



СРАВНИТЕЛЕН АНАЛИЗ НА ОЦЕНКАТА НА ЕФЕКТИВНАТА ЧИСЛЕНОСТ НА ПОПУЛАЦИЯТА НА СВИНЕ ОТ ПОРОДАТА ГОЛЯМА БЯЛА НА ОСНОВАТА НА МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИ МАРКЕРИ
СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ОЦЕНОК ЭФФЕКТИВНОЙ ЧИСЛЕННОСТИ ПОПУЛЯЦИИ СВИНЕЙ КРУПНОЙ БЕЛОЙ ПОРОДЫ НА ОСНОВЕ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ
COMPARATIVE ANALYSIS OF METHODS FOR ESTIMATION OF EFFECTIVE POPULATION SIZE OF LARGE WHITE PIGS BASED ON MOLECULAR GENETIC MARKERS

Сергей Луговой*, Сергей Крамаренко
Sergey Lugovoy*, Sergey Kramarenko

Национален аграрен университет – Николаев, 54020, Украйна, г. Николаев, ул. „Парижка комуна“ № 9
Национальный аграрный университет – Николаев, 54020, Украина, г. Николаев, ул. Парижской коммуны, 9
National Agrarian University – Mykolayiv, 54020 Ukrayina, Mykolayiv, 9, Parijska kommuna Str.

*E-mail: lugovoy79@mail.ru

Резюме**

В статията е направена оценка на ефективния размер на популацията при свине от породата Голяма бяла, като са използвани три метода, базирани на данните за полиморфизма на 5 микросателитни локуса. Установено е, че най-консервативен е методът на М. Слаткин. Ефективният размер на популацията, изчислен по него, е 33,3 индивида (с долна и горна граници съответно 12,9 и 372,2 животни). Методът на У. Хил дава по-точна оценка както на ефективния размер на популацията, така и на доверителния интервал. Като цяло резултатите от изследването показват, че ефективният размер на проучваната популация свине от породата Голяма бяла е в пределите на 50-100 индивида (с доверителен интервал от 10 до 300 животни). Установеният ефективен размер на популацията на свинете от породата Голяма бяла в Украйна е много близък до получените от други изследователи за широко разпространени породи свине в Европа.

Резюме

В статье приведены оценки эффективной численности популяции свиней Крупной белой породы, полученные тремя различными методами на основе использования данных полиморфизма пяти локусов микросателлитов ДНК. Установлено, что наиболее консервативным является метод М. Слаткина. Рассчитанная этим методом эффективная численность изучаемой популяции свиней составляет 33,3 особи (с нижней и верхней границами 12,9 и 372,2 особей, соответственно). Метод В. Хилла дает более определенные оценки как непосредственно эффективной численности популяции, так и ее доверительному интервалу. В целом, результаты исследований свидетельствуют о том, что эффективная численность изученной популяции свиней Крупной белой породы находится в пределах 50-100 особей (с доверительным интервалом – от 10 до 300 особей). Полученные нами оценки эффективной численности популяции свиней Крупной белой породы в Украине очень близки к тем, что были получены другими исследователями для широко распространенных в Европе пород свиней.

Abstract

The paper presents estimates of the effective population size of Large White pigs, obtained by three different methods based on the use of five loci microsatellite DNA polymorphism. It is found that the Slatkin's method is most conservative. Calculated by this method effective size of the population studied pigs were 33.3 individuals (with lower and upper bounds of 12.9 and 372.2 individuals, respectively). Hill's method gives a more specific assessment as directly effective population size and its confidence interval. In general, research shows that the effective size of the studied population of Large White pigs is in the range of 50-100 individuals (with a confidence interval - from 10 to 300 individuals). Our estimates of effective population size of Large White pigs in Ukraine are very close to those obtained by other researchers for the common European pig breeds.

Ключови думи: свине, Голяма бяла, микросателити, ефективен размер на популацията.

Ключевые слова: свиньи, Крупная белая порода, микросателлиты, эффективная численность популяции.

Key words: pigs, Large White breed, microsatellites, effective population size.

ВВЕДЕНИЕ

Все конечные по численности популяции претерпевают случайные генетические изменения, известные под названием «генетического дрейфа» (genetic drift). Одним из наиболее важных последствий этих случайных изменений является постепенная потеря популяцией генетического разнообразия. Обратная зависимость между размерами популяции и скоростью потери генетического разнообразия уже давно известна в популяционной генетике, однако, такая потеря определяется не общей численностью популяции (census size), а ее эффективной численностью (effective size – N_e). Концепция эффективной численности впервые была введена С. Райтом (Wright, 1938) и направлена, прежде всего, на коррекцию влияния различных демографических факторов на генетическую изменчивость в пределах популяции.

В идеальной популяции эффективная численность равна общей численности, однако, в большинстве реальных популяций эффективная численность всегда меньше, иногда намного меньше, чем реальная. Отклонение в третичном соотношении полов, изменчивость размера семьи (family size), значительные колебания численности популяции в ряду поколений являются двумя важными демографическими факторами, которые обычно уменьшают N_e . Результатом всех этих демографических факторов является то, что особи одного поколения вносят не равный вклад в пул генов следующего поколения и, следовательно, сохраняется только ограниченное количество популяционно-генетического материала. Эффективная численность популяции может быть оценена, если указанные выше демографические показатели известны, но это возможно лишь в очень редких случаях, особенно для природных популяций.

Сложности в получении оценок N_e непосредственно на основе демографических данных привели к развитию многочисленных методов для получения ее непрямо́й оценки (indirect estimates) с использованием молекулярно-генетических данных (Waples, 1989).

Таким образом, основной целью настоящей работы было получение оценок эффективной численности для одной популяции свиней крупной белой породы, используя не прямые подходы, основанные на рассмотрении изменчивости молекулярно-генетических маркеров (микросателлитов ДНК).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований выступал полиморфизм локусов микросателлитов ДНК свиней Крупной белой породы, которые принадлежат племенному заводу

«Степной» Запорожской области (Украина). Всего в анализ было включено 241 животное.

В зависимости от происхождения были сформированы четыре группы свиней Крупной белой породы: G1 – чистокровные животные селекции компании «PIC»; G2 – гибриды, полученные в результате сочетания чистокровных свиноматок селекции компании «PIC» с чистокровными хряками селекции компании «UPB» (1/2 «PIC» Ч 1/2 «UPB»); G3 – гибриды, полученные в результате сочетания гибридных свиноматок (1/2 «PIC» Ч 1/2 «UPB») с чистокровными хряками селекции компании «UPB» (1/4 «PIC» Ч 3/4 «UPB»); G4 – чистокровные животные селекции компании «UPB».

Для каждого животного был оценен его генотип по пяти микросателлитным локусам: S0005, S0155; S0090, S0101 и SW857. В качестве материала для исследований использовали ткань (ушной выщип) свиней.

Лабораторные исследования проводили в условиях лаборатории молекулярной генетики и цитогенетики животных Центра биотехнологии и молекулярной диагностики Всероссийского научно-исследовательского института животноводства Россельхозакадемии. Выделение ДНК проводили с помощью колонок фирмы Nexttec и с использованием набора реагентов DAtom™ DNA Prep100. Анализ ДНК и постановку ПЦП осуществляли согласно методике ВИЖ (Zinovyeva et al., 1998). Мультиплексный анализ локусов микросателлитов проводили на генетическом анализаторе ABI Prism 3130x1.

Обработку данных капиллярного электрофореза проводили путем перевода длин фрагментов в числовое выражение на основании сравнения их подвижности со стандартом ДНК.

Для получения оценок эффективной численности популяции было использовано три различных метода. Метод М. Слаткина (Slatkin, 1985) основывается на понятии «уникальных аллелей» (private alleles), обнаруженных при анализе нескольких субпопуляций одного вида. М. Слаткиным было показано, что эффективное число мигрантов за поколение ($N_e \cdot m$) и частота уникальных аллелей (p_1) связаны следующей закономерностью: $\ln(N_e \cdot m) = a + b \cdot \ln p_1$, где коэффициенты a и b зависят от объема выборки. Средний объем групп свиней составлял 46 особей, и для этого значения мы, используя интерполяцию, получили следующие значения коэффициентов: $a = -0,6075$, $b = -1,1919$. Метод В. Хилла (Hill and Roderson, 1968; Hill, 1981; Waples, 2006) основывается на использовании связи между эффективной численностью популяции и величины сцепленного неравновесия (linkage disequilibrium; LD) между аллелями различных локусов (в нашем случае,



локусов пяти микросателлитов ДНК). Метод, использующий изменения генетического разнообразия популяции в ряду последовательных генераций (temporal method), впервые был предложен в работе М.Нея и Ф.Таджимы (Nei, Tajima, 1981) и получил широкое распространение в последнее время (Pollak, 1983; Waples, 1989 и др.)

Оценки эффективной численности популяции свиней крупной белой породы и их доверительный интервал были получены аналитическим способом (для первого метода) и с использованием (для второго и третьего метода) программы NeEstimator v.1.3 (Peel et al., 2004).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для пяти локусов микросателлитов ДНК, используемых при молекулярно-генетическом анализе свиней, нами были отмечены две уникальные аллели по локусам S0101 и S0386, частоты встречаемости которых составили $p = 0,003$ и $p = 0,023$, соответственно (Topić et al., 2008). Таким образом, для данной популяции средняя частота уникальных аллелей была равна: $p(1) = 0,013$ (с нижней и верхней границами – 0,003 и 0,023, соответственно).

Используя модель М. Слаткина, мы рассчитали, что эффективное число мигрантов за одно поколение между четырьмя различными группами свиней составляет: $Ne \cdot m = 13,9$ (с нижней и верхней границами – 5,4 и 155,2 особей, соответственно). Поскольку мы знаем родственные отношения между свиньями четырех рассматриваемых генотипических групп (см. выше), мы смогли оценить общий поток мигрантов за одно поколение: $m = 0,417$ (рис. 1). Тогда, эффективная численность данной популяции свиней составляет: $Ne = 33,3$ особи (с нижней и верхней границами – 12,9 и 372,2 особей, соответственно).

В таблице 1 приведены оценки эффективной численности, полученные при использовании методов В. Хилла и «временного» метода.

Как видим, метод М. Слаткина оказался наиболее консервативным, но, наряду с временным методом дает самые низкие оценки для нижней доверительной границы и самые высокие – для верхней. Метод В. Хилла дает более определенные оценки как непосредственно эффективной численности популяции, так и ее доверительному интервалу.

В целом можно отметить, что оценка эффективной численности данной популяции свиней крупной белой породы находится в пределах 50-100 особей (с доверительным интервалом – от 10 до 300 особей). Таким образом, отношение Ne/N , характеризующее степень давления генетического дрейфа, для данной популяции свиней крупной белой породы находится в пределах 0,14-0,41, со средним около 0,20. Следовательно, при проведении селекционно-генетических мероприятий со свиньями данной популяции необходимо учитывать, что ее эффективная численность (а, следовательно, и уровень генетического разнообразия) составляет лишь 20% (максимально – до 40%) от фактической.

Оценки эффективной численности широко распространенных в Европе пород свиней очень близки к тем, что были получены нами – 60-300 голов (Nsengimana et al., 2004). Однако для редких (локальных) пород такая ситуация еще более тревожна. Так, например, для литовских бородатых свиней (wattle pigs) оценка эффективной численности популяции близка всего лишь к 30 особям. Для рассматриваемой популяции свиней Крупной белой породы получена оценка эффективной численности 50-100 особей.

Как известно из теоретических расчетов и оценок, что значение эффективной численности популяции, находящееся между 50 и 200, в целом, свидетельствует об угрожающем статусе популяции (вида), а при снижении этой величины ниже 50 особей – о ее скором исчезновении (Bodo, 1999; Majjala, 1999).

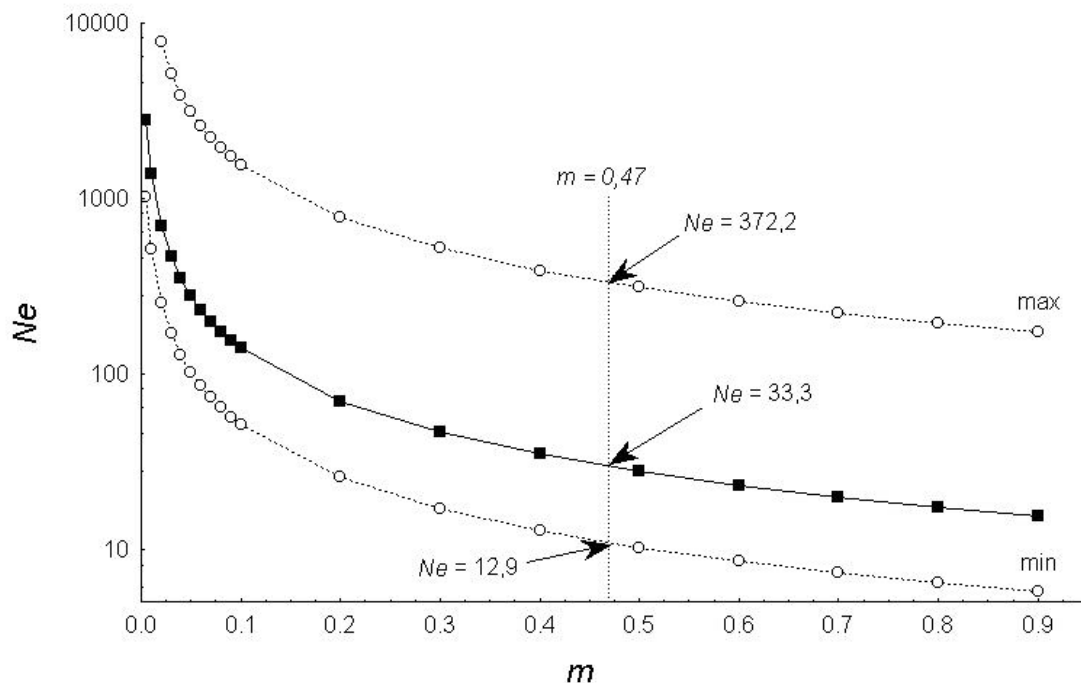
Некоторые исследователи поднимали вопрос о приблизительной минимальной оценке эффективной

Таблица 1. Оценка на эффективния размер на популяцията (при 95% доверителен интервал) при свине от породата Голяма бяла с използване на различни методи

Таблица 1. Оценки эффективной численности популяции (с 95% доверительным интервалом) свиней Крупной белой породы, полученные различными методами

Table 1. Estimates of the effective population size (with 95% confidence interval) of Large White pigs obtained by different methods

Метод Method	Оценка Ne Valuation Ne	95% доверительный интервал 95% confidence interval	
Метод М. Слаткина Method of M. Slatkin	33,3	12,9	372,2
Метод В. Хилла Method of W. Hill	99,6	61,2	189,1
Временной метод Time method	56,3	11,1	∞



Фиг. 1. Зависимост между ефективния размер на популяцията (N_e) и потока (преноса) на гени (m) в популяция свине от породата Голяма бяла, определена на основата на честотата на уникални алели на микросателити (показани са също долната и горната граница)

Рис. 1. Зависимость между эффективной численностью (N_e) и потоком генов (m) в популяции свиней крупной белой породы исходя из частот уникальных аллелей микросателлитов (приведены также нижняя и верхняя границы)

Fig. 1. Dependence between the effective population size (N_e) and gene flow (m) in Large White pigs population, obtained by a method based on the gene frequency unique alleles of five loci microsatellite DNA

численности популяций для домашних животных. Годдар и Смит (Goddard and Smith, 1990) утверждали, что эта граница составляет около 40 особей. Однако, Мьювиссен и Вуллиам (Meuwissen, Woolliam, 1994), сравнивая баланс между инбредной депрессией и позитивными качествами, полученными вследствие проявления естественного отбора, получили оценки порядка 30-250 особей. Еще более консервативной оценки придерживаются Франклин и Франкхам (Franklin, Frankham, 1998): они считают, что эффективная численность популяции должна быть не меньше, чем 500 особей для того, чтобы генетическая компонента (особенно, ее аддитивная компонента) не снижались долгое время. Более того, они же утверждали, что очень низкие значения отношения N_e/N являются результатом усиления дрейфа генов, порожденного, прежде всего, усилением пресса селекционной работы с породами. Например, де Росс и др. (de Ross et al., 2008) показали, что формирование пород и искусственные технологии разведения снизили эффективную численность популяций крупного рогатого скота в Голландии, Австрии и Новой Зеландии до величины примерно 100 голов всего лишь за последние 50 поколений.

ВЫВОДЫ

1. Наиболее консервативным методом оценки эффективной численности популяции является метод М. Слаткина. Рассчитанная этим методом эффективная численность изучаемой популяции свиней составляет 33,3 особи (с нижней и верхней границами 12,9 и 372,2 особей, соответственно).
2. Метод В. Хилла дает более определенные оценки как непосредственно эффективной численности популяции (99,6 особей), так и ее доверительному интервалу (61,2-189,1 особей).
3. В целом, оценка эффективной численности изученной популяции свиней крупной белой породы находится в пределах 50-100 особей, что соответствует аналогичной оценке популяций широко распространенных в Европе пород свиней.
4. Уровень генетического разнообразия исследованной популяции свиней крупной белой породы можно считать угрожающим, что уже в ближайшее время может отрицательно проявиться в виде инбредной депрессии.



LITERATURA

- Zinovyeva, N. A., 1998. Metodicheskie rekomendatsii po ispolzovaniyu metoda polimeraznoy tsepnoy reaktsii v zhivotnovodstve (N. A. Zinovyeva, A. N. Popov, L. K. Ernst i dr.). Dubrovitsi, VIZh, 47 s.
- Topiha, V. S., 2008. Otsenka geneticheskogo raznoobrazia populyatsiy sviney krupnoy beloy porodû raznogo proishozhdenia / V. S. Topiha, S. I. Lugovoy, S. S. Kramarenko [i dr.] // Aktualnye voprosi agrarnoy nauki i obrazovaniya: materialy Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyashchennoy 65-letiyu Ulyyanovskoy GSHA. Ulyyanovsk: GSHA, T. 2., Ch. 1-2: 130-135.
- Bodo, I., 1999. The minimum number of preserved populations. FAO Animal Production and Health Paper, 104: 91-105.
- De Roos, A. P. W., B. J. Hayes, R. J. Spelman, M. E. Goddard, 2008. Linkage disequilibrium and persistence of phase in Holstein-Friesian, Jersey and Angus cattle. *Genetics*, 179 (3): 1503-1512.
- Franklin, I. R., R. Frankham, 1998. How large must populations be to retain evolutionary potential? *Animal Conservation*, 1, 69-70, doi:10.1017/S1367943098211103.
- Goddard, M.G., C. Smith, 1990. Optimum number of bull sires in dairy cattle breeding. *Journal of Dairy Science*, 73, 4: 1113-1122.
- Hill, W. G., 1981. Estimation of effective population size from data on linkage disequilibrium. *Genetical Research*, 38: 209-216.
- Hill, W. G., A. Robertson, 1968. Linkage disequilibrium in finite populations. *Theor. Appl. Genet.*, 38: 226-231.
- Majjala, K., 1999. Monitoring animal genetics resources and criteria for prioritization of breeds. FAO Animal Production and Health Paper, 104: 73-85.
- Meuwissen, T. H. E., J. A. Woolliam, 1994. Effective sizes of livestock populations to prevent a decline in fitness. *Theor. Appl. Genet.*, 89: 1019-1026.
- Nei, M., F. Tajima, 1981. Genetic drift and estimation of effective population size. *Genetics*, 98: 625-640.
- Nsengimana, J., P. Baret, C. S. Haley, P. V. Visscher, 2004. Linkage disequilibrium in the domesticated pig. *Genetics*, 166: 1395-1404.
- Peel, D., J. R. Ovenden, S. L. Peel, 2004. NeEstimator: software for estimating effective population size, Ver. 1.3. Queensland Government, Department of Primary Industries and Fisheries.
- Pollak, E., 1983. A new method for estimating the effective population size from allele frequency changes. *Genetics*, 104: 531-548.
- Slatkin, M., 1985. Rare alleles as indicators of gene flow. *Evolution*, 39: 53-65.
- Waples, R. S., 1989. A generalized method for estimating population size from temporal changes in allele frequencies. *Genetics*, 121: 379-391.
- Waples, R. S., 2006. A bias correction for estimates of effective population size based on linkage disequilibrium at unlinked gene loci. *Cons. Genetics*, 7: 167-184.
- Wright, S., 1938. Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science*, 87: 430-431.

**Преводът на български език е направен от проф. д-р Васил Николов.

Статията е приета на 12.12.2012 г.
Рецензент – проф. д-р Васил Николов
E-mail: vsn3480@abv.bg