

И.Ф. ГРИДЮШКО, А.А. БАЛЬНИКОВ, О.Я. ВАСИЛЮК,
И.П. ШЕЙКО

**ПОПУЛЯЦИОННАЯ ПРИНАДЛЕЖНОСТЬ ХРЯКОВ
БЕЛОРУССКОЙ ЧЕРНО-ПЕСТРОЙ ПОРОДЫ
НА ОСНОВЕ МИКРОСАТЕЛЛИТНОГО АНАЛИЗА**

*Научно-практический центр Национальной академии наук Беларуси
по животноводству, г. Жодино, Республика Беларусь*

В статье представлены материалы исследований, целью которых было определить популяционную принадлежность хряков белорусской черно-пестрой породы на основе микросателлитного анализа. Генетическое тестирование проводилось на свиньях белорусской черно-пестрой породы, разводимых в КСУП «Племзавод «Ленино», СГЦ «Вихра» и ОАО «СГЦ «Заречье». На основе проведенных исследований установлено, что все хряки СГЦ «Заречье» близки по происхождению с хряками из племзавода «Ленино». Совпадение микросателлитного анализа хряков двух линий Слуцка и Застона с хряками таковых линий из племзавода «Ленино» указывает на их чистопородность и общность происхождения.

Ключевые слова: порода, популяция, линия, хряк, локус, аллель, микросателлит.

I.F. GRIDYUSHKO, A.A. BALNIKOV, O.Y. VASILYUK, I.P. SHEIKO

**POPULATION BELONGING OF BELARUSIAN
BLACK-AND-WHITE BREED OF BOARS BASED ON
MICROSATELLITE ANALYSIS**

*Research and Practical Center of the National Academy of Sciences of
Belarus for Animal Breeding, Zhodino, Republic of Belarus*

The paper presents materials of research with purpose to determine population belonging of boars of Belarusian black-and-white breed based on microsatellite analysis. Genetic testing was carried out on pigs of the Belarusian black-and-white breed, bred at breeding farm CAUE Ple-mzavod Lenino, SGC Vikhra and SGC Zarechye OJSC. Based on the research carried out, it has been determined that all the boars of Zarechye SGC were close in origin to the boars of Lenino breeding farm. Coincidence of microsatellite analysis results of boars of two lines of Slutsk and Zaston with boars of those lines from the Lenino breeding farm indicates their purebredity and common origin.

Keywords: breed, population, line, boar, locus, allele, microsatellite.

Введение. Развитие животноводства во всем мире сконцентрировалось на использовании ограниченного числа пород, что привело к существенному снижению численности локальных пород, которые до недавнего времени активно вовлекались в сельскохозяйственное производство. Наряду с уменьшением численности локальных пород

наблюдается активное использование скрещивания оставшейся незначительной части чистопородного поголовья, что ставит локальные породы под угрозу исчезновения [1]. С генетической точки зрения, использование кроссбридинга приводит к исчезновению целого ряда уникальных аллелей, прежде всего редких, что может стать причиной потери ценных признаков и свойств пород, включая качественные показатели получаемой продукции, устойчивость к заболеваниям, адаптационную способность к природно-климатическим условиям конкретных регионов и др. В этой связи важно оценить существующее состояние аллелофонда пород, идентифицировать популяции и индивидуумов – носителей исходных породоспецифических аллелей и уникальных аллельных сочетаний для разработки на основе полученной информации программ сохранения генетической аутентичности пород [2].

Исследование животных по ДНК-микросателлитам позволяет точнее оценить гетерозиготность популяции, то есть ее генетическое разнообразие. Чем оно выше, тем легче животные адаптируются к окружающей среде, что имеет значение в селекции, в том числе при ввозе животных из-за границы. С помощью ДНК-микросателлитов можно оценить степень инбридинга и тем самым снизить вероятность близкородственного спаривания, а также повысить точность учета результатов по выявлению происхождения животных. К преимуществам микросателлитного анализа следует отнести высокую точность и достоверность исследований, возможность постановки мультиплексных анализов [3].

Подтверждение линейной и популяционной принадлежностей хряков белорусской черно-пестрой породе позволит эффективно проводить селекционно-племенную работу, как в отдельно взятом стаде, так и с породой в целом с целью сохранения и совершенствования её уникальных породных особенностей (высокая адаптационная способность к технологиям, применяемым в республике, отличные вкусовые качества и технологические свойства свинины). В связи с этим, важное значение приобретает оценка происхождения хряков различных линий, разводимых в племенных предприятиях или отдельно взятой популяции на основе микросателлитного анализа, направленная на сохранение структурного разнообразия породы, а также для эффективного использования генетического и племенного потенциалов существующих линий в племенном свиноводстве республики.

Цель исследований – определить популяционную принадлежность хряков белорусской черно-пестрой породы на основе микросателлитного анализа.

Материал и методика исследований. Исследования по генетическому тестированию проводились на свиньях белорусской черно-пестрой породы, которые разводились в КСУП «Племзавод «Ленино», СГЦ

«Вихра» и ОАО «СГЦ «Заречье». Из оставшейся популяции свиней, содержащейся в ОАО «СГЦ «Заречье», было протестировано пять основных хряков, по одному из каждой линии. В качестве биологического материала использовали пробы ушной ткани. Выделение ДНК осуществляли с помощью колонок Nexttec («Nexttec™ Biotechnologie GmbH», Германия) согласно протоколу фирмы-изготовителя. Исследования в области генетики по 9 STR-локусам (S0155, S0355, S0386, S0005, SW72, SW951, S0101, SW240, SW857), были проведены в лабораторных условиях Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста». Обработку данных капиллярного электрофореза осуществляли путем перевода длин фрагментов в числовое выражение на основании сравнения их подвижности со стандартом ДНК. Биометрическую обработку материалов исследований выполняли с применением методов вариационной статистики по П.Ф. Рокицкому [4] на персональном компьютере с использованием пакета программы «Microsoft Excel» с плагином GenAlEx v. 6.5 (Peakall R., Smouse P.E., 2012) [5].

Результаты эксперимента и их обсуждение. Оценка молекулярной вариации (генетической изменчивости породы) показала, что 84,0% генетической изменчивости породы приходилось на изменчивость внутри выборок изученных популяций и 16,0% — на изменчивость между популяциями ($p < 0,01$) (рисунок 1).

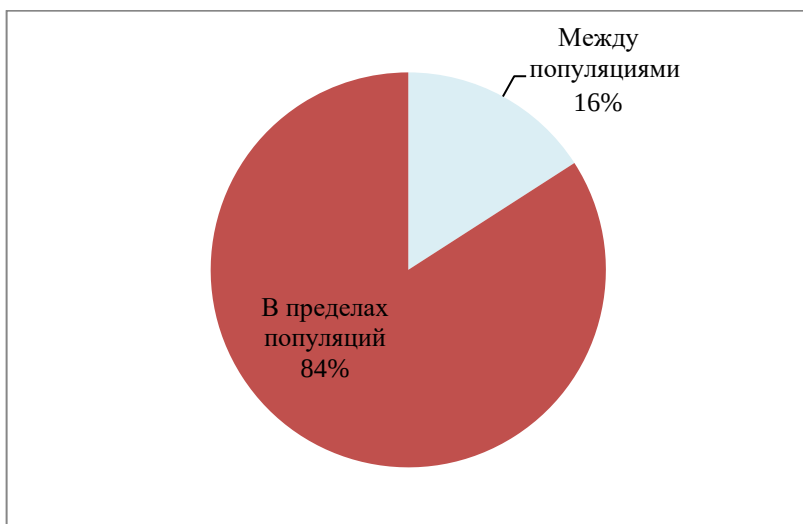


Рисунок 1 – Структура генетической изменчивости породы

Результаты анализа молекулярной вариации (R-статистики) свидетельствуют о том, что 26,8% ($p < 0,001$) общей генетической изменчивости, отмеченной среди исследованных животных, определяется принадлежностью их к племпредприятию (т.е., характером селекционной работы в них) (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты анализа молекулярной вариации у свиней белорусской черно-пестрой породы из разных хозяйств по 9 локусам МС-ДНК с учетом микросателлитной изменчивости

Источник изменчивости	df	SS	MS	R-статистики	P
Между популяциями	2	7726,471	3863,235	Rst=0,268	$\leq 0,001$
Между животными	45	32102,175	713,382	Ris=0,706	$\leq 0,001$
В пределах животного	48	5904,000	123,000	Rit=0,785	$\leq 0,001$

Оценка микросателлитной изменчивости племенных животных, входящих в отдельные стада, составляющие породу, позволяет определить долю влияния на их чистопородность основных критериев – популяции (селекционного стада), отбора и подбора родительских пар (селекции в стаде), генотипа самого животного. Невысокая доля микросателлитной изменчивости племенных животных (21%) указывает на их принадлежность к общей генетической структуре, которой является белорусская черно-пестрая порода (рисунок 2).

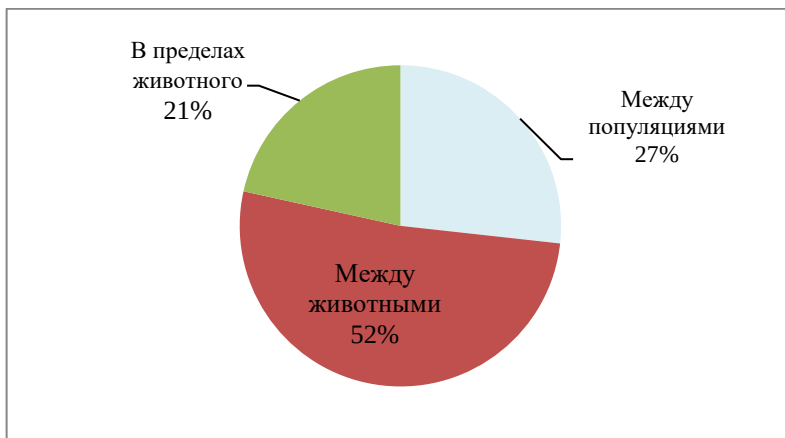


Рисунок 2 – Структура микросателлитной изменчивости

Основу микросателлитной изменчивости составляют различия между животными – 52%, которые представляют различные линии в породе. Линейные генетические особенности позволяют поддерживать

генеалогическую структуру породы, и является уникальным резервом для её сохранения и совершенствования.

Степень генетической дифференциации популяций оценивали на основании попарных значений F_{ST} . Значение показателя F_{ST} показывает, что различия в соотношении частот локусов МС-ДНК между исследованными популяциями породы на 8,9% ($p < 0,001$) обусловлены породными особенностями (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты анализа молекулярной варiances у свиней белорусской чернопестрой породы из разных хозяйств по 9 локусам МС-ДНК с учетом аллельной изменчивости

Источник изменчивости	df	SS	MS	F-статистики	P
Между популяциями	2	17,447	8,724	$F_{ST}=0,089$	$\leq 0,001$
Между животными	45	133,095	2,958	$F_{IS}=0,031$	$\leq 0,173$
В пределах животного	48	133,500	2,781	$F_{IT}=0,117$	$\leq 0,001$

В результате оценки F-статистик, в целом, отмечено, что F_{IS} и F_{IT} имеют положительные значения, что указывает на снижение гетерозиготности индивидуумов в каждой из популяций вследствие неслучайного спаривания. Оценка аллельной изменчивости племенных хряков позволят сделать вывод, что оцененные производители являются чистопородными животными, так как различия между ними составляют 3% (рисунок 3). Основная доля аллельной изменчивости приходится на индивидуальные особенности самих животных, что обусловлено их генотипами и спецификой использования в племенном предприятии.

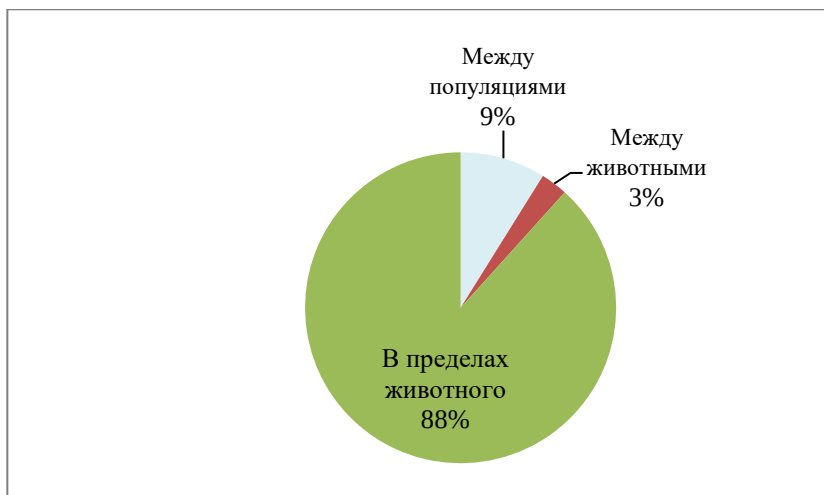


Рисунок 3 – Структура аллельной изменчивости

В наших исследованиях был использован Assignment-тест, который рассматривал генетическое разнообразие каждой особи и популяции, из которой она происходила, и оценивал вероятность отнесения данной особи или к своей собственной популяции, или к иной [4]. Результаты проведенного Assignment-теста показывают, что наиболее консолидированное поголовье хряков находилось в племязаводе Ленино (рисунок 4).

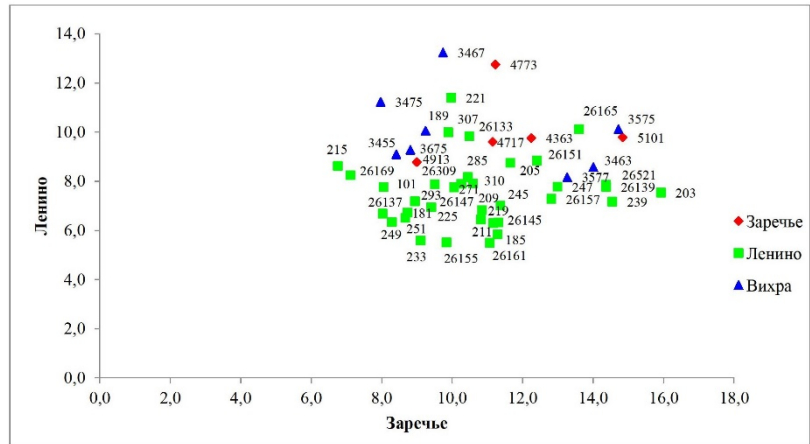


Рисунок 4 – Распределение хряков на основе использования Assignment-теста

Точность отнесения к «своей» популяции превышает 85%. Хряки из СГЦ «Заречье» по этому показателю значительно уступают – только 20% принадлежности к своей популяции. В целом, по всем исследованным животным, точность отнесения к «своей» популяции превышает 70%.

Значения присваивания хряков к имеющимся популяциям свиней белорусской черно-пестрой породы, рассчитанные на основании логарифмических вероятностей, показаны в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты распределения хряков по популяциям в единицах принадлежности

Кличка и индивидуальный № хряка	Оцениваемая популяция	Популяции			Назначенная популяция
		СГЦ «Заречье»	п/з «Ленино»	СГЦ «Вихра»	
Корелич 5101	СГЦ «Заречье»	14,839	9,788	12,256	п/з «Ленино»
Застон 4717	СГЦ «Заречье»	11,150	9,599	9,004	СГЦ «Вихра»
Макет 4773	СГЦ «Заречье»	11,230	12,747	15,017	СГЦ «Заречье»
Тик 4913	СГЦ «Заречье»	8,997	8,777	5,546	СГЦ «Вихра»
Слущк 4363	СГЦ «Заречье»	12,247	9,755	14,299	п/з «Ленино»

При преобразовании логарифмических вероятностей в

положительные значения наименьшее значение указывает на наиболее вероятную популяцию. Среди протестированных хряков из СГЦ «Заречье» только один - Макет 4773 соответствует своей популяции, два - Корелич 5101 и Слуцк 4363 ближе к стаду п/з «Ленино» и два - Застон 4717 и Тик 4913 могли иметь общих предков из СГЦ «Вихра». Установленное популяционное распределение в основном соответствует имевшим место ранее проводимым мероприятиям по обмену племенным материалом между базовыми племпредприятиями.

Если взять популяцию свиней, разводимую ранее в п/з «Ленино», как генофонд белорусской черно-пестрой породы, а хряков из этой популяции как чистопородные животные, то благодаря Assignment-тесту можно определить чистопородность хряков из СГЦ «Заречье». Все хряки СГЦ «Заречье» близки по происхождению с хряками из племзавода «Ленино» (рисунок 5). Хряк Макет 4773, у которого были определены приватные аллели в локусах SO005 и SO355 имел схожее значение логарифмической вероятности, что и хряк Макет 205 из п/з «Ленино» - 11,655 (11,230).

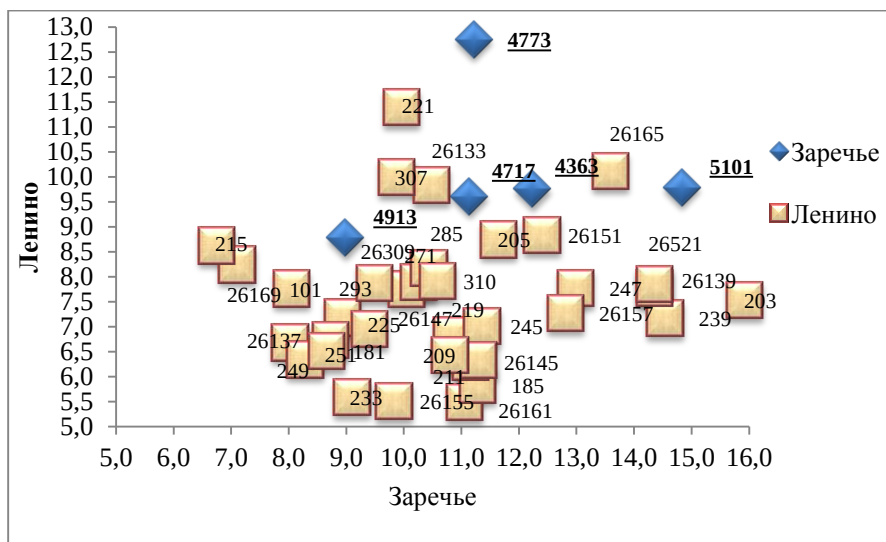


Рисунок 5 – Распределение хряков из СГЦ «Заречье» относительно популяции п/з «Ленино»

Остальные хряки (Тик 4913, Застон 4717, Слуцк 4363, Корелич 5101) находятся в верхнем диапазоне логарифмической вероятности породы - 8,777-9,788 (относительно п/з «Ленино») и близки по генотипу к таким хрякам, как Слуцк 215, Застон 307, Заречный 26133 и Славный 26165.

Совпадение микросателлитного анализа хряков двух линий Слуцка и Застона с хряками таковых линий из племзавода «Ленино» указывает на их чистопородность и общность происхождения.

Заключение. Проведенная оценка молекулярной вариации (генетической изменчивости породы) показала, что 84,0% генетической изменчивости породы приходилось на изменчивость внутри выборок изученных популяций и 16,0% — на изменчивость между популяциями ($p < 0,01$). Результаты анализа молекулярной дисперсии (R-статистики) свидетельствуют о том, что 26,8% ($p < 0,001$) общей генетической изменчивости, отмеченной среди исследованных животных, определяется принадлежностью их к племпредприятию (т.е., характером селекционной работы в них). Невысокая доля микросателлитной изменчивости племенных животных (21%) указывает на их принадлежность к общей генетической структуре, которой является белорусская черно-пестрая порода.

Все хряки СГЦ «Заречье» близки по происхождению с хряками из племзавода «Ленино». Исключение составляет хряк Макет 4773, у которого были определены приватные аллели в локусах SO005 и SO355. Хряк такой же линии – Макет 205 из п/з «Ленино» имел схожее значение логарифмической вероятности, что и хряк Макет 4773 – 11,655 (11,230). Остальные хряки (Тик 4913, Застон 4717, Слуцк 4363, Корелич 5101) находятся в верхнем диапазоне логарифмической вероятности породы – 8,777-9,788 (относительно п/з «Ленино») и близки по генотипу к таким хрякам, как Слуцк 215, Застон 307, Заречный 26133 и Славный 26165. Совпадение микросателлитного анализа хряков двух линий Слуцка и Застона с хряками таковых линий из племзавода «Ленино» указывает на их чистопородность и общность происхождения.

Литература

1. The state of the world's animal genetic resources for food and agriculture / B. Rischkowsky, D. Pilling (eds.). FAO, Rome, Italy, 2007.
2. Генетические ресурсы животных: развитие исследований аллелофонда российских пород крупного рогатого скота – миниобзор / Н. А. Зиновьева [и др.] // Сельскохозяйственная биология. – 2019. – Т. 54, № 4. – С. 631-641.
3. Популяционно-генетическая характеристика свиней пород крупная белая, ландрас и дюрок с использованием микросателлитов / В. Р. Харзинова [и др.] // Зоотехния. – 2018. – № 4. – С. 2-7.
4. Рокицкий, П. Ф. Биологическая статистика : учеб. пособие / П. Ф. Рокицкий. – Изд. 3-е, испр. – Минск : Вышэйшая школа, 1973. – 320 с.
5. Peakall, R. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update / R. Peakall, P. E. Smouse // Bioinformatics. – 2012. – Vol. 28. – P. 2537-2539 (doi: 10.1093/bioinformatics/bts460).

Поступила 9.02.2021 г.