

УДК 575.174

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ВЗАИМОСВЯЗИ ПОРОД СВИНЕЙ, РАЗВОДИМЫХ В РОССИИ, НА ОСНОВЕ АНАЛИЗА ПОЛИМОРФИЗМА D-ПЕТЛИ мтДНК

© 2022 г. В. Р. Харзинова¹, *, Н. А. Акопян¹, А. В. Доцев¹, Т. Е. Денискова¹, А. А. Сермягин¹,
Т. В. Карпушкина¹, А. Д. Соловьева¹, Г. Брем², Н. А. Зиновьева¹, **

¹Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста,
городской округ Подольск, пос. Дубровицы, 142132 Россия

²Институт животноводства и генетики, Университет ветеринарной
медицины (VMU), Вена, А-1210 Австрия

*e-mail: veronika0784@mail.ru

**e-mail: n_zinovieva@mail.ru

Поступила в редакцию 28.03.2022 г.

После доработки 03.04.2022 г.

Принята к публикации 04.04.2022 г.

Снижение уровня генетического разнообразия – одна из основных генетических проблем в мировом свиноводстве. В России некоторые локальные породы находятся под угрозой исчезновения из-за низкой численности. В трансграничных породах, подверженных сильному направленному отбору, также может наблюдаться снижение разнообразия. В связи с этим, целью нашего исследования явилось проведение оценки генетического разнообразия и установление филогенетических связей для девяти пород свиней, разводимых в России, на основании анализа последовательностей D-петли митохондриальной (мт) ДНК. Нами было выполнено секвенирование нуклеотидной последовательности D-петли мтДНК 273 свиней следующих пород: брейтовской, кемеровской, ливенской, муромской, уржумской, мангалица, крупной белой, ландрас и дюрок. Во всей выборке было обнаружено 104 переменных сайта и выявлено 84 гаплотипа, в том числе 55 – у локальных пород и 29 – у трансграничных пород. Локальные породы характеризовались меньшим средним числом нуклеотидных различий между гаплотипами, по сравнению с трансграничными породами ($K = 6.272$ и $K = 9.934$). 78.8% исследованных свиней принадлежали к гаплогруппе E, в то время как гаплогруппы D (20,5%) и A (0,7%) встречались реже. Анализ AMOVA показал, что 43.88% общей генетической изменчивости приходилось на различия между изучаемыми породами. Анализ структуры медианной сети показал, что кемеровская порода была наиболее дифференцированной среди локальных пород, а мангалица вошла в кластер трансграничных пород благодаря своему европейскому происхождению. Полученные результаты могут быть полезны для мониторинга генетического разнообразия в трансграничных породах, а также для разработки научно обоснованных программ сохранения локальных пород свиней.

Ключевые слова: D-петля мтДНК, свиньи, локальные породы, трансграничные породы, гаплотипическое разнообразие, демографическая история, дифференциация.

DOI: 10.31857/S0016675822080045

Домашние свиньи (*Sus scrofa*) – это один из важнейших видов сельскохозяйственных животных, производящий значительное количество мяса во всем мире [1, 2]. Выведение высокопродуктивных пород, селекционированных на максимальную продуктивность, позволило производить свинину с возрастающей эффективностью [3]. Такие трансграничные породы характеризуются пониженным генетическим разнообразием, поскольку они были отобраны по нескольким экономически важным признакам. Кроме того, глобальное использование трансграничных пород оказывает

огромное влияние на местные породы, которые были либо в значительной степени заменены трансграничными породами, либо скрещены с ними [4, 5]. Хорошо известно, что на протяжении веков разнообразные местные популяции свиней подвергались независимому отбору по морфологическим и поведенческим признакам и хорошо адаптировались к условиям окружающей среды, в которых они выращивались [6].

В России было выведено и усовершенствовано большое число разнообразных пород свиней для удовлетворения спроса на востребованную про-

дукцию в конкретных регионах. Формирование пород началось во второй половине XIX в., крупномасштабно продолжалось с 1930-х по 1950-е гг. и продолжается до сих пор. Методика создания отечественных пород была основана на скрещивании аборигенных малопродуктивных свиней с высокопродуктивными европейскими породами (крупной белой и ландрас) и последующем закреплении ценных качеств у потомства путем селекции в течение нескольких поколений [7, 8].

В результате проведенной селекции в Советском Союзе было зарегистрировано 22 местные породы, отличающиеся высокой жизнеспособностью, крепкой конституцией, устойчивостью к болезням. Кроме того, создание такого количества пород было обусловлено разнообразием природно-климатических зон, а также необходимостью иметь в каждом регионе несколько контрастных пород для товарного скрещивания [7–9]. Например, брейтовская порода, выведенная в Ярославской области путем комплексного скрещивания крупной белой, датского ландраса, литовской, латвийской и белорусской полесской пород, использует местные корма, побочные продукты маслодельных и сыроваренных заводов, с добавлением небольшого количества фуражного зерна. В 1949 г. в Орловской области путем скрещивания аборигенных вислоухих свиней с хряками крупной белой, беркширской и польско-китайской пород была получена ливенская порода, отличающаяся замечательной приспособленностью к погодным и кормовым условиям и характеризующаяся высокими мясными качествами. В 1961 г. с целью успешного разведения в суровых климатических условиях Сибири и юго-восточной зоны России была официально утверждена кемеровская порода свиней.

Современная свиноводческая отрасль в России включает десять пород и, как и в других странах, в основном базируется на ограниченном количестве трансграничных пород с постным мясом, которые широко используются для породного улучшения. Это, очевидно, привело к уменьшению численности местных пород, поставив их под угрозу исчезновения, согласно данным о популяциях, предоставленным Информационной системой по разнообразию домашних животных (DAD-IS) [10].

Согласно Amills и др. [4], даже трансграничные породы с большой численностью в последние десятилетия страдают от сильной генетической эрозии. Генетическое разнообразие трансграничных пород может быть довольно низким, поскольку отбирается небольшое количество производителей для получения многочисленного потомства [11–14]. В связи с этим в сложившихся обстоятельствах возрастает важность установления генетического разнообразия как местных, так и трансграничных пород.

Благодаря своей специфической структуре и функциям митохондриальная ДНК (мтДНК) – это генетический маркер для оценки молекулярной эволюции, классификации и идентификации взаимоотношений между популяциями животных [15]. D-петля представляет собой некодирующую область мтДНК, которая содержит регуляторные последовательности, контролирующие репликацию и транскрипцию мтДНК [14]. На основе исследований варибельности мтДНК свиней были изучены аспекты одомашнивания [16–19], оценено генетическое разнообразие [4, 19–22] и изучена миграционная история [18]. Тем не менее отсутствуют данные о полиморфизме последовательности D-петли мтДНК местных и трансграничных пород свиней, выращиваемых в России. В связи с этим мы провели исследование для решения этих вопросов.

Цель нашего исследования – оценка генетического разнообразия и установление филогенетических взаимоотношений между шестью местными, отнесенными к группе риска из-за малочисленности популяции, и тремя высокопродуктивными трансграничными породами, разводимыми в России, путем анализа полиморфизма в области D-петли мтДНК.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследований послужил биологический материал свиней, сохраняемый в УНУ “Банк генетического материала домашних и диких видов животных и птицы” ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста. Выборка для исследования включала 273 образца свиней, принадлежащих к трем трансграничным ($n = 97$) и к шести местным породам ($n = 176$). Трансграничные породы были представлены крупной белой (LW, $n = 59$), ландрасом (L, $n = 22$) и дюрксом (D, $n = 16$). К местным породам относились животные брейтовской (BR, $n = 23$), кемеровской (КЕМ, $n = 33$), ливенской (LIV, $n = 11$), муромской (MUR, $n = 36$), уржумской (URJ, $n = 46$) и мангалица (MANG, $n = 27$). Из-за промышленного скрещивания ливенской породы с ландрасом в выборку были включены только чистопородные особи с достоверной родословной. Мангалица – порода венгерского происхождения с исключительными качествами производимого сырого мяса была включена в наше исследование в связи с растущим спросом на нее со стороны частных владельцев и мелких фермеров в России. Таким образом, официальных сведений о численности популяции мангалицы нет, но, по-видимому, она невелика.

Геномную ДНК выделяли из ушного выщипа с использованием колонок Nexttec (Nexttec Biotechnologie GmbH, Лейверкузен, Германия) в соответствии с инструкциями производителя. Область D-петли размером 992 пн амплифицировали с

помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием SimpliAmp™ Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific, Уилмингтон, Делавэр, США). Праймеры (прямой: 5'-CGT ATG CAA ACC AAA ACG C-3' и обратный: 5'-GTT TTT GGG GTT TGG CAA G -3') были подобраны с использованием Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) [23] на основе данных митохондриального генома *S. scrofa* (GenBank: NC_000845.1). Полученные ПЦР продукты были очищены из агарозного геля с помощью набора Cleanup Standard (ОАО "Евроген", Москва, Россия) и затем секвенированы в ЗАО "Евроген" (Москва, Россия) по технологии Сэнгера.

Редактирование и выравнивание нуклеотидных последовательностей выполняли на основе алгоритма MUSCLE [24], реализованного в программе MEGA 7.0.26 [25] по референсной последовательности (NCBI № AJ002189). Сомнительные области выравнивания были удалены с помощью программы Gblocks 0.91b [26]. Во всех последовательностях длина выравнивания была уменьшена до 705 пн в диапазоне от 15 535 до 16 064 пн и использовалась для дальнейшего анализа.

Все последовательности D-петли мтДНК были отнесены к известным гаплогруппам с использованием программного обеспечения MitoToolPy [27].

Индикаторы генетического разнообразия, включая количество полиморфных сайтов (S), среднее количество нуклеотидных различий (K), количество гаплотипов (H), гаплотипическое разнообразие (h), нуклеотидное разнообразие (π), а также индексы нейтральности Таджимы (Tajima's, D) [28] и Фу (F_u 's, F_s) [29] были вычислены в DnaSP 6.12.01 [30].

Для комплексной оценки генетического разнообразия изучаемых пород свиней в программе STATISTICA 10 были рассчитаны корреляционная матрица и проведен анализ главных компонент (АГК) для параметров K , h и π методом уменьшения размерности. Синтезированная оценка (F_z) была рассчитана путем анализа главных компонент.

Демографическая история пород свиней была изучена с помощью анализа распределения несоответствий [31] в DnaSP 6.12.01 с визуализацией с помощью R-пакета ggplot2 [32].

Для установления доли общей генетической изменчивости между и внутри популяциями был выполнен анализ молекулярной дисперсии (AMOVA) с использованием пакета ARLEQUIN v3.5.2.2 [33].

Для анализа эволюционных взаимосвязей была построена медианная сеть [34] в программном обеспечении PopART 1.7 [35].

Лучшие модели эволюции были определены в PartitionFinder2 [36] с использованием информационного скорректированного критерия Акаике (AICc) [37]. Эволюционная модель НКУ+I+G оказалась оптимальной.

Генетические различия между девятью породами свиней попарно оценивали по индексу фиксации (F_{ST}) с использованием ARLEQUIN 3.5. Далее на основе этих дистанций было построено филогенетическое дерево Neighbor-Net в программе SplitsTree 4.14.6 [38].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования генетического статуса и разнообразия пород свиней в России либо ограничивались несколькими породами, либо были сосредоточены исключительно на ядерном геноме [9, 39–41]. Так, используя микросателлитные маркеры, Kharzina и Zinovieva [39] изучили популяционную структуру и генетические связи местных пород из России, Украины и Республики Беларусь с трансграничными породами импортного происхождения отечественной репродукции. Другое исследование [42] подтвердило наличие различий в генетической структуре популяций местных пород, разводимых в России. Trasnov и др. [9] провели первое генетическое исследование пород свиней из России, Белоруссии, Казахстана и Украины с использованием ДНК-чипов и установили, что многие из 13 изучаемых пород свиней сохранили уникальные особенности и отличаются от основных трансграничных пород (крупная белая и ландрас). Данные по митохондриальной ДНК свиней в России были описаны по D-петле мтДНК у свиней крупной белой породы различных типов селекции, разводимых в Российской Федерации с 2000 по 2019 г. [43].

В настоящем исследовании мы расширили анализ митохондриальной генетической изменчивости не только на две другие популярные трансграничные породы, но и на шесть местных пород свиней, для чего были секвенированы и проанализированы 273 последовательности D-петли мтДНК, в том числе 97 последовательностей трансграничных пород и 176 шести местных пород.

Было установлено, что 78.8% свиней принадлежали к гаплогруппе E, 20.5% – к гаплогруппе D и 0.7% – к гаплогруппе A. Свины изучаемых пород, входивших в гаплогруппу E, следующим образом распределялись по породам: L = 7.9% (17 особей из 23), D = 6.5% (35 особей из 36), BR = 8.8% (19 особей из 23), LIV = 5.1% (все особи), MUR = 16.2% (35 особей из 36), KEM = 15.4 (все особи), MANG = 12.5% (все особи) и URZ = 18.7% (40 особей из 46). Исключение было отмечено для крупной белой породы: 71.4% (40 особей из 59) относились к гаплогруппе D, в которую также входили 3.57% дюрков, 8.93% ландрасов, 7.14% уржумской и брейтовской и 1.79% муромской пород. Примечательно, что четыре образца уржумской породы были отнесены к гаплогруппе D и только два образца – к гаплогруппе A.

Таблица 1. Результаты AMOVA для изучаемых пород свиней на основе анализа полиморфизма D-петли мтДНК

Источник вариаций	Степени свободы, <i>d.f.</i>	Сумма квадратов, SS	Компоненты дисперсии, VC	Процент вариации, V%
Межпородные различия	8	528.564	2.14661	43.88
Внутрипородные различия	264	724.766	2.74533	56.12
Общий	272	1253.330	4.89194	43.88

Таблица 2. Попарные значения F_{ST} и генетические дистанции изученных пород свиней на основе анализа полиморфизма D-петли мтДНК

Породы	LW	L	D	BR	KEM	LIV	MUR	URJ	MANG
LW	*								
L	0.22945	*							
D	0.32717	0.06151	*						
BR	0.37619	0.12257	0.11748	*					
KEM	0.54498	0.28962	0.43284	0.36632	*				
LIV	0.45488	0.13138	0.18153	0.03548	0.45829	*			
MUR	0.52152	0.26331	0.30093	0.23537	0.47470	0.19474	*		
URJ	0.49466	0.23417	0.26305	0.20348	0.41721	0.17261	0.04429	*	
MANG	0.61838	0.49375	0.54355	0.44829	0.69267	0.50791	0.62698	0.61414	*

Примечание. LW – крупная белая, L – ландрас, D – дюрок, BR – брейтовская, KEM – кемеровская, LIV – ливенская, MUR – муромская, URJ – уржумская, MANG – мангалица.

Анализ AMOVA (табл. 1) показал, что 56.12% общей генетической изменчивости приходится на различия внутри пород свиней. На долю межпородных различий приходилось 43.88% вариации, что свидетельствует об общности генетической закономерности материнского происхождения изучаемых пород. Характер распределения генетической изменчивости внутри и между изучаемыми местными и трансграничными породами свиней согласуется с данными, о которых сообщают Wang и др. [44], Ramirez и др. [45], Ji и др. [21], Ajibike и др. [46].

Мы обнаружили, что значения F_{ST} (табл. 2) между трансграничными породами были ниже по сравнению с аналогичными, рассчитанными между местными популяциями свиней: LW_L/D (0.229/0.327) и L/D (0.061). Среди местных пород ближе всего к трансграничным свиным оказалась группа брейтовской породы (LW – 0.376, L – 0.122 и D – 0.117). Кроме того, самые низкие значения F_{ST} наблюдались для пар BR/LIV (0.035) и MUR/URJ (0.044), что указывает на их общее происхождение. При этом порода мангалица была наиболее дифференцированной от других пород со значениями F_{ST} от 0.448 (BR) до 0.692 (KEM). Кемеровская порода была отмечена как вторая по отдаленности порода от всех остальных.

Результаты, полученные при анализе генетического дерева Neighbor-Net, позволили нам выделить три кластера (рис. 1). Четыре местные породы (BR, LIV, MUR и URJ) объединялись в один кластер, в котором BR располагалась наиболее близко к трансграничным породам, тогда как MUR и URJ располагались крайне близко друг к другу. Выявленное более близкое расположение брейтовской породы к трансграничным свиным можно объяснить историей ее создания. Сложное воспроизводительное скрещивание с привлечением местных свиней, датского ландраса и крупной белой породы позволило создать первых представителей этой породы. Далее, как видно из наших данных, все три трансграничные породы образовали параллельный кластер, с присоединением ветви MANG, доказывающей ее европейское происхождение. Между тем свины кемеровской породы формировали отдельную ветвь на дереве, что можно объяснить сохранившейся генетической составляющей сибирской северной породы, принимавшей участие в ее создании и отличающей породу от других.

В структуре медианной сети, построенной в нашем исследовании, было выявлено два кластера (рис. 2). Один кластер объединил большинство представителей местных свиней с подкластером

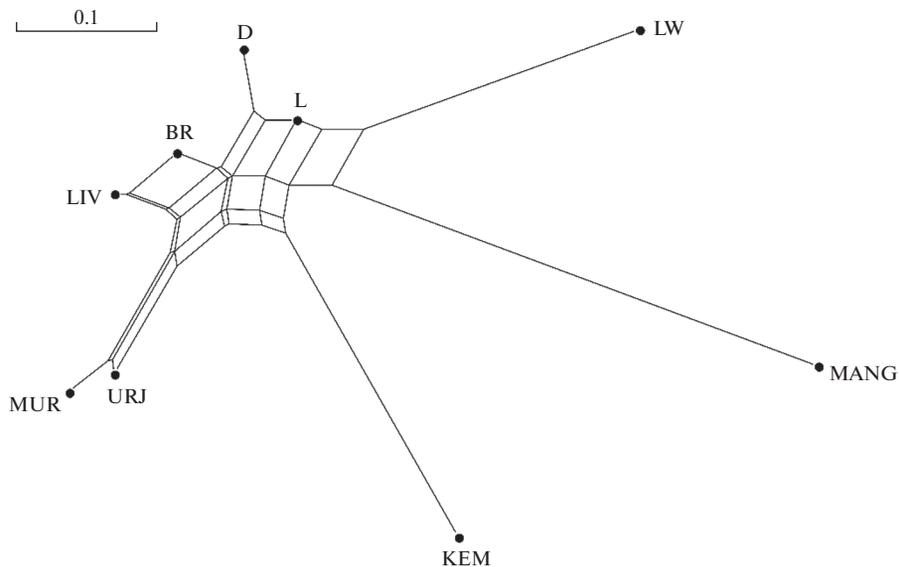


Рис. 1. Филогенетическое дерево Neighbor-Net, построенное на основе генетических дистанций F_{ST} для изучаемых пород свиней. Породы (для рис. 1–3): LW – крупная белая, L – ландрас, D – дюрок, BR – брейтовская, KEM – кемеровская, LIV – ливенская, MUR – муромская, URJ – уржумская, MANG – мангалица.

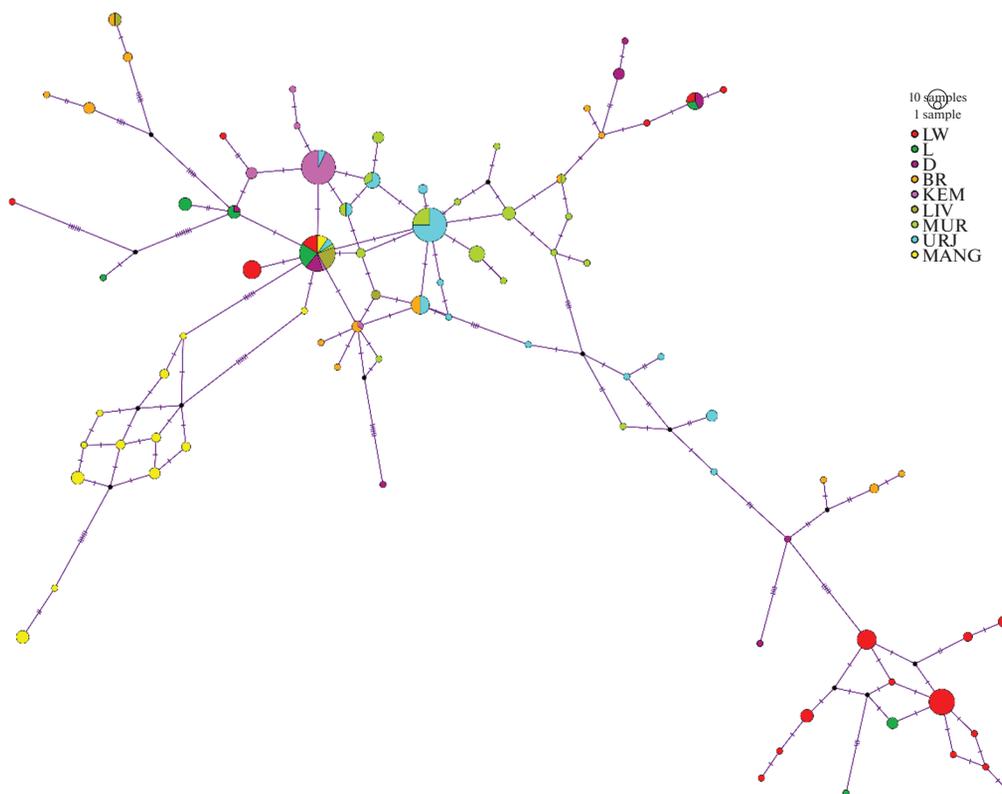


Рис. 2. Медианная сеть, характеризующая гаплотипические связи между изучаемыми породами свиней, на основе анализа полиморфизма в D-петле мтДНК.

Таблица 3. Корреляционная матрица между показателями генетического разнообразия исследуемых пород свиней

Параметр	π	K	h
π	1	1.000***	0.639 ^a
K	1.000***	1	0.639 ^a
h	0.639 ^a	0.639 ^a	1

Примечание. π – нуклеотидное разнообразие; K – среднее количество нуклеотидных различий; h – гаплотипическое разнообразие; *** $p < 0.001$, ^a $p < 0.05$.

породы мангалица. Исключение составили особи брейтовской породы, чьи гаплотипы встраивались во второй кластер. В свою очередь, второй кластер был представлен частными гаплотипами свиней крупной белой и ландрас, а промежуточное положение занимали два частных гаплотипа породы дюрок, а также три частных гаплотипа породы брейтовской породы.

Согласно Goodall-Copestake и др. [47], для оценки разнообразия на уровне популяций используется несколько показателей: среднее количество нуклеотидных различий (K), гаплотипическое разнообразие (h) (также известное как разнообразие генов) и нуклеотидное разнообразие (π). h – это мера уникальности определенного гаплотипа в данной популяции [48], которая отражает распространенность гаплотипа в популяции, тогда как π и K отображают степень мутации гаплотипа в популяции [49, 50]. В нашем исследо-

вании описанные выше параметры были обнаружены в положительной корреляции друг с другом (табл. 3), что подтверждает их влияние на высокий уровень генетического разнообразия в изучаемых породах свиней.

Кроме того, уровень генетического разнообразия был изучен с помощью анализа главных компонент на основе синтезированного оценочного балла (Fz), рассчитанного на основе матрицы показателей h , π и K (рис. 3, табл. 4). Было выявлено (рис. 3), что 84.41% генетической изменчивости можно объяснить первым основным компонентом (Fz ($F1$)), который отражает генетическое разнообразие исследуемых пород свиней.

Результаты, представленные в табл. 4, показали, что среди трансграничных пород свиней самый высокий уровень генетического разнообразия выявлен у крупной белой ($Fz(F1) = 1.59$), самый низкий – у дюрок ($Fz(F1) = 0.10$), а свиньи породы ландрас занимали промежуточное положение ($Fz(F1) = 1.38$). При рассмотрении распределения значений балла Fz у свиней местных пород наибольшее генетическое разнообразие было найдено в группе свиней брейтовской породы, а наименьшее – у особей кемеровской породы: ($Fz(F1) = 2.04$ и $Fz(F1) = -3.01$ соответственно).

Как следует из данных табл. 5, у всех исследованных пород свиней выявлено 84 гаплотипа и 104 варибельных сайта. Согласно Tsai и др. [51], анализ последовательностей D-петли австралийских коммерческих свиней выявил пять гаплотипов. Однако авторы подчеркивают, что полученные данные не включают популяцию австралийских диких свиней, которая может содержать другие генотипы мтДНК, завезенные на континент во время колонизации. Интересно, что анализ последовательностей D-петли аборигенных свиней и диких кабанов из Китая позволил идентифицировать 40 варибельных сайтов, которые приводят к формированию 67 гаплотипов [44].

В настоящем исследовании, несмотря на то что наибольшее количество гаплотипов наблюдалось у свиней крупной белой породы ($H = 19$), местные свиньи суммарно превосходили трансграничных по этому показателю: 55 гаплотипов против 29. Этот результат согласовался с данными исследования Collingbourne [52], в котором аборигенные британские породы свиней демонстрировали наибольшую вариацию гаплотипов по сравнению с трансграничными. Низкое число гаплотипов в группе трансграничных пород можно объяснить родством особей в популяциях крупной белой и ландраса [53].

Объединив трансграничные и местные образцы свиней, мы обнаружили меньшую среднюю

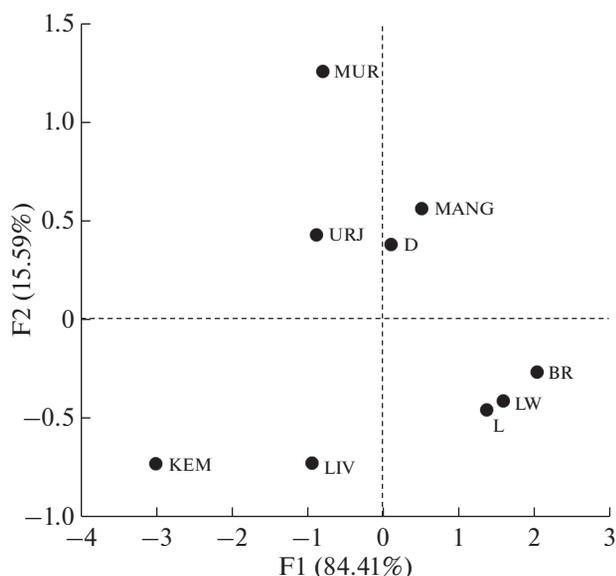


Рис. 3. Анализ главных компонент, проведенный для изучаемых пород свиней на основе полиморфизма в D-петле мтДНК.

Таблица 4. Общие баллы основных компонент и ранг изучаемых пород свиней

Порода	F_z (F1)	Ранг
LW	1.59226	2
L	1.38022	3
D	0.10601	5
BR	2.04168	1
KEM	-3.01218	9
LIV	-0.93915	8
MUR	-0.80077	6
URJ	-0.88233	7
MANG	0.51425	4

Примечание. LW – крупная белая, L – ландрас, D – дюрок, BR – брейтовская, KEM – кемеровская, LIV – ливенская, MUR – муромская, URJ – уржумская, MANG – мангалица.

величину нуклеотидных различий между гаплотипами для местных пород, чем для трансграничных ($K = 6.272$ и $K = 9.934$) (табл. 5). Кроме того, у местных свиней наблюдался более низкий уровень нуклеотидного разнообразия и почти равный уровень гаплотипического разнообразия.

Таблица 5. Показатели генетического разнообразия изучаемых пород свиней, рассчитанные на основе анализа полиморфизма D-петли мтДНК

Порода	n	S	H	K	h ($\pm SD$)	π ($\pm SD$)
LW	59	37	19	9.023	0.881 ± 0.026	0.013 ± 0.001
L	22	32	8	8.667	0.873 ± 0.048	0.012 ± 0.002
D	16	20	8	5.267	0.867 ± 0.060	0.007 ± 0.001
В целом по трансграничным породам	97	50	29	9.934	0.921 ± 0.014	0.014 ± 0.001
BR	23	28	14	9.723	0.949 ± 0.026	0.014 ± 0.001
KEM	33	5	6	0.527	0.379 ± 0.105	0.001 ± 0.001
LIV	11	13	3	4.509	0.582 ± 0.142	0.006 ± 0.002
MUR	36	17	17	2.527	0.924 ± 0.025	0.004 ± 0.001
URJ	46	17	14	3.309	0.779 ± 0.060	0.005 ± 0.001
MANG	27	17	13	5.846	0.937 ± 0.022	0.008 ± 0.001
В целом по местным породам	176	54	55	6.272	0.937 ± 0.010	0.008 ± 0.001

Примечание. n – число голов в группе; S – число полиморфных сайтов; H – число гаплотипов; K – среднее количество нуклеотидных различий; h – гаплотипическое разнообразие; π – нуклеотидное разнообразие; SD – стандартное отклонение.

Обнаруженные закономерности распределения значений параметров генетического разнообразия могут указывать на то, что популяции местных свиней пережили стремительный демографический рост после “бутылочного горлышка” или под влиянием эффекта основателя, тем самым мутация привела к накоплению h , в то время как нуклеотидное разнообразие еще не аккумулировалось [19, 54].

Вторая интерпретация более низких значений почти всех показателей генетического разнообразия у местных свиней может быть объяснена коммерческой гибридизацией. Местные свиньи имеют низкую скорость роста, поэтому трансграничных свиней использовали для скрещивания с ними для улучшения их продуктивности. Полученные данные согласовывались с результатами других исследований, показывающих, что аборигенные свиньи имеют более низкий уровень генетического разнообразия [50, 55–57].

У трансграничных пород свиней среднее число нуклеотидных различий варьировало от 5.267 до 9.023, гаплотипическое разнообразие – от 0.873 до 0.881 и нуклеотидное разнообразие – от 0.007 до 0.013. Показатели гаплотипического и нуклеотидного разнообразия были самыми высокими у крупной белой породы, а самыми низкими у свиней породы дюрок.

Таблица 6. Результаты проверки гипотезы селективной нейтральности по индексам D Таджимы и F_s Фу в изучаемых породах свиней

Порода	n	Tajima's, D	Fu's, F_s
LW	59	0.44019 ns	0.055 ns
L	22	-0.04902 ns	3.298 ns
D	16	-0.50765 ns	0.196 ns
В целом по трансграничным породам	97	0.07201 ns	-1.960 ns
BR	23	1.06616 ns	-0.990 ns
KEM	33	-1.52517 ns	-3.613*
LIV	11	-0.24963 ns	4.823 ns
MUR	36	-1.39046 ns	-9.846*
URJ	46	-0.61247 ns	-2.938 ns
MANG	27	1.13783 ns	-1.449 ns
В целом по местным породам	176	-1.04437 ns	-29.670***

Примечание. n – число голов в группе; * $p < 0.05$. *** $p < 0.001$.

Полученные результаты можно объяснить наличием большего числа семей разного происхождения внутри этих пород и наличием более интенсивного горизонтального потока генов между ними. Кроме того, применяемая в свиноводстве методика прилития крови также может влиять на повышение уровня разнообразия.

Значения всех трех индексов разнообразия были самыми высокими у брейтовской породы ($K = 9.723$, $h = 0.949$, $\pi = 0.014$) и мангалицы ($K = 5.846$, $h = 0.937$, $\pi = 0.008$), что предположительно может свидетельствовать о смешанном происхождении обеих групп.

Высокий уровень гаплотипического разнообразия выявлен у муромской и уржумской пород (0.924 и 0.779 соответственно) при относительно низком уровне нуклеотидного разнообразия (0.004 и 0.005) (табл. 5). Подобное сочетание параметров может быть вызвано быстрым демографическим приростом от небольшого эффективного размера популяции, если предположить, что имеется достаточно времени для увеличения количества гаплотипов за счет мутаций, но недостаточно для накопления больших различий последовательностей [58]. Ливенская порода характеризовалась относительно низкими значениями индексов разнообразия, но превышала значения аналогичных индексов у кемеровской породы.

Для проверки гипотез селективной нейтральности и изучения демографической истории по-

род свиней, были рассчитаны два статистических критерия: D Таджимы и F_s Фу (табл. 6). У трансграничных пород свиней наблюдалось смещение в сторону аллелей, встречающихся со средней частотой, в то время как у местных пород с высокой частотой встречались редкие аллели. Это предположение было сделано на основе анализа суммарных значений D -индекса Таджимы: положительный для всех трансграничных пород и отрицательный для всех местных пород: $D_{\text{total commercial}} = 0.07201$ и $D_{\text{total local}} = -1.04437$.

Присутствие редких аллелей с высокой частотой, как утверждают Stajich и Hahn [59], может быть вызвано увеличением размера популяции или результатом селекционного давления. Интересно, что значения критерия F_s Фу, рассчитанные для обеих групп свиней, были отрицательными ($F_{s \text{ total commercial}} = -1.960$ и $F_{s \text{ total local}} = -29.670$) и указывали на избыток редких гаплотипов по сравнению с нейтральной эволюционной моделью, что также предполагает произошедший демографический рост популяции [52, 60]. Примечательно, что достоверные значения вышеуказанного показателя наблюдались только у местных пород ($p < 0.001$). Среди всех трех трансграничных пород значения индексов нейтральности D и F_s , рассчитанные с помощью тестов Таджимы и Фу, были недостоверными, что свидетельствует о нулевой гипотезе, предполагающей отклонение от нейтральной модели эволюции и указывающей на недавний

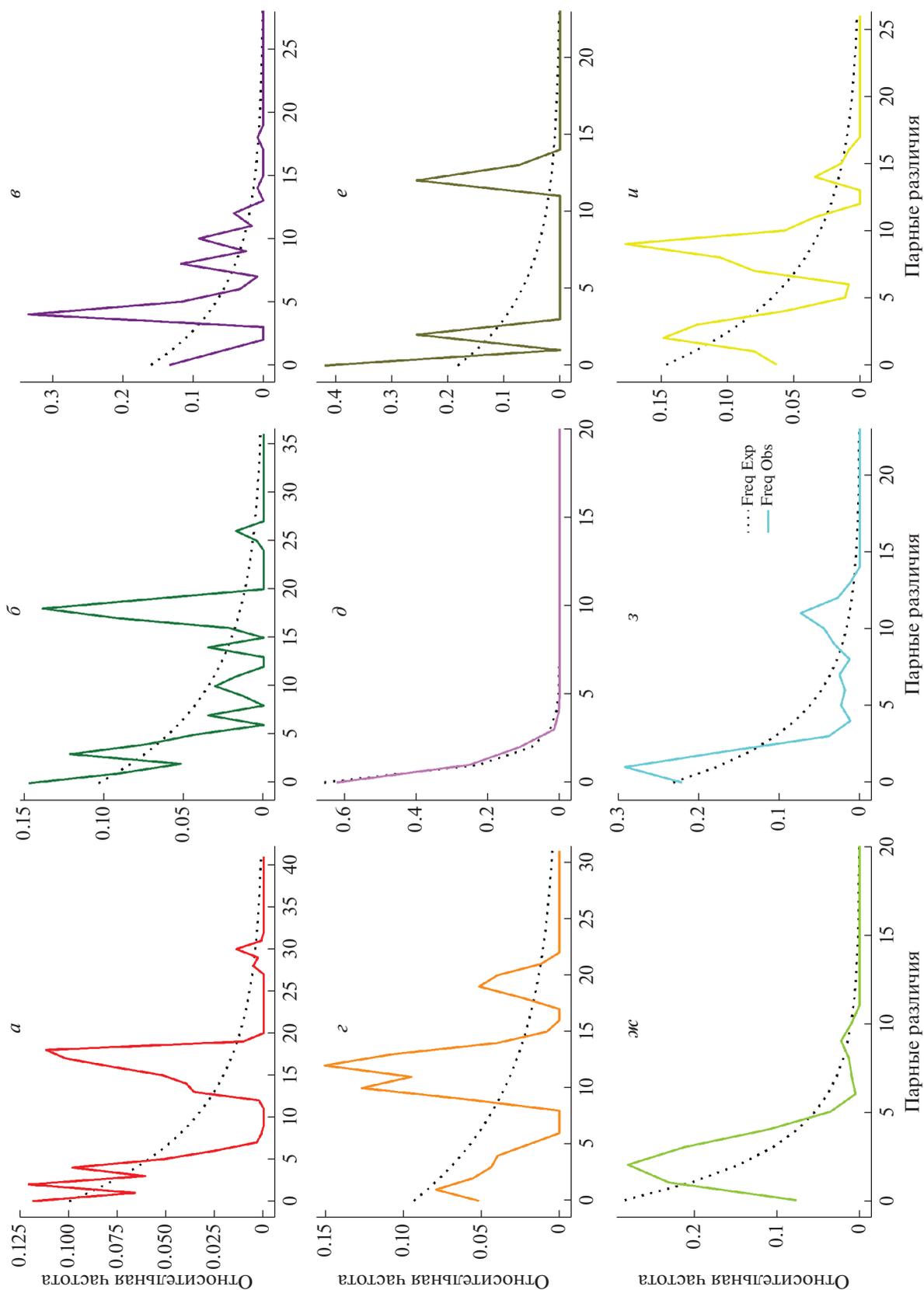


Рис. 4. Графики распределения частот значений парных различий между гаплотипами анализируемой последовательности D-панели мтДНК для изучаемых пород свиней. Пунктирная линия представляет ожидаемое распределение в рамках модели постоянного размера популяции, а сплошная линия – наблюдаемое попарное различие. *а:* LW – крупная белая, *б:* L – ландрас, *в:* D – дюрок, *г:* BR – брейтовская, *д:* КЕМ – кемеровская, *е:* LIV – ливенская, *жс:* MUR – муромская, *з:* URJ – уржумская, *и:* MANG – мангалица.

рост численности популяции. Однако положительные значения обоих показателей в группе свиней крупной белой породы — это признаки балансирующей селекции.

Среди всех местных пород КЕМ, MUR и URJ характеризовались отрицательными значениями обоих показателей, что указывает на избыток гаплотипов с редкими мутациями, тем самым отвергая гипотезу о нейтральной эволюции этих пород.

Однако выявленный избыток был достоверным для теста F_s Фу и недостоверным для теста D Таджimy. Некоторые авторы предположили, что тест F_s Фу — это более чувствительный индикатор, указывающий на недавний рост размеров популяции и селекционное давление, чем D Таджimy [52, 61].

Для изучения демографической истории пород свиней дополнительно проводился анализ распределения частот значений парных различий между гаплотипами (рис. 4). В нашем исследовании график распределения частот значений парных различий для большинства пород был мультимодальным за исключением свиней кемеровских пород. Наблюдаемая кривая в КЕМ соответствовала ожидаемой модели постоянного размера популяции и указывала на то, что эта популяция произошла от ограниченного числа родоначальниц и эволюционировала без заметного притока генов извне. Аналогичным образом для муромской и уржумской пород отмечено развитие породы от генетически родственных особей без значительного влияния потока генов.

Таким образом, в нашем исследовании была предпринята первая попытка по изучению происхождения и анализа материнского генетического разнообразия шести местных пород и трех трансграничных пород, выращиваемых в России. Несмотря на то что по нашим данным генетическое разнообразие местных пород не претерпело критического снижения, дальнейший мониторинг местных пород важен для рационального использования в будущем. Кроме того, дальнейший анализ большего количества особей свиней с использованием митохондриальных и ядерных генетических маркеров будет информативен для углубленного понимания демографической истории, аспектов происхождения и взаимоотношений между породами.

Финансирование работы проводилось за счет средств Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, грант № 075-15-2021-1037 (внутр. № 15.БРК.21.0001). При проведении исследований использовано оборудование ЦКП “Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных” ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

Все применимые международные, национальные и/или институциональные принципы ухода и использования животных были соблюдены.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Song R., Wang Yu., Wang Ya., Zhao J. Base editing in pigs for precision breeding // *Front. Agr. Sci. Eng.* 2020. V. 7. № 2. P. 161–170. <https://doi.org/10.15302/J-FASE-2019308>
2. Park H.-S., Min B., Oh S.-H. Research trends in outdoor pig production — a review // *Asian-Australas. J. Animal Sci.* 2017. V. 30. № 9. P. 1207–1214. <https://doi.org/10.5713/ajas.17.0330>
3. Tai L., Huyen T., Roessler R. et al. Impact of the use of exotic compared to local pig breeds on socio-economic development and biodiversity in Vietnam. Stuttgart: Verlag Grauer. Beuren, 2005.
4. Amills M., Clop A., Ramírez O., Pérez-Enciso M. Origin and genetic diversity of pig breeds // *Encyclopedia of Life Sciences. Ltd.* Chichester: John Wiley & Sons, 2010. P. 1–10. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0022884>
5. Biscarini F., Nicolazzi E.L., Stella A. et al. Challenges and opportunities in genetic improvement of local livestock breeds // *Front. Genet.* 2015. V. 6. № 33. <https://doi.org/10.3389/fgene.2015.00033>
6. Poklukar K., Čandek-Potokar M., Batorek Lukač N. et al. Lipid deposition and metabolism in local and modern pig breeds: a review // *Animals.* 2020. V. 10. P. 424. <https://doi.org/10.3390/ani10030424>
7. Ernst L.K., Dmitriev N.G., Paronyan I.A. Genetic resources of farm animals in Russia and neighboring countries // *VNIIGRZH.* 1994. P. 469.
8. Koziner A.B., Shtakelberg E.R. Animal genetic resources of the USSR // Rome. FAO and UNEP. 1989.
9. Traspov A., Deng W., Kostyunina O. et al. Population structure and genome characterization of local pig breeds in Russia, Belorussia, Kazakhstan and Ukraine // *Genet. Sel. Evol.* 2016. V. 16. <https://doi.org/10.1186/s12711-016-0196-y>
10. FAO. Available online: <http://www.fao.org/dad-is/data/ru/> (accessed on 02 November 2021)
11. Fang M., Andersson L. Mitochondrial diversity in European and Chinese pigs is consistent with population expansions that occurred prior to domestication // *Proc. Biol. Sci.* 2006. V. 273. P. 1803–1810. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3514>
12. Hammond K., Leitch H.W. Genetic resources and the global programme for their management // *The Genetics of the Pig* / Eds Rothschild M.F., Ruvinsky A. Wallingford: CABI Publ., 1998. P. 405–425.

13. *Woelders H., Zuidberg C.A., Hiemstra S.J.* Animal genetic resources conservation in the Netherlands and Europe: poultry perspective // *Poultry Science*. 2005. V. 85. P. 216–222.
<https://doi.org/10.1093/ps/85.2.216>
14. *Zhang J., Jiao T., Zhao S.* Genetic diversity in the mitochondrial DNA D-loop region of global swine (*Sus scrofa*) populations // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2016. V. 473. P. 814–820.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.03.125>
15. *Nguyen H.D., Bui T.A., Nguyen P.T. et al.* The complete mitochondrial genome sequence of the indigenous I pig (*Sus scrofa*) in Vietnam // *Asian-Australas. J. Animal Sci.* 2017. V. 30. № 7. P. 930–937.
<https://doi.org/10.5713/ajas.16.0608>
16. *Giuffra E., Kijas J.M., Amarger V. et al.* The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression // *Genetics*. 2000. V. 154. P. 1785–1791.
<https://doi.org/10.1093/genetics/154.4.1785>
17. *Larson G., Dobney K., Albarella U. et al.* Worldwide phylogeography of wild boar reveals multiple centers of pig domestication // *Science*. 2005. V. 307. P. 1618–1621.
<https://doi.org/10.1126/science.1106927>
18. *Wu G.S., Yao Y.G., Qu K.X. et al.* Population phylogenomic analysis of mitochondrial DNA in wild boars and domestic pigs revealed multiple domestication events in East Asia // *Genome Biol.* 2007. V. 8. № 11. P. 245.
<https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-11-r245>
19. *Ge Q., Gao C., Cai Y. et al.* Evaluating genetic diversity and identifying priority conservation for seven Tibetan pig populations in China based on the mtDNA D-loop // *Asian-Australas. J. Animal. Sci.* 2020. V. 33. № 12. P. 1905–1911.
<https://doi.org/10.5713/ajas.19.0752>
20. *Laval G., Iannuccelli N., Legault C. et al.* Genetic diversity of eleven European pig breeds // *Genet. Sel. Evol.* 2000. V. 32. № 2. P. 187–203.
<https://doi.org/10.1186/1297-9686-32-2-187>
21. *Ji Y.-Q., Wu D.-D., Wu G.-S. et al.* Multi-locus analysis reveals a different pattern of genetic diversity for mitochondrial and nuclear DNA between wild and domestic pigs in East Asia // *PLoS One*. 2011. V. 6. № 10. P. 26416.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026416>
22. *Quan J., Gao C., Cai Y. et al.* Population genetics assessment model reveals priority protection of genetic resources in native pig breeds in China // *Global Ecol. and Conservation*. 2020. V. 21.
<https://doi.org/10.1016/j.gecco.2019.e00829>
23. BLAST. Available online: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (accessed on 01 March 2021).
24. *Edgar R.C.* MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput // *Nucl. Acids Res.* 2004. V. 32. P. 1792–1797.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkh340>
25. *Kumar S., Stecher G., Tamura K.* MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets // *Mol. Biol. Evol.* 2016. V. 33 № 7. P. 1870–1874.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
26. *Castresana J.* Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis // *Mol. Biol. Evol.* 2000. V. 17. P. 540–552.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026334>
27. *Peng M.-S., Fan L., Shi N.-N. et al.* DomeTree: A canonical toolkit for mitochondrial DNA analyses in domesticated animals // *Mol. Ecol. Resour.* 2015. V. 15.
<https://doi.org/10.1111/1755-0998.12386>
28. *Tajima F.* Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism // *Genetics*. 1989. V. 123. P. 585–595.
<https://doi.org/10.1093/genetics/123.3.585>
29. *Fu Y.-X.* Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection // *Genet. Society America*. 1997. V. 147. P. 915–925.
<https://doi.org/10.1093/genetics/147.2.915>
30. *Rozas J., Ferrer-Mata A., Sánchez-DelBarrio J.C. et al.* DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets // *Mol. Biol. Evol.* 2017. V. 34. P. 3299–3302.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msx248>
31. *Rogers A.R., Harpending H.* Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences // *Mol. Biol. Evol.* 1992. V. 9. P. 552–569.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040727>
32. *Wickham H.* Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. N.Y.: Springer, 2009. 213 p.
33. *Excoffier L., Lischer H.E.L.* Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows // *Mol. Ecol. Resour.* 2010. V. 10. P. 564–567.
<https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
34. *Bandelt H.J., Forster P., Rohl A.* Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies // *Mol. Biol. Evol.* 1999. V. 16. P. 37–48.
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026036>
35. *Leigh N., Georgiev I., Boeker T. et al.* Nuclear star cluster formation in energy-space // *MNRAS*. 2015.
36. *Lanfear R., Frandsen P.B., Wright A.M. et al.* Partition-Finder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses // *Mol. Biol. Evol.* 2017. V. 34. P. 772–773.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msw260>
37. *Akaike H.* A new look at statistical model identification // *IEEE Trans Auto Control*. 1974. V. 19. P. 716–723.
<https://doi.org/10.1109/TAC.1974.1100705>
38. *Huson D., Klopper T.* Beyond galled trees – decomposition and computation of galled networks // 11th Annual Intern. Conf. RECOMB 2007. Oakland. CA.

- USA. April 21–25. 2007.
https://doi.org/10.1007/978-3-540-71681-5_15
39. *Kharzinova V.R., Zinovieva N.A.* The pattern of genetic diversity of different breeds of pigs based on microsatellite analysis // *Vavilov J. Genetics and Breeding*. 2020. V. 24. № 7. P. 747–754.
<https://doi.org/10.18699/VJ20.669>
 40. *Kharzinova V.R., Kostyunina O.V., Karpushkina T.V. et al.* The study of the population structure and genetic diversity of hungarian mangalica breed of pigs based on microsatellites analysis // *Agrarian Bull. Urale*. 2019. V. 186. № 7. P. 77–81.
https://doi.org/10.32417/article_5d52b081b3e348.43320197
 41. *Balatsky V.N., Saienko A.M., Pena R.N. et al.* Genetic diversity of pig breeds on ten production quantitative traits loci // *Cytol. Genet.* 2015. V. 49. P. 299–307.
<https://doi.org/10.3103/S0095452715050023>
 42. *Kharzinova V.R., Kostyunina O.V., Zinovieva N.A.* Comparative characterization of the allele pool of local pig breeds based on microsatellite analysis // *Pig Breeding. Russian*. 2017. V. 1. P. 5–7.
 43. *Getmantseva L., Bakoev S., Bakoev N. et al.* Mitochondrial DNA diversity in Large White pigs in Russia // *Animals*. 2020. V. 10. P. 1365.
<https://doi.org/10.3390/ani10081365>
 44. *Wang C., Chen Y., Han J. et al.* Mitochondrial DNA diversity and origin of indigenous pigs in South China and their contribution to western modern pig breeds // *J. Integrative Agriculture*. 2019. V. 18. № 10. P. 2338–2350.
[https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(19\)62731-0](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(19)62731-0)
 45. *Ramírez O., Ojeda A., Tomàs A. et al.* Integrating Y-chromosome, mitochondrial, and autosomal data to analyze the origin of pig breeds // *Mol. Biol. Evol.* 2009. V. 26. № 9. P. 2061–2072.
<https://doi.org/10.1093/molbev/msp118>
 46. *Ajibike A.B., Ilori B.M., Akinola O. et al.* Assessing the genetic diversity of South-western Nigerian Indigenous Pig (*Sus scrofa*) using mitochondrial DNA D-loop sequence // *Nigerian J. Animal Sci.* 2020. V. 22. P. 1–9.
 47. *Goodall-Copestake W., Tarling G., Murphy E.* On the comparison of population-level estimates of haplotype and nucleotide diversity: A case study using the gene *cox1* in animals // *Heredity*. 2012. V. 109. P. 50–56.
<https://doi.org/10.1038/hdy.2012.12>
 48. *Nei M., Tajima F.* DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases // *Genetics*. 1981. V. 97. P. 145.
<https://doi.org/10.1093/genetics/97.1.145>
 49. *Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F. et al.* The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools // *Nucl. Acids Res.* 1997. V. 25. P. 4876–4882.
<https://doi.org/10.1093/NAR/25.24.4876>
 50. *Zhang J., Yang B., Wen X., Sun G.* Genetic variation and relationships in the mitochondrial DNA D-loop region of Qinghai indigenous and commercial pig breeds // *Cell Mol. Biol. Lett.* 2018. V. 3. P. 23–31.
<https://doi.org/10.1186/s11658-018-0097-x>
 51. *Tsai T.S., Rajasekar S., John J.S.St.* The relationship between mitochondrial DNA haplotype and the reproductive capacity of domestic pigs (*Sus scrofa domestica*) // *BMC Genetics*. 2016. V. 17. P. 67.
<https://doi.org/10.1186/s12863-016-0375-4>
 52. *Collingbourne S.J.* Conservation genetics of traditional and commercial pig breeds, and evaluation of their cross-breeding potential for productivity improvement // PhD thesis. Univ. Essex Available. 2019.
 53. *Moon K.-H., Nakanishi M., Futagami Y., Kashiwadani H.* Studies on cambodian species of Graphidaceae (Ostropales, Ascomycota) (II) // *The J. Japanese Botany*. 2015. V. 90. № 2. P. 98–102.
 54. *Avise J.C.* Phylogeography the History and Formation of Species. Cambridge. MA. USA; London. England. Harvard Univ. Press, 2000.
<https://doi.org/10.5860/choice.37-5647>
 55. *Kim T.H., Kim K.S., Choi B.H.* Genetic structure of pig breeds from Korea and China using microsatellite loci analysis // *J. Anim. Sci.* 2005. V. 83. P. 2255–2263.
<https://doi.org/10.2527/2005.83102255X>
 56. *Kim K.S., Yeo J.S., Kim J.W.* Assessment of genetic diversity of Korean native pig (*Sus scrofa*) using AFLP markers // *Gen. Genet. Syst.* 2002. V. 77. P. 361–368.
<https://doi.org/10.1266/GGS.77.361>
 57. *Li K.Y., Chen C., Moran B.F. et al.* Analysis of diversity and genetic relationships between four Chinese indigenous pig breeds and one Australian commercial pig breed // *Anim. Genet.* 2000. V. 31. P. 322–325.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2052.2000.00649.x>
 58. *Sundari S., Chanthran D., Lim P.-E. et al.* Genetic diversity and population structure of *Terapon jarbua* (Forskål, 1775) (Teleostei, Terapontidae) in Malaysian waters // *ZooKeys*. 2020. V. 911. P. 139–160.
<https://doi.org/10.3897/zookeys.911.39222>
 59. *Stajich J., Hahn M.W.* Disentangling the effects of demography and selection in human history // *Mol. Biol. Evol.* 2004. V. 22. P. 63–73.
<https://doi.org/10.1093/MOLBEV/MSH252>
 60. *Alexandrino J., Arntzen J.W., Ferrand N.* Nested clade analysis and the genetic evidence for population expansion in the phylogeography of the golden-striped salamander, *Chioglossa lusitanica* (Amphibia: Urodela) // *Heredity*. 2002. V. 88. P. 66–74.
<https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800010>
 61. *Li D., Wei H., Zhang Z. et al.* Oriental reed warbler (*Acrocephalus orientalis*) nest defence behaviour towards brood parasites and nest predators // *Behaviour*. 2015.
<https://doi.org/10.1163/1568539X-00003295>

Genetic Diversity and Phylogenetic relationship of Pig Breeds Bred in Russia Inferred from Mitochondrial DNA D-Loop Sequences

V. R. Kharzinova^{a, *}, N. A. Akopyan^a, A. V. Dotsev^a, T. E. Deniskova^a, A. A. Sermyagin^a, T. V. Karpushkina^a, A. D. Solovieva^a, G. Brem^b, and N. A. Zinovieva^{a, **}

^aErnst Federal Research Center for Animal Husbandry, Podolsk District, Dubrovitsy settlement, 142132 Russia

^bDepartment of Animal Breeding and Genetics, University of Veterinary Medicine (VMU), Vienna, A-1210, Austria

*e-mail: veronika0784@mail.ru

**e-mail: n_zinovieva@mail.ru

Decreasing genetic diversity is one of the major genetic concerns in pig breeding worldwide. In Russia, several native breeds are endangered because of their low census and commercial breeds may be losing diversity because of the strong directional selection. In this study, we aimed to assess genetic diversity and phylogenetic relationships within nine pig breeds raised in Russia by analyzing D-loop mtDNA sequences. We obtained a total of 273 D-loop sequences of pigs from breeds including Breitov, Kemerovo, Liven, Murom, Urzhum, Mangalitsa, Large White, Landrace, and Duroc. In total, we identified 104 variable sites and detected 84 haplotypes, including 55 haplotypes in local and 29 in commercial breeds, and 104 variable sites were detected in all pig breeds. Local breeds had lower average number of nucleotide difference between haplotypes comparing to commercial one ($K=6.272$ and $K=9.934$, respectively). 78.8% of the studied pigs belonged to haplogroup E; haplogroup D (20.5%) and A (0.7%) were less frequent. The AMOVA showed that 43.88% of the total genetic variability was accounted for differences among the studied groups. Network analysis showed that the Kemerovo breed was the most differentiated within local breeds and Mangalitsa joined the cluster of commercial breeds due to its European origin. Our findings will be useful to moderate ongoing breeding policy of transboundary breeds as well as to develop the accurate preservation programs of the local breeds.

Keywords: D-loop mtDNA, pigs, local breeds, cosmopolitan breeds, haplotype diversity, demographic history, differentiation.