

**Биоресурсы: геномное сканирование популяций**

УДК 639.1:599.731.11:631.523.5:577.21

**ПОЛИМОРФИЗМ ГЕНОВ, АССОЦИИРОВАННЫХ С ЛОКУСАМИ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ПРИЗНАКОВ, У КАБАНА (*Sus scrofa* L., 1758), ОБИТАЮЩЕГО НА ТЕРРИТОРИИ РОССИИ\***

Н.А. ЗИНОВЬЕВА<sup>1</sup>, О.В. КОСТЮНИНА<sup>1</sup>, А.В. ЭКОНОМОВ<sup>2</sup>,  
М.С. ШЕВНИНА<sup>2</sup>, И.А. ДОМСКИЙ<sup>2</sup>, Е.А. ГЛАДЫРЬ<sup>1</sup>, Г. БРЕМ<sup>3</sup>

Проведены генетические исследования кабанов ( $n = 89$ ) по десяти ДНК-маркерам — *RYR1*, *ESR*, *FSHB*, *NCOA1*, *BF*, *MUC4*, *IGF2*, *MC4R*, *POUIF1*, *ECRF18/FUT1*. Отнесение исследуемых особей к различным территориальным кластерам было выполнено на основании расчета коэффициента подобия (Q) при  $k = 2$ . Среднее значение Q у животных, обитающих в европейской части и в Западной Сибири, составило  $0,984 \pm 0,005$ , у особей из Иркутской области и Хабаровского края —  $0,994 \pm 0,001$ . Пять ДНК-маркеров (*RYR1*, *ESR*, *MUC4*, *IGF2*, *ECRF18/FUT1*) оказались мономорфными в обоих территориальных кластерах. Установлены незначительные различия в частоте аллелей между особями, входящими в условно западный и восточный кластеры, по ДНК-маркерам *FSHB* ( $p_A$  равно соответственно 0,462 и 0,250), *BF* ( $p_A = 0,020$  и 0,143), *MC4R* ( $p_A = 0,013$  и 0,000) и *POUIF1* ( $p_C = 0,000$  и 0,111). Достоверные различия между исследуемыми группами отмечены по частотам аллелей *NCOA1*:  $p_{A1} = 0,938$  у кабанов, отнесенных к условно западному кластеру, и  $p_{A1} = 0,000$  — к восточному.

Ключевые слова: кабаны, ДНК-маркеры, полиморфизм, *RYR1*, *ESR*, *FSHB*, *NCOA1*, *BF*, *MUC4*, *IGF2*, *MC4R*, *POUIF1*, *ECRF18/FUT1*.

Keywords: wild boar, DNA markers, polymorphism, *RYR1*, *ESR*, *FSHB*, *NCOA1*, *BF*, *MUC4*, *IGF2*, *MC4R*, *POUIF1*, *ECRF18/FUT1*.

Кабан — широко распространенный представитель дикой фауны. На основании фенотипических различий вид *Sus scrofa* L., 1758 был разделен на четыре расы (западную, восточную, индийскую и индонезийскую), которые, в свою очередь, включают 16 (1), а по некоторым данным, около 27 подвидов (2, 3).

В России, по материалам А.А. Данилкина (4), обитает пять подвидов кабана: центрально-европейский (*S. s. scrofa* L., 1758), кавказский (*S. s. attila* Thorn, 1912), сибирский (*S. s. sibiricus* Staffe, 1922), среднеазиатский (*S. s. nigripes* Blanf, 1875), уссурийский (*S. s. ussuricus* Heude, 1888). Четких границ между вышеназванными подвидами не существует, что связано с естественным расселением животных, сезонными кочевками, обусловленными кормовыми ресурсами, паводками, динамикой высоты снегового покрова, высотными миграциями и т.д. Один из важнейших факторов изменения генетической структуры подвидов — работы по акклиматизации. Например, считалось, что уссурийский подвид наиболее крупный, в результате его пытались расселять в европейской части России, в частности завозили в заповедно-охотничье хозяйство «Завидово» (Тверская обл.) (5, 6). Подобная практика имеет место и в настоящее время.

В последние годы активно ведутся работы по изучению генетического разнообразия популяций диких свиней, в том числе на территории Российской Федерации (7-9), и указанное направление исследований вызывает как научный, так и практический интерес.

\* Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ, шифр 2012-1.4-12-000-1016-008 и 2012-1.4-12-000-1001-010. В проведении исследований использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ГНУ ВИЖ Россельхозакадемии.

Развитие молекулярной генетики открывает новые возможности в характеристике групп животных и их генетической дифференциации. Одно из направлений при исследовании популяций кабанов заключается в оценке степени интрогрессии домашней свиньи вследствие случайной гибридизации. С этой целью применяются различные типы ДНК-маркеров: мтДНК (10), микросателлиты (11), SNP-маркеры (12, 13), ДНК-маркеры, ассоциированные с локусами количественных признаков (14). Как доказательство наличия домашних свиней среди предков кабанов по материнской линии можно рассматривать присутствие азиатского гаплотипа (А) мтДНК, встречающегося в породах домашних свиней с частотой 29 % (10), вследствие исторической интрогрессии в XVII-XIX в.в. от китайских свиней (15), в то время как у «чистых» популяций европейского кабана проявляются только гаплотипы E1 и E2. В качестве одного из критериев интрогрессии домашних свиней в популяции кабана также используют частоту генов, ассоциированных с локусами количественных признаков (QTL). А. Ojeda с соавт. (14) установили, что частота аллеля *Q* по *IGF2* (мутация G3072A), ассоциированного с усиленным ростом мышечной ткани и мясностью, в заводских породах свиней составляет 86 %, в локальных — 3 % и отсутствует у 120 протестированных европейских кабанов. Y. Kuril с соавт. (16) охарактеризовали полиморфизм генов *RYRI*, *LEP*, *GH*, *MYOG*, *MYF5* и *GDF8* в популяции кабанов, обитающей на северо-востоке Польши. Если гены *RYRI*, *LEP* и *MYF5* оказались мономорфными, то для *MYOG*, *GH* и *GDF8* обнаружили полиморфизм с частотой вариантов соответственно 0,42 (аллель А) и 0,58 (аллель В), 0,56 (аллель «+») и 0,44 (аллель «-»), 0,63 (аллель С) и 0,37 (аллель Т). Показано, что в азиатской и европейской популяциях сегрегируют разные аллели *MC1R*, обуславливающие окрас и ответственные за различия по цвету шкуры между кабаном и домашними свиньями (6), что было положено в основу при изучении интрогрессии в греческой популяции (7).

Цель настоящих исследований заключалась в характеристике полиморфизма генов, ассоциированных с QTL, у разных групп кабанов, обитающих на территории России.

**Методика.** Биологическим материалом для исследований служили образцы мышечной ткани диких свиней, обитающих на территории России ( $n = 89$ ), отобранные в Архангельской области ( $n = 3$ ), Башкирии ( $n = 3$ ), Владимирской ( $n = 3$ ), Волгоградской ( $n = 5$ ), Вологодской ( $n = 2$ ), Ивановской ( $n = 3$ ), Иркутской ( $n = 2$ ), Калининградской ( $n = 3$ ), Кировской ( $n = 8$ ) областях, в Республике Коми ( $n = 1$ ), Краснодарском крае ( $n = 1$ ), Курганской ( $n = 3$ ), Курской ( $n = 3$ ), Ленинградской областях ( $n = 8$ ), в Республике Марий-Эл ( $n = 3$ ), Нижегородской ( $n = 4$ ), Омской ( $n = 3$ ), Оренбургской ( $n = 3$ ), Пензенской ( $n = 3$ ), Саратовской ( $n = 1$ ), Свердловской ( $n = 3$ ), Смоленской ( $n = 3$ ), Тамбовской областях ( $n = 4$ ), в Республике Татарстан ( $n = 1$ ), Тверской области ( $n = 3$ ), в Удмуртской Республике ( $n = 2$ ), Хабаровском крае ( $n = 7$ ) и в Чувашской Республике ( $n = 1$ ).

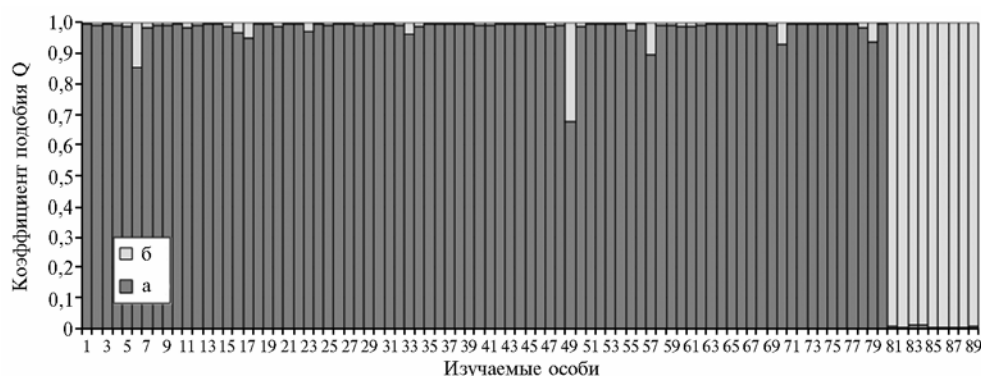
Выделение ДНК проводили на колонках Nexttec и с использованием набора реагентов для выделения ДНК D1Atom™ DNA Prep100 (ООО «Компания «Биоком», Россия) в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя.

Принадлежность исследуемых животных к генетически дифференцированным кластерам определяли на основании анализа 12 микросателлитов (17) с последующим анализом кластерной структуры исследуемой

выборки по методу J.K. Pritchard с соавт. (18). Обработку данных проводили с использованием программного обеспечения Structure (v. 2.3.1) без введения предварительной информации о популяционной принадлежности особей для числа популяций (K-кластеров), равного 2. В качестве ДНК-маркеров QTL использовали гены рианодинового рецептора (*RYR1*), эстрогенового рецептора (*ESR*),  $\beta$ -субъединицы фолликулостимулирующего гормона (*FSHB*), коактиватора стероидных гормонов (*NCOA1*), пропердина (*BF*), муцина 4 (*MUC4*), инсулиноподобного фактора роста 2 (*IGF2*), рецептора меланокортина 4 (*MC4R*), гипофизарного транскрипционного фактора (*POU1F1*), рецептора *Escherichia coli* (*ECRF18/FUT1*). При определении полиморфизма по перечисленным генам применяли методики, разработанные в Центре биотехнологии и молекулярной диагностики (Всероссийский НИИ животноводства).

Информацию об аллелях каждого животного суммировали в электронной таблице Microsoft Excel. Полученная матрица генотипов служила основой для статистической обработки результатов, которую осуществляли по стандартным методикам (19, 20).

**Результаты.** Данные анализа генетической структуры исследуемой выборки кабанов при  $k = 2$  (рис. 1) выявили четкую генетическую дифференциацию, обуславливающую формирование двух кластеров: условно западного (далее первый) и восточного (второй). Первый включает в себя животных из Центральной России, Кавказа, Урала и Западной Сибири, второй — из Хабаровского края и Иркутской области.



**Рис. 1.** Генетическая структура изучаемой выборки дикого кабана (*Sus scrofa* L., 1758) по 10 ДНК-маркерам QTL: 1-3 — особи из Архангельской области, 4-6 — из Башкирии, 7-9 — Владимирской области, 10-14 — Волгоградской области, 15-16 — Вологодской области, 17-19 — Ивановской области, 20-22 — Калининградской области, 23-30 — Кировской области, 31 — Республики Коми, 32 — Краснодарского края, 33-35 — Курганской области, 36-38 — Курской области, 39-46 — Ленинградской области, 47-49 — Республики Марий-Эл, 50-53 — Нижегородской области, 54-56 — Омской области, 57-59 — Оренбургской области, 60-62 — Пензенской области, 63 — Саратовской области, 64-66 — Свердловской области, 67-69 — Смоленской области, 70-73 — Тамбовской области, 74 — Татарстана, 75-77 — Тверской области, 78-79 — Удмуртии, 80 — Чувашии, 81-82 — Иркутской области, 83-89 — Хабаровского края; а —  $Q_1$ , б —  $Q_2$ . Расчеты выполнены по методу J.K. Pritchard с соавт. (18) для  $k = 2$ . Описание маркеров см. в разделе «Методика».

Среднее значение коэффициента подобия ( $Q$ ) у особей, обитающих на европейской территории и в Западной Сибири, в первом кластере составило  $Q_1 = 0,984 \pm 0,005$  с индивидуальными вариациями от 0,679 до 0,998, при этом у 78 из 80 исследованных животных значения  $Q_1$  оказались выше 0,900 и лишь у двух особей из Республики Марий-Эл и Башкирии составили соответственно 0,679 и 0,855, что позволяет предполагать

у них интрогрессию от предков из второго кластера. Среднее значение  $Q$  у животных, которые обитали на территории Иркутской области и Хабаровского края, во втором кластере составило  $Q_2 = 0,994 \pm 0,001$  с вариациями от 0,989 до 0,997. Таким образом, полученные данные позволяют сделать вывод о достоверных генетических различиях изучаемых особей, отнесенных к условно западному и восточному кластерам.

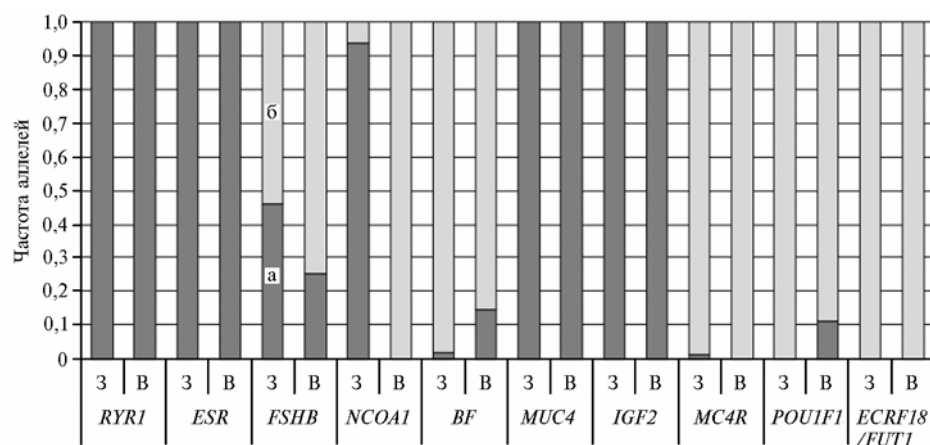
**Распределение генотипов по ДНК-маркерам QTL в изучаемой выборке кабанов (*Sus scrofa* L., 1758)**

Генотип, кластер	Частота генотипа, %		
	По маркеру		
	По маркеру <i>RYRI</i>		
Генотип	<i>NN</i>	<i>Nn</i>	<i>nn</i>
в условно западном кластере	100,0	0,0	0,0
в восточном кластере	100,0	0,0	0,0
	По маркеру <i>ESR</i>		
Генотип	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
в условно западном кластере	100,0	0,0	0,0
в восточном кластере	100,0	0,0	0,0
	По маркеру <i>FSHB</i>		
Генотип	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
в условно западном кластере	32,9	26,6	40,5
в восточном кластере	0,0	50,0	50,0
	По маркеру <i>NCOA1</i>		
Генотип	<i>A1A1</i>	<i>A1A2</i>	<i>A2A2</i>
в условно западном кластере	87,5	12,5	0,0
в восточном кластере	0,0	0,0	100,0
	По маркеру <i>BF</i>		
Генотип	<i>AA</i>	<i>AB</i>	<i>BB</i>
в условно западном кластере	1,4	1,4	97,3
в восточном кластере	0,0	28,6	71,4
	По маркеру <i>MUC4</i>		
Генотип	<i>CC</i>	<i>CG</i>	<i>GG</i>
в условно западном кластере	100,0	0,0	0,0
в восточном кластере	100,0	0,0	0,0
	По маркеру <i>IGF2</i>		
Генотип	<i>QQ</i>	<i>Qq</i>	<i>qq</i>
в условно западном кластере	100,0	0,0	0,0
в восточном кластере	100,0	0,0	0,0
	По маркеру <i>MC4R</i>		
Генотип	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>
в условно западном кластере	0,0	2,5	97,5
в восточном кластере	0,0	0,0	100,0
	По маркеру <i>POUIF1</i>		
Генотип	<i>CC</i>	<i>CD</i>	<i>DD</i>
в условно западном кластере	0,0	0,0	100,0
в восточном кластере	0,0	22,2	77,8
	По маркеру <i>ECRF18/FUT1</i>		
Генотип	<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>
в условно западном кластере	0,0	0,0	100,0
в восточном кластере	0,0	0,0	100,0

Мы сравнили частоту генотипов и аллелей по ДНК-маркерам у протестированных животных (табл., рис. 2). Из 10 исследованных ДНК-маркеров пять (*RYRI*, *ESR*, *MUC4*, *IGF2*, *ECRF18/FUT1*) оказались мономорфными в обоих территориальных кластерах. Это позволяет предполагать, что мутации, обуславливающие полиморфизм указанных генов, произошли после одомашнивания свиней. Незначительные различия в частоте аллелей ДНК-маркеров между группами особей, входящими в условно западный и восточный кластеры, наблюдались по *FSHB* ( $p_A$  — соответственно 0,462 и 0,250), *BF* ( $p_A$  — 0,020 и 0,143), *MC4R* ( $p_A$  — 0,013 и 0,000) и *POUIF1* ( $p_C$  — 0,000 и 0,111).

Достоверные различия между исследуемыми территориальными группами отмечались по частоте аллелей *NCOA1*: в первом кластере  $p_{A1} = 0,938$ , во втором кластере  $p_{A1} = 0,000$ . Присутствие аллеля *A2 NCOA1* в условно западном кластере кабанов можно рассматривать как следствие интрогрес-

сии от китайских свиней в XVII-XIX в.в. (15). В то же время распространение аллеля *A2* среди домашних свиней с частотой от 0,722 до 1,000 (21) означает, что нельзя исключать его интродукцию в результате гибридизации с домашними свиньями.



**Рис. 2.** Распределение аллелей ДНК-маркеров QTL у кабана (*Sus scrofa* L., 1758) в западном (3) и восточном (B) территориальных кластерах: а и б — соответственно аллели 1 и 2. Аллель 1 — N по *RYR1*, A по *ESR*, A по *FSHB*, A1 по *NCOA1*, A по *BF*, C по *MUC4*, Q по *IGF2*, A по *MC4R*, C по *POU1F1*, A по *ECRF18/FUT1*; аллель 2 — n по *RYR1*, B по *ESR*, B по *FSHB*, A2 по *NCOA1*, B по *BF*, G по *MUC4*, q по *IGF2*, G по *MC4R*, D по *POU1F1*, G по *ECRF18/FUT1*.

Итак, изученные территориальные группы кабана *Sus scrofa* дифференцированы не только по анонимным ДНК-маркерам, но и по некоторым генам, ассоциированным с локусами количественных признаков у свиней.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Groves C. Ancestors for the pigs: taxonomy and phylogeny of the genus *Sus*. Research School of Pacific Studies, Australian National University. Canberra, Australia, 1981.
- Heege W., Rohrs M. Zoological considerations on the origins of farming and domestication. In: *Origins of agriculture* /C.A. Reed (ed.). Mouton, The Hague, 1977: 245-279.
- Erstein H. Pig. In: *Evolution of domesticated animals* /I.L. Mason (ed.). Longman, London, 1984: 145-162.
- Данилкин А.А. Свиньи (Серия «Млекопитающие России и сопредельных регионов»). М., 2002.
- Павлов М.П. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Киров, 1999.
- Павлов М.П., Корсакова И.Б., Лавров Н.П. Акклиматизация охотничье-промысловых зверей и птиц в СССР. Киров, 1974.
- Ли Х., Мин М.С., Ким К.С., Ан Дж., Ли М.Е. Состояние исследования генетического банка по сохранению диких животных Республики Корея и Лазовского заповедника. Мат. науч.-практ. конф., посвященной 75-летию Лазовского заповедника. Владивосток, 2010: 153-158.
- Варнаков А.П., Данкверт С.А., Давыдова Е.Е., Давыдов А.В., Солтынская И.В., Селивёрстова А.С., Игнатова И.А., Проняев А.В., Вольф С.А., Соинова О.Л., Марков Н.И., Рожков Ю.И. Предварительный анализ изменчивости митохондриальной ДНК (D-петля) в популяциях европейского кабана (*Sus scrofa* L.). Вестник охотоведения, 2011, 8(2): 173-178.
- Ким Сунг Кионг, Ли Кианг Сеок, Марков Н.И., Варнаков А.П., Данкверт С.А., Проняев А.В., Давыдов А.В., Рожков Ю.И. Генетическое разнообразие кабана Евразии на основе анализа микросателлитных локусов и мтДНК. Вестник охотоведения, 2012, 9(2): 209-214.
- Fang M., Andersson L. Mitochondrial diversity in European and Chinese pigs is consistent with population expansions that occurred prior to domestication. *Proc. the Royal Society B: Biological Sciences*, 2006, 273: 1803-1810.

11. Гладырь Е.А., Эрнст Л.К., Костюнина О.В. Изучение генома свиней (*Sus scrofa*) с использованием ДНК-маркеров. Сельскохозяйственная биология, 2009, 2: 16-26.
12. Fang M., Larson G., Soares Ribeiro H., Andersson L. Contrasting mode of evolution at a coat color locus in wild and domestic pigs. PLoS Genetics, 2009, 5: 1-6.
13. Koutsogiannouli E.A., Moutou K.A., Sarafidou T., Stamatis C., Mamuris Z. Detection of hybrids between wild boars (*Sus scrofa scrofa*) and domestic pigs (*Sus scrofa f. domestica*) in Greece, using the PCR-RFLP method on melanocortin-1 receptor (*MC1R*) mutations. Mammal. Biol., 2010, 75: 69-73.
14. Ojeda A., Huang L.S., Ren J., Angiolillo A., Cho I.C., Soto H., Lemus-Flores C., Makuza S.M., Folch J.M., Perez-Enciso M. Selection in the making: a worldwide survey of haplotypic diversity around a causative mutation in porcine *IGF2*. Genetics, 2008, 178: 1639-1652.
15. Giuffra E., Kijas J.M.H., Amarger V., Carlborg O., Jeon J.-T., Andersson L. The origin of the domestic pig: independent domestication and subsequent introgression. Genetics, 2000, 154: 1785-1791.
16. Kuryl J., Zurkowski M., Urbanski P., Wyszynska-Koko J. Distribution of the polymorphic variants of genes *RYRI*, *LEP*, *GH*, *MYOG*, *MYF5*, and *GDF8* in wild boars from North-East of Poland. Animal Science Papers and Reports, 2004, 22(3): 271-278.
17. Зиновьева Н.А., Гладырь Е.А. Генетическая экспертиза сельскохозяйственных животных: применение тест-систем на основе микросателлитов. Достижения науки и техники АПК, 2011, 9: 19-20.
18. Pritchard J.K., Stephens M., Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. Genetics, 2000, 155: 945-959.
19. Вейр Б. Анализ генетических данных /Пер. с англ. Д.В. Зайкина, А.И. Пудовкина, А.Н. Татаренкова. М., 1995.
20. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. М., 1991.
21. Зиновьева Н.А., Костюнина О.В., Гладырь Е.А., Банникова А.Д., Харзинова В.Р., Ларионова П.В., Шавырина К.М., Эрнст Л.К. Роль ДНК-маркеров признаков продуктивности сельскохозяйственных животных. Зоотехния, 2010, 1: 8-10.

<sup>1</sup>ГНУ Всероссийский НИИ животноводства  
Россельхозакадемии,  
142132 Московская обл., Подольский р-н, пос. Дубровицы,  
e-mail: n\_zinovieva@mail.ru;

<sup>2</sup>ГНУ Всероссийский НИИ охотничьего  
хозяйства и звероводства им. Б.М. Житкова  
Россельхозакадемии,  
610000 г. Киров, ВНИИОЗ,  
e-mail: vniioz@mail.ru;

<sup>3</sup>Veterinärmedizinische Universität  
(Институт животноводства и генетики  
Ветеринарно-медицинского университета),  
Veterinaerplatz 1, A-1210, Vienna, Austria,  
e-mail: gottfried.brem@agrobiogen.de

Поступила в редакцию  
19 января 2013 года

## POLYMORPHISM OF GENES ASSOCIATED WITH THE QUANTITATIVE TRAIT LOCI IN WILD BOAR (*Sus scrofa* L., 1758) IN RUSSIA

N.A. Zinovieva<sup>1</sup>, O.V. Kostyunina<sup>1</sup>, A.V. Ekonomov<sup>2</sup>, M.S. Shevnina<sup>2</sup>,  
I.A. Doms kij<sup>2</sup>, E.A. Glad yr<sup>1</sup>, G. Brem<sup>3</sup>

### Summary

The genetic studies of wild boar (*Sus scrofa* L., 1758) ( $n = 89$ ) inhabited in Russia using ten DNA markers *RYRI*, *ESR*, *FSHB*, *NCOA1*, *BF*, *MUC4*, *IGF2*, *MC4R*, *POU1F1*, *ECRF18/FUT1* were carried out. The assignment of individuals to different territorial clusters was performed based on similarity coefficient (Q) calculation for  $k = 2$ . The average Q values in individuals inhabited on European part and in East Siberian was  $0.984 \pm 0.005$  and in Irkutsk region and Khabarovsk Kraj was  $0.994 \pm 0.001$ . Five DNA markers (*RYRI*, *ESR*, *MUC4*, *IGF2*, *ECRF18/FUT1*) were monomorphic in both of territorial clusters. The non-significant differences in allele frequencies of *FSHB*, *BF*, *MC4R* and *POU1F1* genes between individuals assigned to the west and east clusters were observed:  $p_A = 0.462$  and  $0.250$ ,  $p_A = 0.020$  and  $0.143$ ,  $p_A = 0.013$  and  $0.000$ ,  $p_C = 0.000$  and  $0.111$ , respectively. The studied territorial groups significantly differed in *NCOA1* allele frequencies:  $p_{A1} = 0.938$  in wild boars assigned to the west cluster and  $p_{A1} = 0,000$  to the east cluster.