

## ИНТРОДУКЦИЯ КАРИОТИПИЧЕСКОГО ПОЛИМОРФИЗМА ( $2n = 36, 37, 38$ ) В ГЕНОМ ДОМАШНИХ СВИНЕЙ *SUS SCROFA DOMESTICA*

В.Н. Тихонов<sup>1, 2</sup>, М.Л. Кочнева<sup>2</sup>, В.Е. Бобович<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Учреждение Российской академии наук, Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия, e-mail: Tikhonov@bionet.nsc.ru;

<sup>2</sup> Новосибирский государственный аграрный университет, Новосибирск, Россия, e-mail: mlkochneva@rambler.ru

На начальной стадии (40 лет назад) выведения миниатюрных лабораторных сибирских свиней (минисибс) методами отдаленной гибридизации домашних ландрасских и вьетнамских пород с дикими среднеазиатскими кабаном (*Sus scrofa nigripes*) были получены животные с кариотипом  $2n = 36$ , не встречающимся ни в одной породе домашних свиней. Изменения по числу хромосом в популяции минисибсов явились результатом ассоциации хромосом 16 и 17 в Робертсоновскую транслокацию Rb 16; 17.

В настоящее время после 20 поколений разведения лабораторных минисибсов устойчиво сохраняется интродуцированная «дикая» транслокация. Таким образом, популяция минисибсов характеризуется кариотипическим полиморфизмом, не известным у пород домашних свиней, что может быть использовано как генетический маркер для изучения функциональной значимости отдельных структурных локусов.

**Ключевые слова:** свиньи домашние и дикие, кариотипический полиморфизм, Робертсоновская транслокация, минисибсы.

Робертсоновская транслокация Rb 16; 17 в кариотипе свиней была впервые обнаружена в начале 1970-х гг. при выведении лабораторных свиней (минисибс) в результате скрещивания кабана среднеазиатского подвида *Sus scrofa nigripes* со свиньями пород шведский ландрас и вьетнамская масковая (рис. 1). Тогда же были изучены и описаны нами цитогенетические особенности этой транслокации (Тихонов и др., 1972, 1975). В дальнейшем были установлены отсутствие негативных последствий этой транслокации для репродуктивности свиней (Тихонов, Трошина, 1977) и возможность одновременного присутствия этой транслокации в другой сходной структурной перестройке Rb 15; 17, которая была обнаружена и изучена позднее (Tikhonov, Troshina, 1978). Транслокация Rb 16; 17 была обнаружена также в популяции скороспелой мясной породы СМ-1, куда она попала при выведении ландрас-кабаньих гибридов (Тихонов, Жучаев, 2008). Транслокация

Rb 16; 17 была обнаружена и в популяции лабораторных отечественных свиней, называемых «светлогорские», создание которых было достигнуто на основе племенной группы минисибсов, переданных из ИЦиГ СО АН СССР в АМН СССР в 1972 г. (Капанадзе, Юшкова, 2009; Тихонов, 2010).

В настоящее время лабораторные свиньи с маркерной транслокацией Rb 16; 17 составляют значительную группу племенных животных, разводимых на территории России. В 2010 г. после 20-летнего перерыва при цитогенетическом изучении было обнаружено большое число животных с этой транслокацией в питомнике ИЦиГ СО РАН.

Кариотипические особенности диких предковых форм лабораторных мини-свиней, как и всех других домашних свиней, изучены недостаточно. В наиболее авторитетном учебном пособии для университетов России В.Е. Соколова «Систематика млекопитающих» (1979) указыва-



**Рис. 1.** Кабан среднеазиатского подвида *Sus scrofa nigripes*, использованный в качестве одной из родительских форм минисибсов и микросибсов для укрепления конституции и интродукции кариотипического полиморфизма по транслокации Rb 16; 17 (фото В.Н. Тихонова).

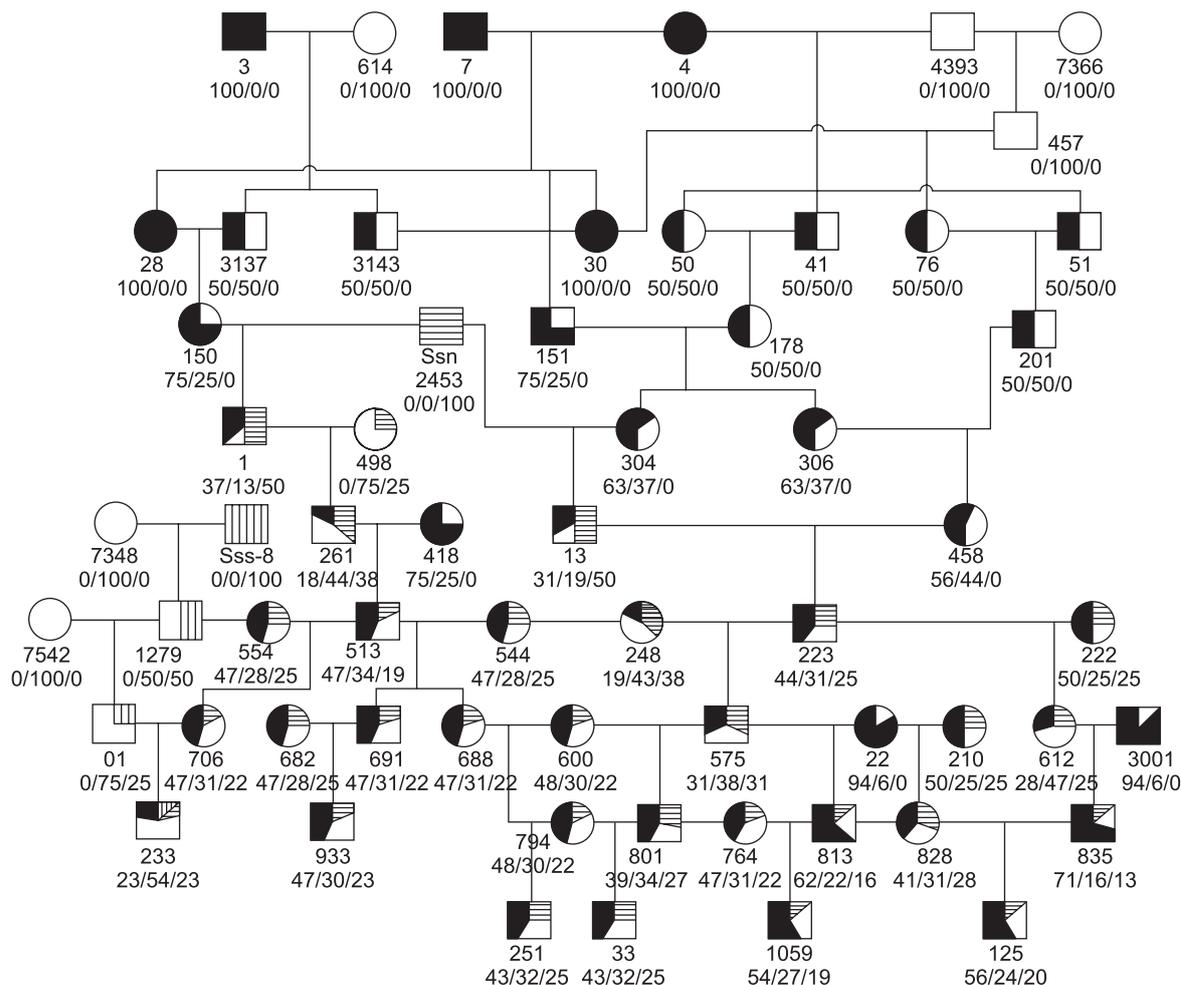
ется только, что «диплоидное число хромосом у кабана 36» (С. 340). В монографии «Свиные» А.А. Данилкина (2002) приводится очень сомнительная, заведомо завышенная, численность 36-хромосомных кабанов Белоруссии – 66,6 % и одновременно утверждается, что у «среднеазиатских кабанов (в Киргизии) кариотип  $2n = 38$  не найден» (С. 41). При этом автор цитирует несколько работ (Тихонов, Трошина, 1971, 1972, 1974, 1978), где показано, что у подавляющего большинства кабанов кариотип одинаков и по характеру дифференциальной окраски полностью соответствует кариотипу домашних свиней ( $2n = 38$ ). В действительности же только у очень редких кабанов полиморфизм обусловлен робертсоновским слиянием акроцентрических хромосом 15-й и 17-й – у европейских и 16-й и 17-й – у азиатских форм.

Гибринологическое исследование диких и домашних свиней позволило впервые обнаружить и изучить наследование робертсоновской транслокации хромосомы Rb 16; 17 (рис. 2). Она была найдена у *S. s. nigripes* и изучена разными методами окрашивания при участии А.И. Трошиной (Тихонов и др., 1972; Tikhonov, Troshina, 1978), а в дальнейшем – и совместно с И. Густавссоном (Troshina *et al.*, 1985). Оказалось, что найденная aberrантная субметацентрическая хромосома

является функциональным генетическим аналогом двух акроцентрических хромосом диких и домашних свиней: 16-й и 17-й. При этом было установлено, что найденная ранее у европейского кабана робертсоновская транслокация в действительности является Rb 15; 17, т. е. образовалась центрическим слиянием акроцентрических хромосом 15 и 17, с которыми она является генетическим и функциональным гомологом.

Путем межподвидовой гибридизации в первые при разведении сельскохозяйственных животных были целенаправленно изменены обычно жестко стабилизированные параметры кариотипа по числу и форме хромосом. В кариотипе новых лабораторных свиней оказалось по 36 хромосом, в том числе 4 пары акроцентрических, тогда как у всех домашних свиней диплоидное число составляет 38 хромосом, включая 6 пар акроцентрических.

Некоторые трудности в получении жизнеспособного потомства наблюдали только в первых поколениях. Всего в первых 8 поколениях были изучены более 2 тыс. гибридов домашних свиней с дикими кабаном, имеющими транслоцированные мутантные хромосомы. Цитогенетически было исследовано более 1,5 тыс. потомков, полученных при гибридизации среднеазиатского и центральноевропейского



**Рис. 2.** Генеалогическая схема выведения первых поколений минисисгов с хромосомным полиморфизмом (Rb 15; 17 и Rb 16; 17).

Обозначения: белые квадрат и кружок обозначают соответственно хряков и маток с обычным кариотипом  $2n = 38$ ; горизонтальной штриховкой обозначены животные с робертсоновской транслокацией Rb 16; 17 (из генома *Sus scrofa nigripes* – среднеазиатский кабан); вертикальной штриховкой – Rb 15; 17 (из генома *Sus scrofa scrofa* – центральноевропейский кабан). Квадраты и кружки, заштрихованные наполовину, обозначают гетерозиготность по соответствующей транслокации. Черные квадраты и кружки – исходные вьетнамская порода и дикие кабаны; три цифры под номером животного, показанные дробью, обозначают долю (в процентах) генома предков: вьетнамской и ландрасской пород и диких кабанов.

кабана с домашними свиньями европейского и азиатского происхождения. Жизнеспособность в пренатальный период была высокой: в среднем от каждой матки родилось 12,4 поросенка, в том числе 0,8 мертворожденных. Однако постнатальная жизнеспособность помесей  $F_1$  с кариотипом  $2n = 37$  (матки породы ландрас) резко снизилась: 77 % гибридов погибли в первые два месяца жизни. При возвратном скрещивании гибридных хряков  $F_1$  и  $F_2$ , имеющих кариотип  $2n = 37$ , с матками этой же породы наблюдалась нормальная жизнеспособность гибридов  $F_{1в}$  и  $F_{2в}$  как в пренатальный период, так и после

рождения, независимо от того, имели ли они 38 или 37 хромосом.

При разведении «в себе» свиней с кариотипом  $2n = 37$  были получены гибриды с  $2n = 38$ , 37 и 36, которые фактически имели одинаковую жизнеспособность. В дальнейшем при получении гибридов  $F_2$ – $F_8$  от последовательного скрещивания домашних свиней с двумя подвидами кабана и этих гибридов между собой было получено большое число животных, имевших одновременно два вида транслоцированных хромосом.

Цитологическое изучение мейоза у гибридов показало, что конъюгация хромосом протекает

нормально благодаря образованию тривалента из субметацентрической хромосомы Rb 16; 17 кабана и двух акроцентрических хромосом 16 или Rb 15; 17 домашних свиней.

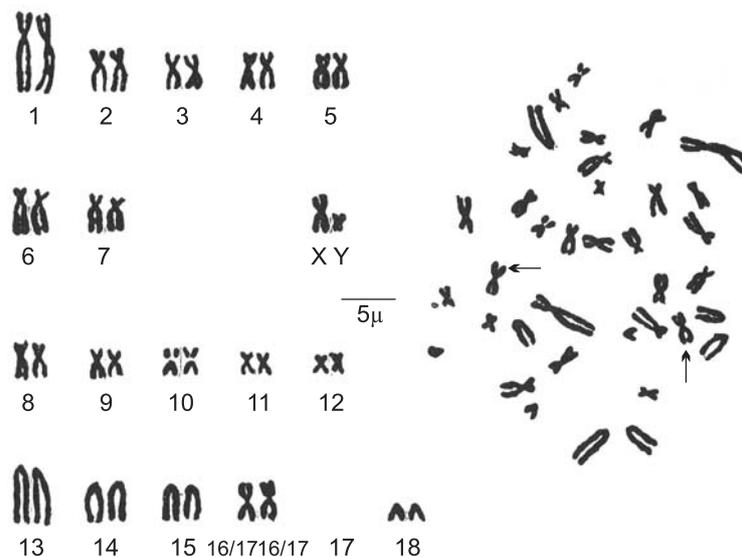
Процедуру замещения хромосом у свиней проводили следующим образом. Для замещения хромосом 16 и 17 сначала скрещивали домашних свиней со среднеазиатским кабаном, гомозиготным по хромосомам Rb 16; 17, которые являются генетическим эквивалентом указанных двух хромосом (рис. 3). Затем возвратным скрещиванием «адаптировали» донорскую хромосому к экологическому фону генома реципиента. После этого полностью вытесняли оставшиеся гомологи хромосом 16 и 17 из генома реципиента. Полное замещение этих двух пар хромосом донорскими хромосомами Rb 16; 17 осуществляли путем скрещивания гетерозиготных по соответствующим транслокациям гибридов между собой. Присутствие донорской транслоцированной хромосомы в кариотипе реципиента легко распознается цитологически даже без дифференциальной окраски по числу хромосом ( $2n = 37$  или  $36$ ). Реципиенты с кариотипом  $2n = 36$  оказываются носителями одной гомологичной пары новых для них субметацентрических хромосом, заменяющих сразу 4 хромосомы.

В цитогенетическом аспекте кариотипический полиморфизм по диплоидному числу хромосом у минисибсов, обусловленный робертсоновскими транслокациями, – это уникальная особенность, которая отличает их не только от

всех других лабораторных мини-свиней, но и от всех других породных популяций. В разных странах мира сейчас разводят более 500 культурных и аборигенных популяций, у которых независимо от породной принадлежности диплоидное число хромосом  $2n = 38$ . Однако у минисибсов спустя 35 лет после их выведения в результате особенностей их происхождения и селекции на первом этапе их выведения, который проводили под цитогенетическим мониторингом, возник кариотипический полиморфизм, и число хромосом варьирует от 38 до 36 (табл. 1). Подобный внутривидовой кариотипический полиморфизм по числу хромосом остается малоизученным и очень редким явлением у сельскохозяйственных животных.

Относительное число животных с аномальными кариотипами  $2n = 37$  и  $2n = 36$  к началу разведения популяции минисибсов «в себе» значительно увеличилось и достигло соответственно 48 и 31 %. При этом следует учитывать то, что уменьшение числа хромосом в кариотипе мини-свиней обусловлено двумя центрическими робертсоновскими транслокациями: слиянием в одних случаях 17-й хромосомы с 15-й, а в других – с 16-й хромосомой. А у некоторых животных с кариотипом  $2n = 36$  оказалось одновременное присутствие обеих транслокаций (Rb 15; 17 и Rb 16; 17).

Описанная цитогенетическая особенность позволила начать разработку на минисибсах методов селекции с учетом маркерных хромосом, в частности направленных на получение



**Рис. 3.** Метафазные хромосомы и кариотип гибридного хряка минисибса, гомозиготного по хромосоме Rb 16; 17 (в отличие от домашних свиней он имеет не 38, а 36 хромосом).

Стрелками указана робертсоновская транслокация (слияние хромосом Rb 16 и Rb 17).

Таблица 1

Наследование числа хромосом при разных типах скрещивания в популяции минисибсов

Тип скрещивания (кариотипы отца × матери)	n	Количество потомков с числом хромосом:					
		2n = 38		2n = 37		2n = 36	
		абс.	%	абс.	%	абс.	%
38 × 38	64	64	100	–	–	–	–
38 × 37	243	130	53,5	113	46,5	–	–
38 × 36	344	–	–	344	100	–	–
37 × 37	67	20	29,8	30	44,8	17	25,6
37 × 36	57	–	–	31	54,4	26	45,6
36 × 36	119	–	–	–	–	119	100

моноспецифических антител, а также ди- и полихромосомного гетерозиса. Кроме того, это дает возможность изучить генетическую функцию идентифицированных отдельных хромосом в формировании животных реципиентов с теми или другими полезными признаками. Все основные племенные самцы к концу первого десятилетия после выведения уже имели кариотип  $2n = 36$ , а большинство маток – кариотипы  $2n = 37$  и  $2n = 36$ . Следует отметить, что, несмотря на интродукцию и поддержание кариотипического полиморфизма многоплодие животных не понизилось, а постепенно повышалось. Кариотипический полиморфизм позволил провести первые картирования идентифицированных локусов на 15-й и 17-й хромосомах свиней и начать разработку

селекционных методов с использованием хромосомных маркеров.

При изучении хромосомного полиморфизма популяции минисибсов спустя 30 лет после начала их выведения и селекции, когда было исследовано 512 животных, число животных с кариотипом  $2n = 38$  было только 104 (20,4%), с кариотипом  $2n = 36$  – 160 голов (31,2%), а гетерозиготных с кариотипом  $2n = 37$  почти половина: 248 голов (48,4%). При переходе к разведению нового поколения микросибсов в июле 2010 г. число животных с робертсоновской транслокацией во всех 4 линиях в популяции сохраняется на этом же уровне, т. е. значительно превышает число особей с нормальным для обычных домашних свиней кариотипом  $2n = 38$  (рис. 4, 5).



Рис. 4. Микросибс № 19 с 36-хромосомным гомозиготным кариотипом по транслокации Rb 16; 17. Родился от хряка № 143 и матки № 212. Живая масса в возрасте 7 мес. – 10 кг, в 12 мес. – 28 кг.

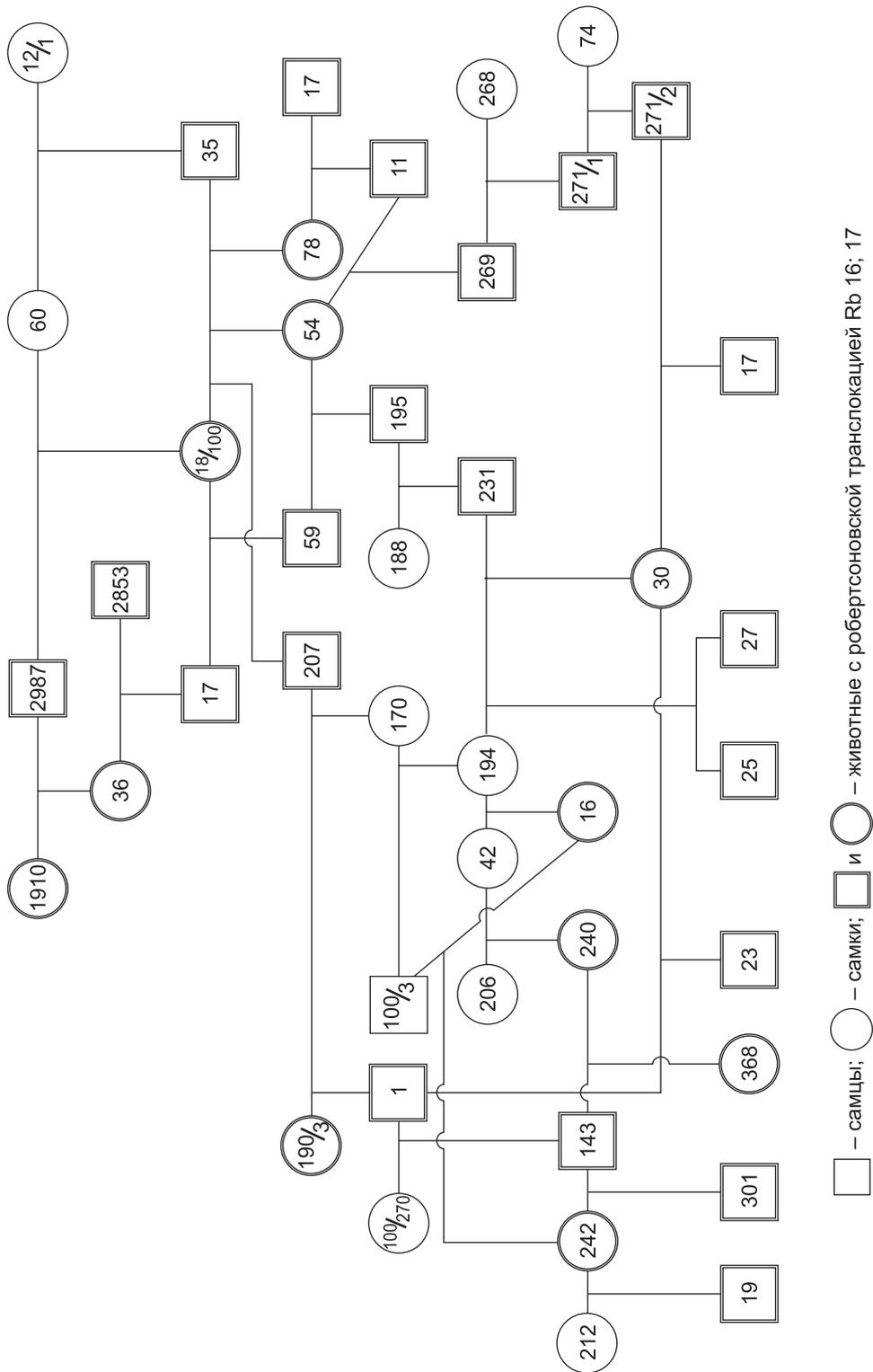


Рис. 5. Генеалогическая схема наследования робертсоновской транслокации Rb 16; 17 у микросибсов, родившихся в 1990–2009 гг.

## Литература

- Данилкин А.А. Свиные (Suidae). Млекопитающие России и сопредельных регионов. М.: ГЕОС, 2002. 309 с.
- Капанадзе Г.Д., Юшкова Л.Г. Цитогенетические параметры мини-свиней светлогорской популяции // Тез. докл. междунар. науч.-практ. конф., посвященной 60-летию зоотехнической науки Беларуси (22–23 октября 2009 г.). Жодино, 2009. С. 68–69.
- Соколов В.Е. Систематика млекопитающих. М.: Высш. шк., 1979. 528 с.
- Тихонов В.Н. Лабораторные мини-свиньи, генетика и медико-биологическое использование. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010. 304 с.
- Тихонов В.Н., Жучаев К.В. Микроэволюционная теория и практика породообразования свиней. Новосибирск: СП «Наука» РАН, 2008. 394 с.
- Тихонов В.Н., Трошина А.И. Кариотип некоторых пород свиней в связи с их филогенезом // С.-х. биология. 1971. № 6. С. 874–881.
- Тихонов В.Н., Трошина А.И. Идентификация хромосом и их перестроек в кариотипах подвидов дикого кабана *Sus scrofa scrofa* методом дифференциальной окраски // Докл. АН СССР. 1974. Т. 214. № 4. С. 932–935.
- Тихонов В.Н., Трошина А.И. Плодовитость и жизнеспособность трех поколений гибридов, полученных при скрещивании домашних и диких свиней с разным числом хромосом // Генетика. 1977. № 4. С. 627–636.
- Тихонов В.Н., Трошина А.И. Получение гибридов диких и домашних свиней с двумя хромосомными транслокациями // Докл. АН СССР. 1978. Т. 219. № 3. С. 713–716.
- Тихонов В.Н., Трошина А.И., Горелов И.Г. Цитогенетическое исследование дальневосточных и среднеазиатских диких кабанов и домашних свиней // Изв. СО АН СССР. 1972. № 10. Вып. 2. С. 87–93.
- Troshina A., Gustavsson I., Tikhonov V. Investigation of two centric fusion translocations of wild pigs by different banding techniques // Hereditas. 1985. V. 102. № 1. P. 155–158.
- Tikhonov V.N., Troshina A.I. Chromosome translocation in the karyotypes of wild boar *Sus scrofa* L. of the European and the Asian Areas of USSR // Theor. Appl. Genet. 1975. V. 45. P. 304–308.
- Tikhonov V.N., Troshina A.I. Introduction of two chromosomal translocations of *Sus scrofa nigripes* and *S. s. scrofa* into genome of *S. s. domestica* // Theor. Appl. Genet. 1978. V. 53. P. 261–264.

## INTRODUCTION OF KARYOTYPE POLYMORPHISM ( $2n = 36; 37; 38$ ) INTO THE GENOME OF DOMESTIC PIGS *SUS SCROFA DOMESTICA*

V.N. Tikhonov<sup>1,2</sup>, M.L. Kochneva<sup>2</sup>, V.E. Bobovich<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cytology and Genetics, SB RAS, Novosibirsk, Russia, e-mail: Tikhonov@bionet.nsc.ru;

<sup>2</sup> Novosibirsk State Agrarian University, Novosibirsk, Russia, e-mail: mlkochneva@rambler.ru

### Summary

At the initial stage (40 years ago) of the origination of Siberian laboratory pigs (Minisibs) by distant hybridization of Landraces and Vietnamese pigs with wild Mid-Asian pigs (*Sus scrofa nigripes*) animals with the  $2n = 36$  karyotype not known in any *Sus scrofa domestica* variety were obtained. The change in the number of chromosomes in this pigs population resulted from the association of two pairs of the chromosomes 16 and 17 involved into translocation rob(16; 17).

At present, stable maintenance of the introduced «wild pig» translocation has been observed since Minisibs generation 20. The Minisibs population is characterized by karyotypic polymorphism unknown in domestic pigs. About half of the miniature pig population (48,4 % and 31,2 %) possess the «wild» translocation ( $2n = 37$  and  $36$ , respectively), and the rest of the population (20,4 %) are «domestic» homozygous animals ( $2n = 38$ ). The animals possessing the introduced translocation are similar to those with the normal karyotype in reproductive indices. The karyotypic polymorphism can be a genetic marker. It can also be used in studies of the functional roles of particular loci.

**Key words:** domestic and wild pigs, karyotypic polymorphism, Rob translocation, Minisibs.