих мультилокусных генотипов для свиной крупной белой породы различных групп

Группа	Группа			
	1	2	3	4
1	X	10	3	4
2	9,6	X	8	3
3	5,9	8,2	X	2
4	9,3	3,1	5,4	X

Примечание. Над диагональю – абсолютные значения, под диагональю – доля общих генотипов среди присутствующих в сравниваемой паре групп.

Как видно, между свиньями различных групп практически отсутствуют общие генотипы. Например, среди животных групп 1 и 2 выявлено только 10 общих мультилокусных генотипов из 104 вариантов, зарегистрированных в одной или другой группах (т.е. 9,6%). Среди животных групп 1 и 3 – только три общих генотипа (т.е. 5,9% от зарегистрированных суммарно в обеих из них). Это свидетельствует о том, что генные варианты, присутствующие у свиней, полученных при селекции компаниями «PIC» и «UPB», разрушаются и практически отсутствуют у гибридов.

Хотя при этом формирование генетического разнообразия не происходит полностью случайным образом. В таблице 4 приведены оценки степени сопряженности в характере распределения тех или иных вариантов мультилокусных генотипов у свиней различных групп.

Таблица 4

Оценки степени сопряженности в характере распределения тех или иных вариантов мультилокусных генотипов у свиней различных групп

Группа	Группа			
	1	2	3	4
1	X	15,2	NS	NS
2		X	8,3	13,5
3			X	NS
4				X

Примечание. NS – недостоверная оценка критерия Хи-квадрат Пирсона.

Как и следовало ожидать, высокий уровень сопряженности между встречаемостью различных вариантов мультилокусных генотипов отмечается между гибридами первого поколения (группа 2) с одной стороны, и родительскими животными (группы 1 и 4) – с другой. Кроме того, как и следовало ожидать, отмечена также сопряженность между гибридными животными групп 2 и 3.

Выводы. Свиньи крупной белой породы, импортированные фирмой «UPB», характеризуются очень низким уровнем

генетического разнообразия, что, очевидно, свидетельствует об очень высокой степени их отселекционированности. Однако, свойственные им генотипы практически полностью разрушаются уже у гибридов I поколения, полученных в результате сочетания с животными селекции других фирм (в частности фирмы «PIS»). Это дает основание предположить, что эффективная племенная работа с животными селекции компании «UPB» возможна только путем их разведения «в себе», то есть, основываясь на постоянном использовании нового генетического материала зарубежного происхождения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рубан С. Завдання аграрної науки (галузь тваринництва) у взаємозв'язку з інтеграційними процесами / С. Рубан // Тваринництво України. — 2008. — № 4. — С. 8—11.
2. Програма селекції великої білої породи свиней в Україні на 2003-2012 роки / [В. А. Пицолка, А. М. Литовченко, М. Д. Березовський та ін.] — К. : Державний науково-виробничий концерн "Селекція", 2004. — 104 с.
3. Луговой С. И. Характеристика генетической дифференциации разных генеалогических линий свиней крупной белой породы английской селекции / С. И. Луговой, С. С. Крамаренко // Сборник научных трудов XIV международной научно-практической конференции по свиноводству "Современные проблемы интенсификации производства свинины (11-13 июля 2007г.). — Ульяновск : ГСХА, 2007. — Т. 1. — С. 233—240.
4. Зельдин В. Зарубежные генотипы в отечественном воспроизводстве свиней / В. Зельдин // Тваринництво України. — 2008. — № 7. — С. 17—20.
5. Оценка генетического разнообразия популяций свиней крупной белой породы разного происхождения / [В. С. Топиха, С. И. Луговой, С. С. Крамаренко та ін.] // Материалы Международной научно-практической конференции «Актуальные вопросы аграрной науки и образования», посвященной 65-летию Ульяновской ГСХА. — Ульяновск : ГСХА, 2008. — Т. 2. — ч. 1-2. — С. 130—135.
6. Hulbert S.H. The nonconcept of species diversity: a critique and alternative parameters / S. H. Hulbert // Ecology. — 1971. — V. 52. — P. 577—586.
7. Estimating population size by genotyping faeces / [Kohn M. H., York E. C., Kamradt D. A., Haught G. and other] // Proc. R. Soc. Lond. Ser. B. — 1999. — V. 266. — P. 657—663.
8. Аналіз структури популяцій / [Шебанін В. С., Мельник С. І., Крамаренко С. С., Ганганов В. М.]. — Миколаїв : МДАУ, 2008. — 240 с.
9. Chao A. User's guide for program SPADE v. 3.1 / Chao A., Shen T.-J. — Taiwan, 2006. — 47 p.