

Сохранение изменчивости в популяциях

В.Т. Сметанин, доктор сельскохозяйственных наук

Представлені матеріали комплексних досліджень популяцій свиней селекції Дніпропетровського СГІ, що розводилися тривалий час “у собі”. За допомогою кореляційно-регресійного, кластерного і популяційного аналізу генетичних маркерів встановлена достатньо чітка диференціація популяції на структурні елементи, асоційовані с генеалогією.

К концу двадцатого века достаточно четко проявилась проблема устойчивости культурных популяций растений и животных к факторам среды и способности их к дальнейшему качественному и количественному развитию. С генетической точки зрения это обусловлено длительной, на протяжении многих поколений, однонаправленной утилитарной селекцией “плюс вариант”, что привело к значительному сужению генетической изменчивости (потере части аллелофонда), разрушению коадаптивных комплексов генов и, как следствие, потере высокопродуктивными сортами и породами способности адекватно реагировать на внешние условия и интенсивное использование. Вопрос усугубляется активной экспансией в производство ограниченного количества, так называемых, коммерческих сортов и пород, что также ведет к уменьшению разнообразия. Названная проблема отнесена ФАО к одной из глобальных проблем человечества на первую половину XXI века, а ее решение предполагается на уровне правительств и межправительственных организаций под эгидой ООН [1].

Вместе с тем подчеркивается дефицит теоретических разработок в области сохранения сельскохозяйственных популяций, особенно локальных, и предлагается при их изучении проводить генетический мониторинг, уходить от оценок отдельных признаков животных, а использовать популяционные показатели всего жизненного цикла [1–4].

Цель исследований – на основании комплексных зоотехнических, генетико-популяционных и статистических исследований определить наличие в длительно разводимой “в себе” популяции свиней селекции Днепропетровского СХИ (ныне ДГАУ) наличие изменчивости, а также достаточность ее уровня для дальнейшего самостоятельного развития без привлечения селекционного материала других пород, типов, линий и стад.

Методика исследований. При выполнении исследований была изучена генеалогическая структура стада свиней. Дана комплексная оценка репродуктивным качествам (1325 опоросов) и скорости роста (513 гол.) животных, принадлежащих к различным генеалогическим структурным единицам стада, и эффективности их использования по различным схемам разведения. Осуществлен более чем 20-летний генетический мониторинг

генофонда популяции по 9–13 локусам эритроцитарных антигенов, который проведен по общепринятым методикам [5–7], на основании чего изучали основные генетико-популяционные показатели генофонда свиней селекции ДСХИ и их особенности. При этом вычисляли встречаемость генотипов, частоту конкретных аллелей эритроцитарных антигенов, уровень гомозиготности у животных и популяционный показатель (H) – средняя гетерозиготность на особь [8]. Расчитывали генетические расстояния (D_N) по Нею [9] между различными структурами популяции.

Генофонд по эритроцитарным антигенам животных популяции, относящихся к различным классам, учитывая признаки их продуктивности, изучали с использованием методики предложенной нами с Е.В. Хмелевой [10]. При этом определяли основные генетико-популяционные показатели и генетическое расстояние между классами в зависимости от величины удаленности от средней арифметической.

Оценку генетических особенностей свиней селекции ДСХИ по молекулярно-генетическим маркерам проводили при помощи полимеразной цепной реакции. Методом ISSR-PCR определяли микросателлитные локусы по общепринятым методам [11, 12] (пример *AGCAGCAGCAGCAGCAGCG*). Мононуклеотидный полиморфизм митохондриальной ДНК определяли по М.Ф. Rothschild [13] и Т.Н. Short et. Al. [14] с использованием метода ПДРФ. В качестве праймеров использовали MITPRO2F 5'-CAT ACA AAT ATG TGA CCC CAA A-3' и MITPROR-5'-GTG AGC ATG GGC TGA TTA GTC-3' (дизайна лаборатории генетики Полтавского института свиноводства).

Тестирование ДНК животных проводили в лаборатории генетики Полтавского НИИ свиноводства УААН (Статус лаборатории генетического контроля № 2163 МинАПК Украины). Кластерный анализ проводили согласно методическим рекомендациям И.А.Ефимова [15].

Результаты исследований. Установлено, что во всех опоросах, с учетом первого, линейные и кроссированные свиноматки имеют практически одинаковые показатели по всем изученным признакам, за исключением молочности – массы гнезда в 21 сутки (таблица).

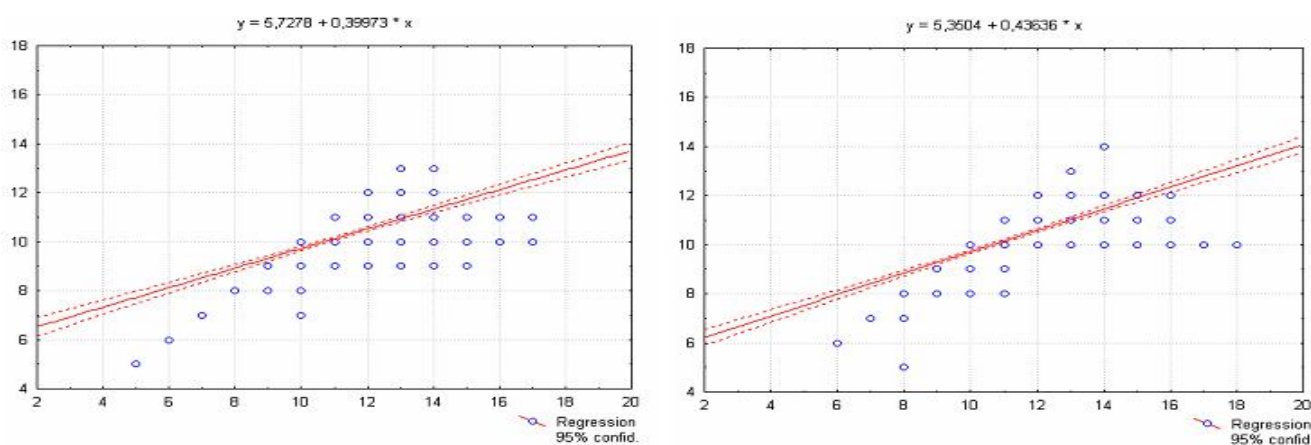
Репродуктивные качества свиноматок по всем опоросам

Генеалогическая принадлежность маток	n , маток	n , опоросов	Многоплодие, гол.	21-сут.		60-сут.		
				гол.	масса гнезда, кг	гол.	масса гнезда, кг	масса 1 гол., кг
Линейные	120	612	10,7±0,08	10,3±0,06	66±0,5	9,9±0,06	165±0,93	16,7±0,03
			18,9	14,1	18,6	13,3	13,6	4,0
Кроссированные	125	713	10,6±0,07	10,2±0,05	63±0,44	9,9±0,05	164±0,77	16,6±0,03
			17,4	13,6	18,1	12,0	12,2	4,6
Все стадо	245	1325	10,7±0,05	10,2±0,04	64±0,33	9,9±0,03	165±0,59	16,6±0,02
			18,0	13,9	18,6	12,4	12,6	4,3

При сравнении кроссов, полученных по различным схемам, обнаружены определенные отличия. Так, наиболее высоким многоплодием отличались кроссированные свиноматки (Орех×Быстрый; на 0,1–0,6 гол. выше в сравнении с полученными по другим схемам). Но достоверная разница ($P >$

0,95) обнаружена только с матками, полученными по схеме (Быстрый×Борец). Выявлена также достоверная разница ($P > 0,95$) между массой гнезд в 2 мес. от свиноматок (Орех×Быстрый) и (Быстрый×Орех) в пользу первых (+5 кг).

Для более глубокого изучения особенностей продуктивности у животных, принадлежащих к различным генеалогическим структурам стада, был проведен корреляционно-регрессионный анализ. Графики коэффициентов прямолинейной (рис. 1) регрессии указывают на заметное различие в рассеивании изученных признаков около построенных теоретических линий регрессии у линейных и кроссированных свиноматок, а также на неодинаковый характер линий криволинейной регрессии. Эти расхождения особенно заметны у высокопродуктивных животных (верхняя часть графиков). Такая тенденция была обнаружена по всем изученным



признакам.

Рис. 1. График прямолинейной регрессии между многоплодностью (x) и количеством поросят в 21 сутки (y)

Изучение степени корреляции по межгрупповым коэффициентам Пирсона между репродуктивными качествами свиней селекции ДСХИ разных схем разведения, когда в качестве аргумента “x” выступают результаты, полученные по одной схеме разведения, а фактора “y” – по другой, и проведенный кластерный анализ на основе полученных коэффициентов показали выраженную тенденцию к ассоциации близких по генеалогической принадлежности массивов (рис. 2).

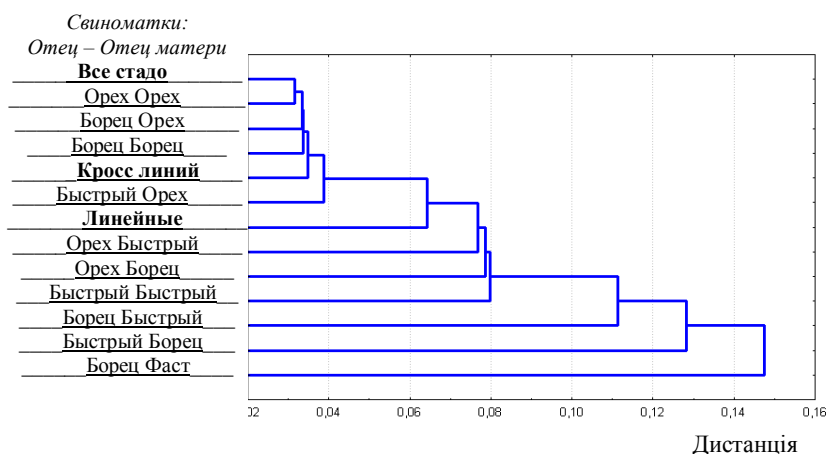


Рис. 2. Кластерный анализ по межгрупповым коэффициентам корреляции

Для поиска и генетических особенностей внутривидовых структур при помощи иммуногенетических маркеров изучали генофонды генеалогических и так называемых генетических (отцовская и материнская линии), созданные путем отбора альтернативных аллелей трех локусов детерминирующих эритроцитарные антигены. Было установлено, что генетическое расстояние между генетическими линиями 0,12, а между традиционно разводимыми линиями Ореха, Быстрого и Борца – 0,02–0,04.

Проведено также изучение генофондов групп особей, находящихся в различных классах на шкалах распределения продуктивности конкретных хозяйственных признаков. Обнаружена положительная связь между увеличением генетических различий генофондов свиней сравниваемых классов (выраженная через генетическое расстояние по Нею) и различиями в их продуктивности. Так, по многоплодию (рис. 3) между близкими “зеркальными” классами “+0,2σ–0,7σ” и “–0,2σ–0,7σ” генетическая дистанция по Нею (D_N) составляла 0,01, то между классами, более отдаленными друг от друга, 0,04–0,07. По другим признакам соответственно: количество поросят в 21 сут. – 0 и 0,03–0,5; масса поросят в 2 мес. – 0,01–0,04 и 0,07–0,13. Во всех “положительных” классах, кроме близких к средней арифметической, отмечен более высокий уровень гетерозиготности на особь (Н) в сравнении с представителями “отрицательных” классов, как и то, что с продвижением по шкале продуктивности вправо величина этого показателя растет, кроме крайнего “положительного класса”.

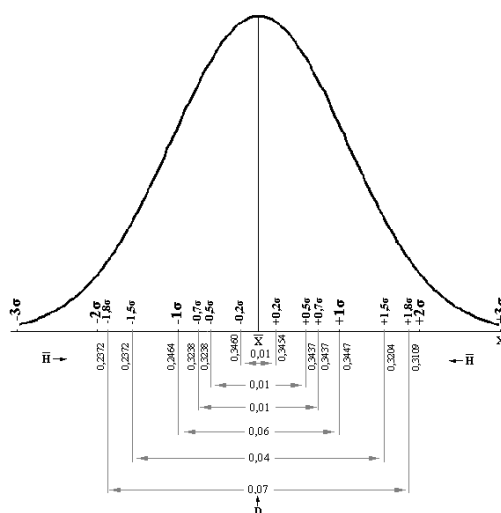


Рис. 3. Классы распределения по многоплодности, генетическая дистанция (D_N) между ними и средняя гетерозиготность на особь в них

Скорость роста животных изучали на контрольном выращивании, которое подтвердило высокую консолидацию по этому признаку представителей традиционных генеалогических линий. Более того, в 6 мес. все линейные и высоколинейные подсвинки имели достоверно большую

массу, чем полученные по классическому двухлинейному кроссу (+4,2 кг; $P > 0,95$). Но трехлинейные животные на 4,3–10,9 кг превышали этот показатель, полученный по другим схемам разведения, что свидетельствует о различной наследственной организации. Разница достоверна (в различной степени) между сравниваемыми группами свиней, кроме высоколинейных подсвинков линии Ореха, линейных Борца и всех линейных. Описательные статистики подтверждают, что несмотря на расхождение в средней массе в 6 мес. (рис. 4) животные, полученные по различным схемам внутрипопуляционного разведения, имели близкие величины медиан и квартильного размаха – интервала около медианы, что включает в себя 50 % наблюдений представленных выборок. И хотя наиболее высокие показатели массы в 6 мес. в среднем имели трехлинейные животные, максимальная величина этого признака отмечена при линейном разведении.

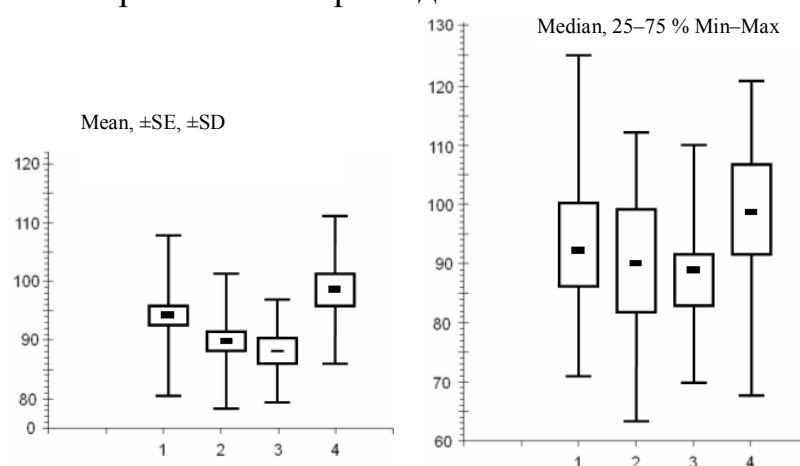


Рис. 4. Статистические показатели массы свиней на выращивании:
 1 – линейные; 2 – высоколинейные; 3 – двухлинейные; 4 – трехлинейные

Изучение первичной структуры ДНК свиней исследуемой популяции показало заметные отличия между генеалогическими линиями в концентрации некоторых ISSR-PCR-маркеров. Так, по микросателлитным локусам с длиной 495 пар нуклеотидов (п.н.) генофонд линии Ореха в 2,2–3,2 раза превосходил по этому показателю сравниваемые структуры популяции. По локусу длиной 570 п. н. также наиболее высокая концентрация отмечена у этой линии. В генофонде животных линии Борца была установлена наиболее высокая концентрация маркеров длиной 800 и 890 п.н.

Кластерный анализ, проведенный по всем 27 выявленным маркерам, показал (рис. 5), что генофонд свиней линии Ореха образует один кластер со всей популяцией. Близко к нему примыкает генофонд линии Борца, а Быстрого – заметно удален. То есть степень близости по ISSR маркерам у генеалогических структурных единиц популяции согласуется с результатами, полученными по межгрупповым коэффициентам корреляции репродуктивных качеств (ср. рис. 2).

Данные изучения полиморфизма длин рестриктных фрагментов Tas-I, митохондриальной ДНК (428 п.н.) региона, который характеризуется высокой

породоспецифичностью и позволяет достаточно глубоко оценивать эволюционную ретроспективу пороодообразования, подтвердили, что среди тестированных свиней 67 % имели гаплотип, характерный для породы мейшан; около 15 % обладали гаплотипом мт-ДНК беркширской породы, 7 % – ландрас. Оставшиеся 11 % распределены по уменьшаемой между дюрок, гемпшир, уельская и мангалица, то есть породами, которые не отмечены в истории (во всяком случае обозримой не менее чем 80–100 годами) создания свиней селекции ДСХИ.

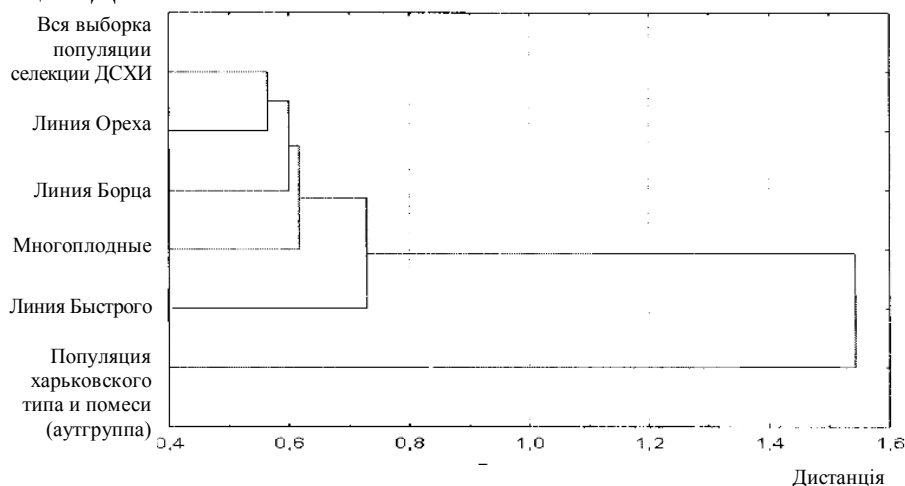


Рис. 5. Кластерный анализ по ISSR-PCR – ДНК маркерам свиней различной генеалогической принадлежности

Обсуждение. Проведенные исследования подтвердили, что животные селекции Днепропетровского СХИ имеют высокую и стабильную продуктивность как по репродуктивным качествам, так и по скорости роста при высокой фенотипической идентичности изученных признаков у свиней различной генеалогической принадлежности внутри популяции. Это свидетельствует об их консолидации, а длительность эксплуатации (в среднем 5,4 опороса с учетом первоопоросок) – о высокой технологической адаптации. Изложенное и является одной из целей селекции в культурных стадах.

В то же время высокая консолидация не позволяет проявляться генетическим эффектам при внутривидовой гибридной гибридизации – кроссе линий и ставит вопрос о дефиците генетической изменчивости при дальнейшем разведении “в себе”. Поэтому потребовались нетривиальные методы исследований, направленные на поиск в этой “закрытой” много поколений популяции сохранения изменчивости, способной обеспечить дальнейшее развитие свиней селекции ДСХИ.

В результате проведенных исследований установлено, что в изучаемой популяции выделяются и дифференцируются через количественное выражение несколько **структурных уровней**: первый – *генеалогический*, не проявляемый фенотипически, но подтвержденный генетико-популяционными показателями и кластерным анализом. Два уровня, обнаруживаемые при помощи иммуногенетических маркеров (один

обусловливается селекционным воздействием на генетические маркерные локусы, другой – различием продуктивности на шкале нормального распределения признака). Четвертый – *проявляемый по молекулярно-генетическим маркерам ядерной ДНК*, ассоциированный с генеалогией. Здесь необходимо подчеркнуть, что кластеры, образованные по уровням корреляции репродуктивных качеств различных генеалогических структур популяции и составленные по маркерам ядерной ДНК, имеют одинаковую соотносительность генеалогических линий. Это очень важно, так как подтверждает неформальность и различия сложившихся генетических композиций в структурных подсистемах популяции. Пятый – *дифференцируемый по генам митохондриальной ДНК*, характерным для различных пород свиней.

С этой точки зрения, мы видим сложную “макро-систему”, в которой обнаруживается внутреннее строение, образованное разнонаправленными и разноуровневыми процессами, находящимися между собой в сложных под- и соподчиненных отношениях.

На верхнюю ступеньку иерархических отношений перечисленных уровней можно поставить генеалогическую принадлежность, поскольку она обеспечивает наличие и передачу того или иного генома во времени, но реализация наследственного пула этой структуры зависит от отбора и подбора, которые могут культивировать данную комбинацию наследственности путем линейного или инбредного разведения, или разрушить ее при кроссировании.

Выводы

Не смотря на то, что в уровне продуктивности не было выявлено различий между свиньями, полученными по различным схемам внутрипопуляционного разведения, частоты распределения изученных признаков, кластерный, корреляционно-регрессионный анализ и молекулярное тестирование ядерной и митохондриальной ДНК животных позволили увидеть достаточно четкую дифференциацию популяции на структурные элементы, ассоциированные с генеалогией.

Принадлежность к какой-либо генеалогической линии исследуемой популяции – не формальная принадлежность к группе свиней, имеющих родственные отношения, а различная организация и реализация наследственного материала животных в популяционных показателях относительно других линий.

В популяции свиней селекции Днепропетровского СХИ, длительно разводимой “в себе” сохраняется генетическая изменчивость, а высокая продуктивность и длительность хозяйственного использования животных свидетельствуют о достаточном уровне этой изменчивости для дальнейшего развития популяции на основе собственного генофонда.

Библиография

1. Учебный пакет. Состояние мировых генетических ресурсов животных. Поддержка развития Доклада страны при подготовке первого доклада о состоянии мировых генетических ресурсов животных. – FAO, 2001.
2. Алтухов Ю.П. Генетические процессы в популяциях. – М.: ИКЦ “Академкнига”. – 2003. – 431 с.
3. Прохоренко П.Н., Паронян И.А. Состояние генетических ресурсов домашних животных в мире и концепция их сохранения // Селекционно-генетические методы повышения продуктивности с.-х. животных. – М.: Росинформагротех, 2006. – С. 3–10.
4. Генетичні механізми системних процесів популяційного рівня / В.В. Кириченко, П.П. Литун, А.А. Корчинський, В.В. Вовкодав // Фактори експериментальної еволюції організмів. – К.: Аграрна наука, 2003. – С. 54–61.
5. Andersen E.A. Study of blood groups of the pigs. – Munksgaard-Copenhagen, 1943. – 229 p.
6. Безенко С.П. Методические рекомендации по определению происхождения свиней на основе анализа наследования антигенов эритроцитов. – Дубровицы, 1974. – 25 с.
7. Использование иммуногенетического анализа в племенном свиноводстве: Методические рекомендации / СибНИПТИЖ; Н.О. Сухова, Г.Л. Дмитриева, Н.М. Набродова. – Новосибирск, 1987. – 59 с.
8. Глазко В.И. Биохимическая генетика овец. – Новосибирск: Наука, 1985. – 167 с.
9. Ней М. Генетические расстояния и молекулярная таксономия // Вопросы общей генетики: Тр. XIV Междунар. генетич. конгресса. – М.: Наука, 1981. – С. 7–18.
10. Хмельова О.В., Сметанин В.Т. Використання генетично-популяційних та імуногенетичних показників в селекції свиней: Рекомендації. – Дніпропетровськ, 2002. – 13 с.
11. Оніщенко М.М., Балацький В.М. Оптимізація техніки ISSR-PCR типування для вивчення генетичного поліморфізму генотипів різних порід свиней // Генетич. аспекти онто- і філогенеза. – Днепропетровск, 2004. – С. 101–102.
12. Zietkiewich Z.E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by sequence repeat (ISSR) anchored polymerase chain reaction amplification // Genomics. – 1994. – Vol. 20. – P. 176–183.
13. Rothschild M.F. Genetics and reproduction in the pig. // Anim. Reprod. Sci. – 1996. – Vol. 42. – 143 p.
14. Ефимов И.А. Парногрупповой метод кластеризации в животноводстве // Аграрная наука. – 2003. – № 1. – С. 20.
15. Боровиков В. Statistica: искусство анализа данных на компьютере.. – СПб.: Питер, 2001. – 656 с.