



Проблема сохранения генофондов доместицированных животных

Ю.А. Столповский , И.А. Захаров-Гезехус

Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

Рассмотрены принципы и методы сохранения генофондов пород домашних животных. В мире под угрозой исчезновения находится 17 % пород. Аргументами в пользу сохранения локальных пород являются: 1) экономические факторы, такие как изменения требований к качеству пищевых продуктов, изменения гигиенических и климатических условий (новые виды болезней, вакцины, изменения внешней среды), необходимость сохранить резерв для успешной селекции, возможность использовать местные породы в трудных экологических условиях; 2) научные факторы, в частности возможность изучения генофонда местных пород для реконструкции эволюции доместицированного вида (изучение локальных пород может вскрыть механизмы процессов эволюции, онтогенеза, поведения, естественного и искусственного отбора); 3) культурно-исторические факторы, связанные с тем, что аборигенные породы служат живыми памятниками традиционной культуры населения. Разведение породы возможно только при сохранении ее внутри- и межпородного генетического разнообразия, которое можно выявить с помощью различных молекулярно-генетических методов. Приведены примеры использования новых генетических технологий при сохранении локальных пород двух доместицированных видов: овец (*Ovis aries*) и крупного рогатого скота (*Bos taurus*). С помощью ISSR-фingerprintинга (Inter Simple Sequence Repeats) получены данные, которые позволили определить коэффициент генетической оригинальности, проанализировать популяционную структуру, определить сходства и различия, провести идентификацию и оценку консолидированности, чистопородности и генеалогических связей генофондов пород (внутрипородных групп). Среди пород одного вида или внутри одной породы можно выделять древние или наиболее отделившиеся от «протогенофонда» группы животных и, соответственно, использовать эти данные в селекционной стратегии, направленной на сохранение форм животных, приближенных к предковой форме. Применение различных ДНК-маркеров, методов геномной и геномной селекции в природоохранной и частной генетике доместицированных видов предоставляет возможность получить данные о генетическом потенциале (ценности, оригинальности) породы, что важно для научного обоснования ее сохранения.

Ключевые слова: генофонд; порода; инбредная депрессия; эффективная численность; генетическое разнообразие; ДНК-анализ; овцы; крупный рогатый скот.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Столповский Ю.А., Захаров-Гезехус И.А. Проблема сохранения генофондов доместицированных животных. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2017;21(4):477-486. DOI 10.18699/VJ17.266

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Stolpovskiy Yu.A., Zakharov-Gezekhus I.A. The problem of conservation of gene pools of domesticated animals. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii=Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2017;21(4):477-486. DOI 10.18699/VJ17.266

Received 06.04.2017
Accepted for publication 27.04.2017
© AUTHORS, 2017

 e-mail: stolpovsky@mail.ru

The problem of conservation of gene pools of domesticated animals

Yu.A. Stolpovskiy , I.A. Zakharov-Gezekhus

Vavilov Institute of General Genetics RAS, Moscow, Russia

In the paper the principles and methods of gene pools preservation of domestic animals breeds are explored. Currently 17 % of world species are under threat of extinction. The arguments in favor of preserving local breeds are: 1) economic factors, such as moderation of quality requirements for food products, moderation of hygienic and climatic conditions (new types of diseases, vaccines, changes in the external environment), necessity to keep a reserve for successful breeding, opportunity to use local breeds in harsh environmental conditions; 2) scientific factors, in particular, possibility of studying the gene pool of local breeds in order to reconstruct the evolution of domesticated species (exploring local breeds can reveal the mechanisms of the evolutionary processes, ontogeny, behavior patterns, natural and artificial selection); 3) cultural and historical factors related to the fact that native breeds represent living monuments of traditional culture of the population. Breeding is only possible while maintaining its inter- and interbreed genetic diversity, which can be identified through using various molecular genetic techniques. The examples of using new genetic technologies while preserving local breeds of two domesticated species are provided: sheep (*Ovis aries*) and cattle (*Bos taurus*). Using ISSR-fingerprinting (Inter Simple Sequence Repeats) some data were obtained, allowing us to determine the coefficient of genetic originality, to analyze population structure, to uncover similarities and differences, to identify and evaluate consolidation, breed purity and genealogical relationships of gene pools in a number of species (inbreeding). Within breeds of the same species or within one species it is possible to spot the ancient or the most estranged from the "protogene pool" groups of animals and, thus, to use these data in the breeding strategy aimed at the preservation of animal forms close to the ancestral form. Using various DNA markers, methods of genomic and genetic breeding in nature conservation and genetic selection of domesticated species provides an opportunity to obtain data on the genetic potential (value, originality) of the breed, which is important for scientific justification of its preservation.

Key words: gene pool; breed; inbreeding depression; effective population size; genetic diversity; DNA analysis; sheep; cattle.

Неразумная деятельность человека привела к тому, что возникла угроза уничтожения биосферы. По подсчетам специалистов, в среднем каждый день исчезает 50 видов разных организмов, а каждую неделю – примерно две породы одомашненных животных. С 2005 по 2014 г. доля пород животных, находящихся под угрозой исчезновения, увеличилась с 15 до 17 %. Еще 58 % пород классифицированы как породы с неопределенным статусом, поскольку актуальных данных о них не представлено (ФАО, 2015). Вызванный антропогенным воздействием темп вымирания превышает все известные из палеонтологической летописи случаи (Алтухов и др., 1996; ФАО, 2007; ФАО, 2009).

Чтобы как-то предотвратить исчезновение видов и сохранить возможность их восстановления в будущем, когда для этого будут более благоприятные условия, стали выдвигаться проекты создания хранилищ семян растений, соматических и половых клеток различных животных и растений (Вепринцев, Ротт, 1991; ФАО, 2000, 2007; Александян, 2002). Сегодня генные банки (преимущественно растений) имеются в 140 странах мира, наиболее известен международный арктический генбанк на Шпицбергене. Если генетические ресурсы растений относительно легко сохраняются в генбанках, то задача сохранения биологического разнообразия животного мира значительно более сложная.

Особая проблема – сохранение пород сельскохозяйственных видов. К одной из загадок популяционной и общей генетики относится то, что количество основных domesticiрованных видов животных и растений не увеличилось за время существования аграрной цивилизации. То есть основой современной аграрной цивилизации являются виды, которые были domesticiрованы 12–8 тыс. лет назад. Несмотря на непрерывные попытки ввести в domestикацию дополнительные виды, увеличить их ограниченное количество не удастся. Среди растений вклад в сельское хозяйство вносят в основном, как и 12 тыс. лет назад, два вида – пшеница и рис, среди животных – шесть основных видов: крупный рогатый скот, куры, свиньи, козы, овцы, лошади (Diamond, 2002).

Обеднение генофондов domesticiрованных видов при исчезновении пород и сортов сопоставимо с деградацией почв, заменить которые будет нечем. С этой позиции очевидна необходимость сохранения генофондов domesticiрованных видов как основы аграрной цивилизации. И если задача пополнения генофондов культурных растений близкородственными дикими видами в центрах происхождения теоретически возможна, хотя бы на основе коллекций, начало сбора которых было положено экспедициями Н.И. Вавилова, то обогащение видовых генофондов сельскохозяйственных видов животных дикими близкородственными формами практически исключено, прежде всего из-за исчезновения большинства диких предковых видов. Именно этим обстоятельством объясняется возросший во всем мире интерес к генофондам местных (аборигенных) пород животных, поскольку исчезновение породы свидетельствует об обеднении генофонда соответствующего вида.

В настоящее время во всем мире ведется активная работа по каталогизации, изучению и сбережению местных

пород. Наиболее полная информация собрана в базах данных DAD-IS (<http://dad.fao.org>) и DAGRIS (<http://dagris.ilri.cgiar.org/>) и в так называемом Мировом листе ожидания (Word Watch List) (ФАО, 2000).

Из общего числа 8774 пород, принадлежащих к 38 видам domesticiрованных животных, идентифицированных в информационной системе по разнообразию домашних животных ФАО, 7718 пород являются локальными (представлены только в одной стране), а 1056 пород относятся к трансграничным (ФАО, 2015).

Деятельность ФАО в области сохранения пород сельскохозяйственных животных активизировалась в 1988 г., когда был создан первый компьютерный банк данных по генетическим ресурсам животных, расположенный в Ганновере (ФРГ) (ЕААР/ФАО, 1991). Именно ФАО при ООН взяло на себя функции по координации деятельности по сохранению и консервации породного разнообразия в мире. В 1992 г. международной продовольственной и сельскохозяйственной организацией принята глобальная программа по управлению генетическими ресурсами животных (GAGRMP). В нее входят проекты RARE (Исследование генетических ресурсов животных), где впервые глобально используются результаты изучения маркеров ДНК-микросателлитов; MoDAD (Поддержка генетического разнообразия животных), основной целью которого было создание базы данных для управления биоразнообразием как внутри отдельной страны, так и в мире в целом, и др. ФАО издает целый ряд документов и книг, в частности бюллетень Animal Genetic Resources Information, посвященный генетическим ресурсам (<http://www.fao.org/docrep/013/q7420t/q7420t00.pdf>).

Во многих странах существуют и активно работают различные национальные государственные или общественные организации, занятые сохранением редких пород. Из организаций государственного уровня наиболее известны Европейский региональный координационный центр, который воплощает в жизнь стратегию ФАО по генетическим ресурсам животных (<http://www.rfp-europe.org/>, на данный момент председательствующая страна – Греция), а также европейские структуры, связанные с проектом по сохранению биоразнообразия домашних животных GlobalDiv – AgriGenRes (<http://www.globaldiv.eu>). Среди негосударственных структур по сохранению местных домашних пород и сортов растений в ЕС представлены: SAVE Foundation (Safeguard for Agricultural Varieties in Europe, <http://www.save-foundation.net>), под руководством этого фонда существует сеть ELBARN (European Livestock Breeds Ark and Rescue Net), которая специализируется на сохранении *in situ* генетических ресурсов животных (<http://www.elbarn.net>), в Италии сохранением редких пород занимается ассоциация Associazione R.A.R.E. (Razze Autotonea Rischiodi Estinzione, <http://www.associazionerare.it>), в Испании – Euskal Abereak (<http://www.euskalabereak>), в Германии – GEN (<http://www.g-e-h.de/index.htm>), в США – Livestock Conservancy (<http://www.albc-usa.org/>), в России – Союз животноводов, Центр по сохранению агро-ресурсов при фонде «Культуры мира» Генриха Боровика.

Следует отметить, что в бывшем Советском Союзе по инициативе академика Д.К. Беляева в 1980-х годах на территории Горного Алтая (Шебалинский район, с. Черга)

было организовано экспериментальное хозяйство, где планировалось собрать коллекцию редких пород животных и перспективных для доместикации и гибридизации представителей диких видов. Идея Дмитрия Константиновича по созданию центра акклиматизации, доместикации и гибридизации и сохранению генетических ресурсов животных и растений *in situ* намного опередила свое время. На данный момент в Российской Федерации биологического полигона такого масштаба по исследованию и сохранению агробиоразнообразия нет.

Теоретические основы сохранения исчезающих пород

Теоретические основы сохранения исчезающих пород еще недостаточно разработаны. При их обсуждении в большинстве случаев приходится ссылаться на рекомендации, которые были сделаны специалистами, занимающимися проблемой спасения редких и исчезающих диких видов.

Необходимость сохранения генетической изменчивости локальных пород обсуждалась многими учеными (Иванов, 1924; Серебровский, 1928; Лобашев, 1954; Maijala, 1970; Глембоцкий, Копыловская, 1972; Красота и др., 1983; Simon, 1984; Беляев, 1987; Bodo, 1989; Sambraus, 1990; Моисеева и др., 1992, 2006; Эрнст и др., 1994; Глазко и др., 1996; Tisdell, 2003; Ерохин А., Ерохин С., 2004; Марзанов, 2007; Паронян, Прохоренко, 2008; Паронян, 2016; и др.). На основании вышеперечисленных, а также других, в том числе наших, работ аргументы в пользу сохранения локальных пород подразделяются на три категории.

1. Экономико-биологические аргументы

- 1.1. Требования к сельскохозяйственным животным изменчивы и непредсказуемы. Это касается прежде всего продуктов животноводства (изменение вкусов, знаний о полезности пищи; новые виды продуктов, одежды, взаимодействие цен на продукты; мода и т. д.), изменений в управлении (новые методы, механизация) и обеспечении животноводства (регуляция зоогигиенических параметров, новые виды кормов), изменений гигиенических и климатических условий (новые виды болезней, вакцины, изменения внешней среды). Поэтому практически любая локальная порода – это резерв наследственных качеств, использование которых пока не представляется необходимым, но может понадобиться в будущем.
- 1.2. Сохранение местных пород в качестве резервных популяций необходимо для преодоления возможных селекционных лимитов. Такие признаки аборигенных пород, как адаптивность к местным внешним условиям, высокое качество продукции, отсутствие затруднений при родах, крепкая конституция, высокая плодовитость и большая продолжительность жизни, могут найти применение при создании животных, способных приспособиться к новым биотехнологиям. Чем дольше популяция животных подвергается экстремальному средовому воздействию, тем выше вероятность эволюции адаптивных признаков. Необходимо подчеркнуть, что до сих пор, несмотря на известное глубокое разрушение аграрных ландшафтов, остается недостаточно оцененной ландшафто-

образующая роль разных пород сельскохозяйственных видов млекопитающих.

- 1.3. Местные породы животных могут быть использованы в скрещиваниях с целью создания новых форм, лучше приспособленных к экстремальным условиям среды.
- 1.4. В определенных эко- и агросистемах выгодно разведение в чистоте уже адаптированного к данным условиям генетического материала. FAO приводит достаточно примеров, когда сохранение местных пород становится выгодным делом (FAO, 2007–2010). Например, прибыль от сохранения и устойчивого использования свиней породы бокс кекен в Мексике составила 490 тыс. долл. США в год (Drucker, Anderson, 2004).
- 1.5. Возможна прямая интродукция локальных пород в зоны, где экономически невыгодно разведение высокопродуктивных пород.
- 1.6. Экономическое значение информационных технологий в приложении к местным породам можно оценить по растущим масштабам объема рынка генетических ресурсов сельскохозяйственных животных. Информационные базы, как и биологические коллекции (банки), становятся ключевыми при поддержке агробиоразнообразия.

2. Научные аргументы

- 2.1. Исследования в области генетики, физиологии, биохимии, иммунологии, морфологии и т. д. требуют сохранения и поддержания большего разнообразия среди животных. При этом важно сохранить не только уникальные гены (аллели), но и генные комбинации.
- 2.2. Изучение локальных пород может вскрыть механизмы процессов эволюции, онтогенеза, поведения, естественного и искусственного отбора. Сравнительные исследования полных геномов или отдельных участков ДНК локальных пород с древним происхождением могут внести свой вклад в реконструкцию истории расселения человека по Земле и формирования популяций, представляющих разные этнические группы, культурных и технологических инноваций, в том числе появления и распространения животноводства в мире.

3. Культурно-исторические аргументы

- 3.1. Местные породы справедливо рассматриваются как элементы культурного наследия, ценные памятники природы и культуры. Они могут быть использованы как исследовательский и учебный материал в истории и этнографии.
- 3.2. Практически во всех регионах мира местные породы используются при проведении спортивных, развлекательных и иных общественных мероприятий, например во время брачных и религиозных церемоний, и как элементы досуга.

При сохранении как видов, так и пород трудно (прежде всего по экономическим причинам) поддерживать высокую численность популяции. Малые же численности ведут по меньшей мере к трем опасным последствиям: снижению аллельного разнообразия, утрата полиморфизма популяции в результате генетического дрейфа; инбредная

депрессия, снижающая жизнеспособность и в перспективе могущая привести к вымиранию популяции; возрастание угрозы вымирания в силу внешних случайных причин: эпизоотий, стихийных бедствий, неправильных административных решений. Во всех случаях приходится искать разумный компромисс между возможной экономической пользой сохранения популяции (вида, породы) и затратами на поддержание ее необходимой численности.

При обсуждении вопроса о достаточной численности принято различать общую численность популяции (N) и ее эффективную численность (N_e) т. е. объем той ее части, которая передает генофонд следующему поколению (Франклин, 1983; Алтухов и др., 2004). Если действительная численность популяции N , а дисперсия числа потомков на каждую размножающуюся пару σ^2 , то $N_e = 4N / (2 + \sigma^2)$. В большинстве случаев N_e оказывается меньше N .

Наряду с другими параметрами, эффективная численность зависит и от соотношения размножающихся самцов и самок. Если N_m – число самцов, дающих гаметы для следующего поколения, а N_f – соответствующее число самок, то $1/N_e = 1/4N_m + 1/4N_f$ и $N_e = 4N_m N_f / (N_m + N_f)$. Отсюда размножающаяся популяция, в которой 90 активных самок и лишь 10 активных самцов, имеет эффективную численность не 100, а всего лишь 36 (Франклин, 1983).

Ограничение численности популяции ведет к потере генетического разнообразия, выражающейся, в частности, в потере аллелей. Модельные расчеты (Алтухов и др., 2004) показали, что в популяциях размером в 500 особей на протяжении 200–800 поколений утрачивается с высокой вероятностью одна из каждой пары аллелей (исходное состояние – полиморфизм по двум аллелям при их равной частоте).

Попытки сохранить породу в малом числе особей (например, 10), вероятнее всего, окажутся безуспешными. Разделение популяции на несколько субпопуляций (т. е. содержание породы не в одном, а в нескольких генофондных хозяйствах или фермах) не только снизит вероятность ее потери от случайных причин, но и обеспечит сохранение внутривидового генетического разнообразия.

В работе (Dragunescu, 1975) определены конкретные максимальные величины для генофондных популяций, которые, по мнению автора, обеспечат сохранение в равновесии основного набора генов и их аллелей в поколениях. Для кур – 50 петухов и 250 кур (панмиктическая популяция), для КРС – 10 быков и 50–60 коров (плановые скрещивания), для свиней – 25 хряков и 100 свиноматок (плановые скрещивания), для овец – 12–25 баранов и 100–250 овцематок (плановые скрещивания). Анализ, проведенный в теоретическом отделе Института цитологии и генетики СО РАН (личн. сообщ. Э.А. Гинзбурга), показывает несколько иные цифры для КРС – 10–15 быков и 100 коров, что согласуется с данными (Brem et al., 1984), при этом вполне допустима степень инбридинга 1 % на поколение.

В настоящее время в Правилах для управления малыми популяциями в статусе риска (Guidelines for management of small populations at risk) для сохранения *in vitro* рекомендуется сбор семени для замораживания по крайней мере от 25 самцов на породу и использование семени

от этих самцов на еще 25 самках на породу для получения замороженных эмбрионов (FAO, 1998).

Следует отметить одно важное обстоятельство: при разделении популяций на субпопуляции, обменивающиеся единичными особями, устойчивость системы существенно повышается, и потери аллелей в те же сроки, что и в случае не подразделенной популяции, не происходит.

Вероятность выживания небольших популяций в изоляции была предсказана на основе математической модели (Senner, 1980). Резюмируя результаты этой работы, можно прийти к следующему: угасание популяции тесно связано с изменением плодовитости самок. Жизнеспособность и плодовитость уменьшаются при инбридинге, несбалансированные скрещивания уменьшают эффективный размер популяции, и, наконец, вероятность выживания прямо пропорциональна сохранению численности.

Селекционеры заметили, что плодовитость в малых популяциях начинает падать, когда коэффициент инбридинга достигает 0.5 или 0.6. Отсюда следует полезное эмпирическое правило. Используя вышеуказанные числа как условные пороговые значения, мы можем оценить число поколений, по истечении которых для групп с различным N_e существенно увеличится риск вымирания от генетических причин. Придавая f значение 0.6 (или 0.5) в формуле $\Delta f = 1 - (1 - 1/2N_e)^2$ и решая это уравнение для числа поколений t , мы получим, что в первом приближении $t = 1.5N_e$. Другими словами, ожидаемое число поколений до подхода к порогу вымирания примерно в 1.5 раза больше эффективной численности популяции (Сулей, 1983).

Сегодня разработаны требования и схемы генетического управления, которые могут быть применены в популяциях с ограниченной генеалогической информацией (Oldenbroek, 1999; Raoul et al., 2004; FAO, 2016). Для того чтобы сохранить генофонд вида животных, разработано правило «50/500», которое предусматривает, что для кратковременного сохранения генетической изменчивости популяция должна иметь не менее 50 размножающихся особей, а чтобы обеспечить ее существование на длительное время, необходимо иметь не менее 500 особей, что соответствует общей численности популяции в 1–3 тыс. особей (Паронян, Прохоренко, 2008; Паронян, 2016).

Новые генетические технологии при сохранении исчезающих пород

В течение последнего десятилетия в сфере генетических исследований domesticированных видов животных фундаментально изменился подход к оценке генетического потенциала животных, их продуктивности, жизнеспособности, здоровья. Практически во всех ведущих экономиках и научных генетико-селекционных школах мира сформировалось новое направление, так называемая геномная селекция. За последние годы по этой теме опубликован обширный материал (Meuwissen et al., 2001, 2016; Эрнст, Зиновьева, 2008; Смарагдов, 2013; Юдин и др., 2015; и др.).

Была реализована идея маркерных генов-сигналей, сформулированная в первой половине XX в. Если изначально могли использоваться десятки (не более сотни) генетических (иммуногенетических, биохимических) маркеров, то при появлении геномной селекции – сотни тысяч

маркеров. При этом надо оговориться, что используемые SNP или однонуклеотидные замены – это нуклеотидные маркеры с неизвестной функцией. Мировой тренд – переход от существующих SNP-чипов на чипы, включающие каузальные SNP, что приведет к точности и упрощению методов геномной селекции. Геномная селекция в нашей стране пока не получила должного развития. Однако не стоит забывать и о генной селекции, выявлении и использовании генов продуктивности, иммунитета, жизнеспособности, адаптивности и т. п.

С нашей точки зрения, именно с помощью молекулярно-генетических методов исследования генофондов можно будет получить научное обоснование для сохранения той или иной породы, так как появится возможность определить ее генетическую ценность и потенциал. При полногеномном секвенировании представителей различных пород наиболее интересно сравнить транснациональные (коммерческие) и региональные (аборигенные) породы с древнейшим происхождением.

Информация, получаемая в результате секвенирования целого генома и объединяемая с SNP технологиями, существенно ускоряет поиск генов, дифференцирующих генофонды доместичированных и близкородственных диких видов (Сулимова, 2004). Такие различия получили название «рописи доместикации» – signature of domestication. Картирование главных генов количественных признаков (quantitative trait loci – QTL) для идентификации участков хромосом, влияющих на признаки-мишени действия этих генов, для выявления присутствия генов-кандидатов, локализованных в этих районах, и исследования рисунка их экспрессии и их функции у разных видов – все это вместе взятое дает возможность идентифицировать ключевые гены и вскрывать комплексность физиологической регуляции признаков – мишеней искусственного отбора (FAO, 2007).

Учитывая отсутствие для большинства пород надежных фенотипических и QTL-данных, наиболее быстрой и рентабельной оценкой генетического разнообразия является генотипирование полиморфных участков ДНК одновременно по многим локусам. Такой подход оказывается полезным при исследованиях происхождения доместичированных видов, их последующей миграции, так же как и для получения информации по эволюционным взаимосвязям между их различными группами, и установления географических областей скрещиваний между популяциями, имеющими разное генетическое происхождение. Другая важная роль молекулярно-генетического маркирования заключается в том, что именно такой подход позволяет рассчитывать величину эффективной численности (N_e) популяции у сельскохозяйственных видов животных. Традиционные подходы к получению надежных оценок N_e для селекционируемых популяций основываются на родословных или на переписи. Однако часто необходимые данные об изменчивости репродуктивного успеха и интервала между поколениями отсутствуют, особенно для местных пород. Поэтому применение полилокусного генотипирования может упростить такую оценку.

Приведем примеры использования данных, полученных с помощью ISSR-фингерпринтинга (Inter Simple Sequence Repeats), при исследовании генетической структуры по-

пуляций пород овец (*Ovis aries*) и крупного рогатого скота (*Bos taurus*).

Анализ межмикросателлитного полиморфизма тувинских овец из 18 хозяйств Республики Тыва позволил определить генеалогические связи и параметры генетического разнообразия внутри популяций и породы в целом. Были также выявлены генофондные хозяйства, в которых содержатся овцы, наиболее близкие к исходному аборигенному типу (Столповский и др., 2010а).

Для изучения специфичности и оригинальности генофонда романовской породы овец использовался коэффициент генетической оригинальности (Потокина, Александрова, 2008). По его значениям исследуемые особи были разделены на пять классов в зависимости от частоты встречаемости ISSR-фрагмента. В генофонде романовских овец были выделены наиболее оригинальные или редкие, а также типичные генотипы (Нестерук и др., 2016) (рис. 1).

Использование мультилокусного межмикросателлитного анализа (ISSR-PCR) совместно с методом к-классификации популяционных структур (программа Structure v.2.2) стало основой ряда тестов молекулярно-генетической экспертизы и исследования генофонда доместичированных видов животных. Были показаны возможности анализа популяционной структуры доместичированных видов, сходства и различия генофондов пород (внутрипородных групп), их идентификации и наглядной оценки консолидированности, чистопородности и генеалогических связей (Столповский и др., 2010б). Так, в исследовании генофонда романовских овец пяти ведущих генофондных хозяйств полученные значения функции правдоподобия $L(K)$ (–6219.83) со стандартным отклонением $sdL(K) = 8.82$ и параметра дельта K (90.72) (Evanno et al., 2005) свидетельствуют о том, что наиболее оптимальным числом кластеров в данной группе овец является $K = 2$ (рис. 2). Этот факт позволил предположить участие двух исходных прародительских популяций в формировании породы (общей исследованной выборки) и оценить их вклад в формирование генофонда романовских овец (Нестерук и др., 2016).

Данные о популяционных частотах фрагментов амплификации ПЦР использовали для анализа филогении 19 пород крупного рогатого скота. Согласно принципу популяционных систем, сформулированному в работах Ю.П. Алтухова и Ю.Г. Рычкова, генетическое разнообразие современных популяций соответствует некоторой предковой «прапопуляции», генофонд которой можно условно назвать протогенофондом (Алтухов, Рычков, 1970; Рычков, 1973; Алтухов и др., 2004). Тогда же для реконструкции протогенофонда было предложено использовать усреднение частот генов по всем изученным современным популяциям. С помощью этого метода среди пород одного вида или внутри одной породы можно выделять древние или наиболее отделившиеся от протогенофонда группы животных и использовать эти данные в селекционной стратегии, направленной на сохранение форм животных, приближенных к предковой форме (Столповский и др., 2013) (рис. 3).

Данные, получаемые при молекулярно-генетическом анализе, могут служить четкими критериями для опреде-

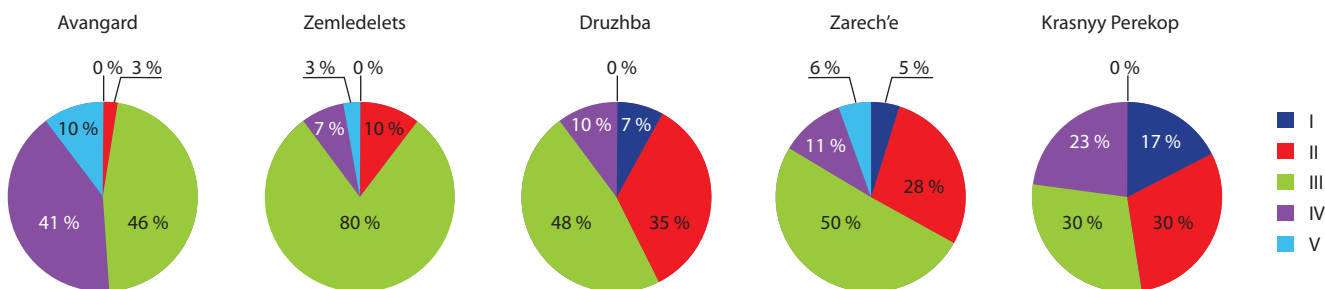


Fig. 1. The proportions of representatives of classes I through V in the structure of the Romanov sheep populations studied in Tyva (Nesteruk et al., 2016).

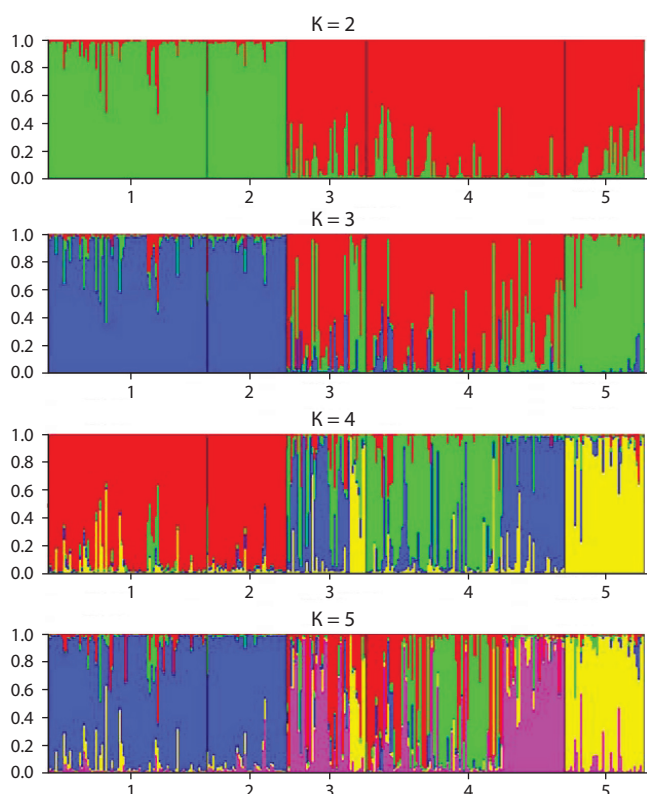


Fig. 2. Clustering of Romanov sheep populations on the basis of population-statistical processing of ISSR fingerprinting data with the STRUCTURE program v.2.3.4.

Farms: 1, Avangard; 2, Zemledelets; 3, Zarech'e; 4, Druzhba; 5, Krasnyy Perekop (our results).

ления следующих фундаментальных параметров (свойств) селекционных достижений в области животноводства: породной принадлежности, отличимости и стабильности породы, что крайне важно при регистрации новых пород, чистопородном разведении или сохранении породы как резерва определенных наследственных качеств.

Приоритеты и критерии при сохранении пород

Очевидно, что сохранение большого числа исчезающих пород – задача дорогостоящая и требующая систематического проведения объемной научно-исследовательской работы. Поэтому первым этапом должна быть разработка

системы генетического мониторинга, которая позволила бы осуществить каталогизацию генетических ресурсов, создание и анализ компьютерных банков данных. Именно на этой основе возможно принятие научно и экономически обоснованных решений о том, что, в какой форме, объеме и в какой последовательности необходимо сохранять.

Помимо поддержания редких пород в генофондных хозяйствах и коллекционных фермах, следует указать и на другие возможности сохранения их генофондов. Например, учреждение зон традиционного аграрного хозяйствования с соответствующей экономической компенсацией, которая предотвратила бы внедрение здесь новых пород животных (и, вероятно, сортов растений). Сохранение традиционного уклада сельского хозяйства можно было бы сочетать с производством экологически чистой (органической) продукции и продвижением качественных продуктов на рынок. Большинство локальных пород играют основную роль в социальной и культурной жизни сельского населения, включая религиозные и цивилизационные традиции, фольклор, гастрономию, специализированные продукты и ремесленное производство (Gandini, Villa, 2003). Вероятно, возможности для создания таких зон остались только в отдельных преимущественно предгорных и горных районах Российской Федерации, например в Улаганском районе Республики Алтай, в Туве, Бурятии, кавказских республиках и т. д.

Представленный выше обзор литературы по популяционно-генетическим основам сохранения генетических ресурсов животных позволяет сделать следующие выводы относительно принципов, приоритетов, критериев для сохранения пород (агробιοразнообразия или «культурного» биоразнообразия).

Принципы сохранения агробιοразнообразия основаны на сохранении ценных фенотипических и генотипических характеристик породы (стад). Управление любой сохраняемой популяцией животных должно происходить с использованием методов, ведущих к уменьшению до минимума потери плодовитости и жизнеспособности.

Повышенная приспособленность, как правило, ассоциируется с гетерозиготностью. При достаточно жестком искусственном отборе обнаружены неслучайные связи между мультилокусной индивидуальной гетерозиготностью и значениями адаптивных количественных признаков. Эффективность отбора при непрерывной селекции в замкнутых стадах постепенно снижается и в дальнейшем может исчезнуть совсем. Чтобы избежать этого негативно-

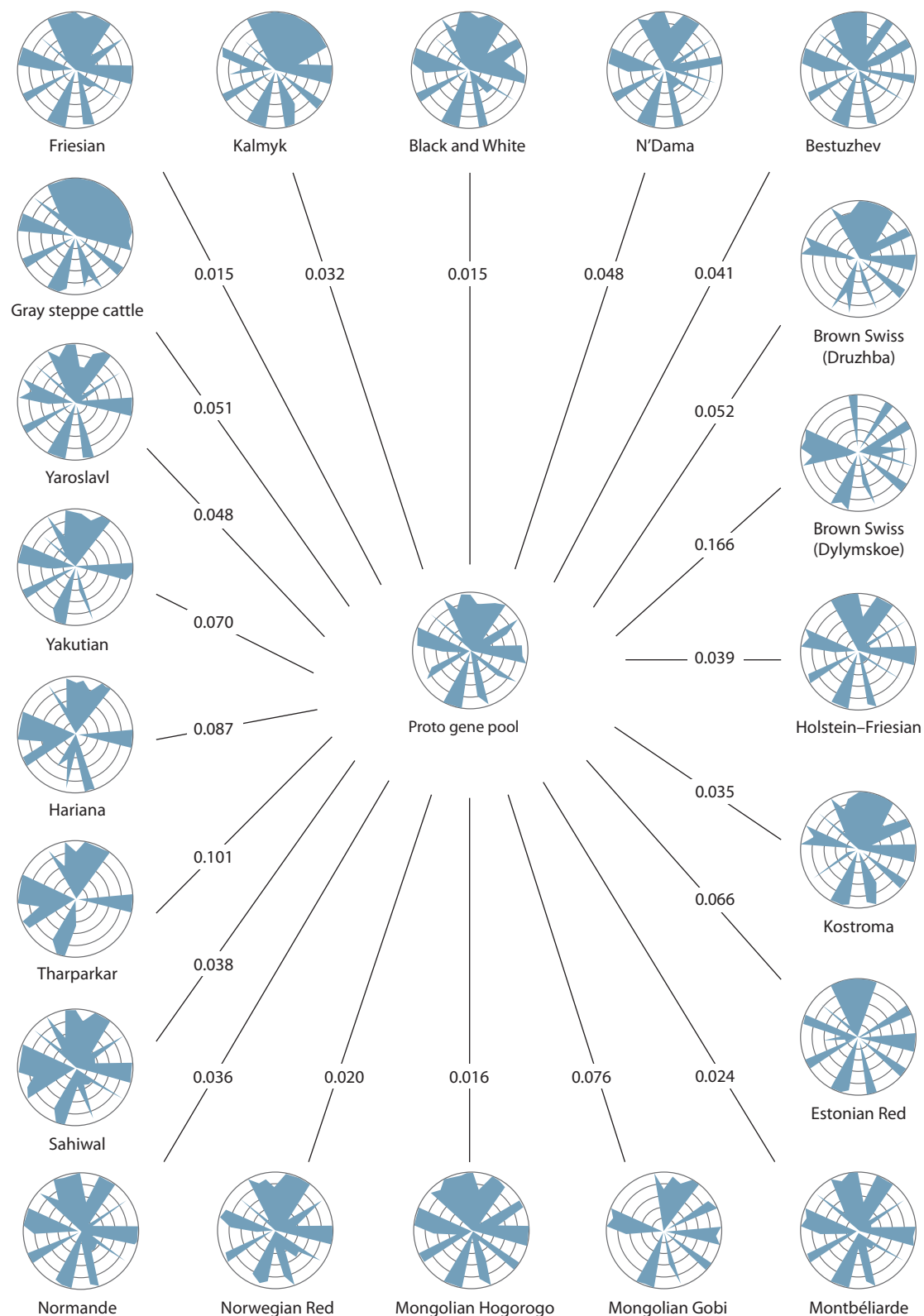


Fig. 3. Polygons constructed from ISSR-fingerprinting data on 19 cattle breeds (Stolpovskiy et al., 2013).

го процесса, сохраняемую популяцию принято разделять на несколько сублиний (субпопуляций) и в дальнейшем использовать определенную систему подбора. Когда субпопуляции одновременно испытывают воздействия дрей-

фа и миграции генов, существенно повышается устойчивость породы (вида) в целом, увеличивается вероятность сохранения внутривидового генетического разнообразия и, что немаловажно, значительно уменьшается

степень инбридинга – больше, чем при обычном ротационном скрещивании в одной свободной популяции.

Анализ генетической структуры внутри породы базируется на определении и оценке основных параметров генетического мониторинга, таких как частота генотипов и аллелей в исследованных локусах для каждой популяции или породы. Сравнительный анализ пород обычно включает подсчет генетических дистанций между породами на основе данных по частоте аллелей набора генов, затем проводится исследование взаимоотношений и генетического отличия. Уровень филогенетического различия или мера эволюционного расстояния между породами определяется числом общих и альтернативных генетических признаков. Например, порода, которая характеризуется большим эволюционным расстоянием от других пород, несет в себе и большое различие по генетическим признакам и тем самым представляет несомненный интерес для сохранения.

Данные, полученные при изучении молекулярной изменчивости, позволяют оценить эффективный размер популяции для отдельной породы (что особенно актуально для исчезающей породы), а также скорость изменения различных характеристик генофонда под давлением агроэкологических и антропогенных факторов. Используя полиморфизм, например, по микросателлитным ДНК, определяют пропорции смешивания у породы. Этот параметр отражает в исследуемой популяции генетический вклад двух и более родительских или исходных популяций. С помощью кластерного анализа определяют консолидацию породы, относительную степень ее чистопородности (Negri et al., 2007).

Подводя итог рассмотрению некоторых принципов и возможностей при сохранении породного разнообразия, следует отметить, что генетическая оценка породных ресурсов, сохранение их как элемента общего биоразнообразия планеты крайне важны для нынешнего и будущего потенциала сельского хозяйства России. Пока нереально оценить (с генетической точки зрения) все существующие породы всех видов домашних животных. Однако, используя принципы и методы сохранения «культурного» биоразнообразия, общее представление о генетической изменчивости в каждом виде и о размере относительного вклада каждой породы возможно получить, по крайней мере приблизительную оценку.

На первом месте для сохранения должны быть породы, которым грозит опасность вымирания. Даже если уникальность этих пород в дальнейшем не получит четкого зоотехнического и молекулярно-генетического подтверждения, необходимо предпринять действия по их охране. Возможно, при этом сохраняются некоторые породы, не являющиеся уникальными, но это лишь малая плата за гарантию от полной потери пород, находящихся в опасности исчезновения.

При сохранении породы в качестве потенциального материала для последующего использования в селекции очень важно сберечь весь ее генофонд, поскольку в большинстве случаев (на данном этапе развития науки) нам неизвестно, какими именно генами или их сочетаниями определяются хозяйственно важные свойства породы. В связи с этим наиболее актуальным становится вопрос,

что мы хотим сберечь при сохранении локальных пород. На первый взгляд, кажется достаточным сохранение «рубашек» – специфической морфологии, характеризующей отдельные породы, и в некоторых случаях – особенностей поведения животных. Однако даже в этом случае оказывается необходимым поддерживать полиморфизм внутри породы, прежде всего для того, чтобы обеспечить ее жизнеспособность, которая является условием стабильности при размножении. Порода отличается определенными статистическими параметрами, связанными с экстерьером, продуктивностью, специфическими сочетаниями фенотипических и генотипических показателей, свойствами адаптивности и жизнеспособности.

Вопрос о том, что может являться элементарной единицей для программ по сохранению генофондов, достаточно давно рассматривается в популяционной генетике. Традиционно предполагают, что такой единицей может быть аллель – определенный вариант состояния участка геномной ДНК, во всех генах, которых насчитывается около 25 000 (т. е. в функциональных районах ДНК), меняющих развитие животных и их продуктивность. Задача, которая может быть определена программой по сохранению, заключается в поддержании разнообразия аллелей, имеющихся в настоящее время у вида (породы), а также в поддержании нормального накопления и потенциального сохранения вновь возникающих мутантных аллелей – источника постоянной эволюции животных и их усовершенствования. В то же время очевидно, что признаки продуктивности животных в большинстве случаев должны рассматриваться как результат взаимодействия аллелей разных генов. Более того, процесс развития генетических ресурсов включает создание новых аллельных комбинаций, которые поддерживают определенный желательный уровень признаков продуктивности животных и их адаптации (FAO, 2007). С вышеуказанной точки зрения, единицей сохранения может быть сама порода, соответствующая классическому определению, – группа животных, объединенная общим происхождением, условиями формирования, в которой единообразие по комплексу морфофизиологических признаков (соответствие стандарту породы) поддерживается искусственным отбором.

В настоящее время 112 стран заявили, что они уже подготовили или планируют подготовить национальные стратегии и планы действий в области генетических ресурсов животных (<http://www.fao.org/publications/e-book-collection/en/>). Одним из существенных препятствий в развитии отечественного животноводства является отсутствие современной доктрины по сохранению собственных ресурсов, тесно увязанной с доктриной продовольственной безопасности государства, культурой, традиционным животноводством и биоорганическим сельским хозяйством. Отсутствует общепризнанная научным сообществом стратегия управления, а также надежные методы объективной характеристики потенциала domestцированных видов, пород и имеющихся кросс-бредных животных.

Сложившаяся в российском животноводстве ситуация требует развития методов по определению приоритетности для разведения и сохранения пород, надежной идентификации генетических особенностей отдельных

групп животных, правил (закона) по сохранению, использованию и управлению «генофондными» породами.

Acknowledgments

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 16-54-44060.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Aleksanyan S.M. Agrobioraznoobrazie i geopolitika [Agrobiodiversity and geopolitics]. St. Petersburg: GNTc RF VIR Publ., 2002. (in Russian)
- Altukhov Yu.P., Korochkin L.I., Rychkov Yu.G. Hereditary biochemical diversity in the processes of evolution and individual development. *Genetika = Genetics* (Moscow). 1996;32(6):1450-1473. (in Russian)
- Altukhov Yu.P., Rychkov Yu.G. Population systems and their structural components. Genetic stability and variability. *Zhurnal obshchey biologii = Journal of General Biology*. 1970;31(5):507-526. (in Russian)
- Altukhov Yu.P., Salmenkova E.A., Kurbatova O.L., Pobedonostseva E.Yu., Politov D.V., Evsyukov A.N., Zhukova O.V., Zakharov I.A., Moiseeva I.G., Stolpovsky Yu.A., Pukhal'skiy V.A., Pomortsev A.A., Upel'niek V.P., Kalabushkin B.A. Dinamika populyatsionnykh genofondov zhivotnykh [Dynamics of populational animal gene pools]. *Dinamika populyatsionnykh genofondov pri antropogennykh vozdeystviyakh*. Pod red. Yu.P. Altukhova [Yu.P. Altukhov (Ed.) The Dynamics of Populational Gene Pools under Human Actions]. Moscow: Nauka Publ., 2004;110-294. (in Russian)
- Belyayev D.K. Problems and prospects for research on animal genetics and breeding. *Genetika = Genetics* (Moscow). 1987;23(6):937-946. (in Russian)
- Bodo I. Methods and experiences with *in situ* preservation of farm animals. Department of Animal Husbandry Univ. of Veterinary Sci. Budapest, 1989.
- Brem G., Graf F., Krausslich H. Genetic and economic differences among methods of gene conservation in farm animals. *Livestock Production Sci.* 1984;11(1):65-68.
- Diamond J. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature*. 2002;418:700-707.
- Dragunesku C. Ratiunsi procedure penru conservarea materialului de genetic la animalele domestic. *Rev. Cresteria Anim.* 1975;3:25-30.
- Drucker A.G., Anderson S. Economic analysis of animal genetic resources and the use of rural appraisal methods: Lesson from South-East Mexico. *Int. J. Agricult. Sustainability*. 2004;2:77-97.
- EAAP/FAO. Survey of Livestock populations global animal genetic data bank EAAP. Hanover: EAAP/FAO, 1991.
- Ernst L.K., Dmitriev N.G., Paronyan I.A. Geneticheskie resursy sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh v Rossii i sopedelnykh stranakh [Farm Animal Genetic Resources in Russia and Neighboring Countries]. St. Petersburg: All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding Farm Animals Publ., 1994. (in Russian)
- Ernst L.K., Zinovieva N.A. Biologicheskie problemy zhivotnovodstva v XXI veke [Biological issues of breeding in the 21st century]. Moscow: Russian Academy of Agricultural Sciences Publ., 2008. (in Russian)
- Erokhin A.L., Erokhin S.A. Ovtsevodstvo [Sheep Breeding]. Moscow: Moscow State University Publ., 2004. (in Russian)
- Evanno G., Regnaut S., Goud J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecology*. 2005;14:2611-2620.
- FAO. Primary guidelines for development of national farm animal genetic resources management plans. Rome, 1998.
- FAO. The state of Food Security in the World. Rome: FAO, 2000.
- FAO. Marker assisted selection current status and future perspectives in crops, livestock, forestry and fish. Ed. El. Guimaraes, J. Ruane, A. Sonnino, B. Scherf, J.D. Dargie. Rome, 2007.
- FAO. Polozhenie del v oblasti prodovol'stviya i sel'skogo khozyaystva. Zhivotnovodstvo: v poiskakh balansa [Situation in the field of food and agriculture. Breeding: in search of the balance]. Rome: FAO, 2009. (in Russian)
- FAO. Vtoroy doklad o sostoyanii mirovykh geneticheskikh resursov zhivotnykh dlya proizvodstva prodovol'stviya i vedeniya sel'skogo khozyaystva. Kratkoe izlozhenie [The second report on the state of the world's animal genetic resources for food and agriculture. Summary]. Rome: FAO, 2015. (in Russian)
- FAO. Development of integrated multipurpose animal recording systems. Rome, 2016.
- Franklin J.R. Evolutionary changes in small populations. Soule M.E., Wilcox B.A. (Eds) Conservation Biology. Sunderland: Sinauer Associates Inc. Publishers, 1980;135-149 (Russ. ed.: M. Suley, B. Uilokos (Eds). *Biologiya okhrany prirody*. Perevod S.A. Ostroumova; Pod red. A.V. Yablokova. Moscow: Mir Publ., 1983;160-176). (in Russian)
- Gandini G.C., Villa E. Analysis of the cultural value of local livestock breeds: a methodology. *J. Anim. Breed. Genet.* 2003;120(1):1-11.
- Glazko V.I., Stolpovsky Yu.A., Tarasyuk S.I., Bukarov N.G., Popov N.A. Genetic structure of Pinzgau breed in the Carpathian region. *Genetika = Genetics* (Moscow). 1996;32(5):676-684. (in Russian)
- Glembotsky Y.L., Kopylovskaya G.Ya. The problems of saving farm animals gene pools. *Zhivotnovodstvo = Farm Animals*. 1972;6:59-61. (in Russian)
- Ivanov M.F. Porody sel'skokhozyaystvennoy ptitsy [Fowl breeds]. Moscow: Ekon. Zhizn Publ., 1924. (in Russian)
- Krasota V.F., Lobanov V.T., Dzhaparidze T.G. Razvedenie sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh [Breeding of Farm Animals]. Moscow: Kolos Publ., 1983. (in Russian)
- Lobashev M.E. Ocherki po istorii russkogo zhivotnovodstva. Otv. red. I.F. Shulzhenko [I.F. Shulzhenko (Exec. ed.) Essays on the history of Russian animal breeding]. Moscow, Leningrad, 1954. (in Russian)
- Majjala K. Need and methods of gene conservation in animal breeding. *Ann. Genet. Sel. Anim.* 1970;2:403-415.
- Marzanov N.S. Genetic resources of animals are a national concern. *Izvestiya Timiryazevskoy sel'skokhozyaystvennoy akademii = Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy*. 2007;5:135-141. (in Russian)
- Meuwissen T., Hayes B., Goddard M. Genomic selection: A paradigm shift in animal breeding. *Anim. Front.* 2016;6(1):6-14.
- Meuwissen T.H.E., Hayes B.J., Goddard M.E. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. *Genetics*. 2001;157:1819-1829.
- Moiseeva I.G. Otechestvennye породы кур [Russian breeds of chickens]. Moiseeva I.G., Zakharov I.A., Mitichashvili R.S., Tikhonov V.N. Geneticheskie resursy sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: redkie i ischezayushchie otechestvennye породы. Otv. red. I.A. Zakharov [I.A. Zakharov (Ed.) Farm Animal Genetic Resources: Rare and Endangered Russian Breeds]. Moscow: Nauka Publ., 1992;11-112. (in Russian)
- Moiseeva I.G., Ukhonov S.V., Stolpovsky Yu.A., Sulimova G.E., Kashtanov S.N. Genofondy sel'skokhozyaystvennykh zhivotnykh: geneticheskie resursy zhivotnovodstva Rossii. Otv. red. I.A. Zakharov [I.A. Zakharov (Ed.) Gene Pools of Farm Animals: Genetic Resources for Russian Animal Breeding]. Moscow: Nauka Publ., 2006;467. (in Russian)
- Negrini R., Nijman I.J., Milanese E., Moazami-Goudarzi K., Williams J.L., Erhardt G., Dunner S., Rodellar C., Valentini A., Bradley D.G., Olsaker I., Kantanen J., Ajmone-Marsan P., Lenstra J.A. Differentiation of European cattle by AFLP fingerprinting. *Anim. Genet.* 2007;38:60-66.
- Nesteruk L.V., Makarova N.N., Evsyukov A.N., Svisheva G.R., Lhasaranov B.B., Stolpovsky Yu.A. Comparative evaluation of sheep

- breeds gene pool based on ISSR analysis. *Genetika = Genetics* (Moscow). 2016;3:1-11. (in Russian)
- Oldenbroek J.K. Genebanks and the Conservation of Farm Animal Genetic Resources. Lelystad, the Netherlands: DLO Institute for Animal Science and Health, 1999.
- Paronyan I.A. *Geneticheskie resursy selskokhozyaystvennykh zhivotnykh* [Genetic Pool of Russian Domesticated Animals]. St. Petersburg: Prospekt Nauki Publ., 2016. (in Russian)
- Paronyan I.A., Prokhorenko P.N. *Genofond domashnikh zhivotnykh Rossii* [Genetic Pool of Russian Domesticated Animals]. St. Petersburg–Moscow–Krasnodar: Lan Publ., 2008. (in Russian)
- Potokina E.K., Aleksandrova T.G. Coefficients of genetic originality of *Vicia sativa* L. species collection on the results of molecular marking. *Genetika = Genetics* (Moscow). 2008;44(11):1508-1516. (in Russian)
- Raoul J., Danchin-Burge C., de Rochambeau H., Verrier E. Salvage a software to manage a population with few pedigrees. Book of Abstracts of the 55th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, Bled, Slovenia, 5–9 Sept. 2004. Ed. Y. van der Honing. Wageningen, the Netherlands: Wageningen Acad. Publ., 2004.
- Rychkov Yu.G. The system of ancient human isolates of North Asia in the highlight of population stability and evolution. *Voprosy antropologii = Problems of Anthropology*. 1973;44:3-22 (in Russian)
- Samraus H.H. Warum sollten alte und gefährdete Nutztierassen erhalten werden. *Bongo*. 1990;16:17-32.
- Senner J. Inbreeding depression and the survival of zoo populations. *Conservation Biology*. Ed. V. Soule, B. Wilcox. Massachusetts, 1980;151-169.
- Serebrovsky A.S. *Genogeografiya i genofond selskokhozyaystvennykh zhivotnykh* [Farm animals genogeography and gene pools]. *Nauchnoe slovo = Scientific Word* (Moscow). 1928;9:3-22. (in Russian)
- Simon D.L. Conservation of animal genetic resources – A review. *Livestock Product. Sci.* 1984;11(1):23-36.
- Smaragdov M.G. Genomic selection of milk cattle: the practical application over five years. *Genetika = Genetics* (Moscow). 2013;49(11):1251-1260. (in Russian)
- Stolpovskiy Yu.A., Evsyukov A.N., Sulimova G.E. Cattle breeds genomic diversity on intermicrosatellite polymorphism markers. *Genetika = Genetics* (Moscow). 2013;49(5):641-648. (in Russian)
- Stolpovskiy Yu.A., Kol N.V., Evsyukov A.N., Ruzina M.N., Shimiyit L.V., Sulimova G.E. Analysis of the genetic structure of Tuvian short-fat-tailed sheep populations with the use of the ISSR-PCR method. *Genetika = Genetics* (Moscow). 2010a;46(12):1660-1670. (in Russian)
- Stolpovskiy Yu.A., Lazebny O.E., Stolpovskiy K.Yu., Sulimova G.E. The use of the ISSR-PCR method for identifying domesticated animal breeds and species, inferring their population structures, and assessing gene pool similarity. *Genetika = Genetics* (Moscow). 2010b;46(6):1-9. (in Russian)
- Soulé M.E. Thresholds for survival: maintaining fitness and evolutionary potential. Soulé M.E., Wilcox B.A. (Eds) *Conservation Biology*. Sunderland: Sinauer Associates Inc. Publishers, 1980;151-159 (Russ. ed.: M. Suley, B. Uilkoks (Eds). *Biologiya okhrany prirody*. Perevod S.A. Ostroumova; Pod red. A.V. Yablokova. Moscow: Mir Publ., 1983;177-197).
- Sulimova G.E. DNA markers in genetic studies: types of markers, their properties and applications. *Uspekhi sovremennoy biologii = Advances in Current Biology*. 2004;124(3):260-271. (in Russian)
- Tisdell C. Socioeconomic causes of loss of animal genetic diversity: analysis and assessment. *Ecol. Economics*. 2003;45(3):365-376.
- Veprintsev B.N., Rott N.N. *Strategiya sokhraneniya zhivotnogo i rastitelnogo mira Zemli* [Strategy for the preservation of the flora and fauna of the Earth]. *Konservatsiya geneticheskikh resursov* [Conservation of Genetic Resources]. Pushchino, 1991;5-18. (in Russian)
- Yudin N.S., Lukyanov K.I., Voevoda M.I., Kolchanov N.A. Application of reproductive technologies to the improvement of dairy cattle genomic selection. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2015;19(3):277-285. (in Russian)