

АССОЦИАЦИИ ГРУПП КРОВИ С КОЛИЧЕСТВЕННЫМИ ПРИЗНАКАМИ. MAS И ГЕНОМНАЯ СЕЛЕКЦИЯ

В.М. Кузнецов

Зональный научно-исследовательский институт Северо-Востока
им. Н.В. Рудницкого, Россельхозакадемия, Киров, Россия
e-mail: vm_kuznetsov@e-mail.ru

Несбывшаяся надежда. В 1923 году в журнале «Genetics» была опубликована статья К. Sax'a [46], в которой автор привел данные по ассоциации размера семени фасоли (количественный признак) и пигментации семенной кожуры (качественный признак). Впервые было показано, как генетические факторы, влияющие на количественный признак, могут быть идентифицированы при помощи маркерного признака. Была представлена концепция поиска локусов количественных признаков с помощью сцепленных с ними маркеров, не получившая развития из-за отсутствия последних [38].

В 1926 г. акад. А.С. Серебровский и Е.Т. Васина-Попова описали расположение генов в половой хромосоме курицы [47]. В это же время А.С. Серебровский предложил метод «сигнального гена», который был использован для поиска гена, детерминирующего яйценоскость [32]. Вскоре исследования по картированию генов были прерваны и до 90-х годов не возобновлялись [10].

В 1940-х годах Ирвинг, Стормонт и Фергюсон положили начало работ по изучению факторов групп крови крупного рогатого скота [39]. В 60-е годы исследования групп крови и белкового полиморфизма зародили надежду применения генетических маркеров в селекции. Большое внимание уделялось поиску ассоциаций с количественными хозяйственно-полезными признаками. В многочисленных сообщениях приводились противоречивые результаты.

Среди прочих заслуживает внимания работа [44] по выявлению связи между факторами групп крови и девятью количественными признаками. Авторы использовали данные о 2378 первотелках трех пород с датских *контрольных* станций. Исследования, проведенные на достаточно большом материале, при контролируемых условиях среды и статистически безупречными методами, *не выявили* связи между факторами групп крови и анализируемыми признаками. Авторы высказали мнение, что оценивать племенную ценность по продуктивным признакам при помощи групп крови *не целесообразно* - традиционными методами можно достигнуть большего (что и подтвердила в дальнейшем практическая селекция). Шталь В. с соавторами [39] обобщили публикации по крупному рогатому скоту и резюмировали, что между группами крови и продуктивными признаками ассоциаций, имеющих практическое значение, нет. Rocha [45] сделал анализ более 60 *фундаментальных* исследований, результаты которых были опубликованы в 1951-82 гг. Учитывались только ассоциации факторов групп крови с признаками молочной продуктивности и типа. В 69 публикациях сообщалось о 3664 ста-

тистических тестах, из которых 301 (8,2%) были значимыми. Из них только 3 ассоциации повторялись в нескольких исследованиях (были релевантными), но ни одна не использовалась в практическом разведении молочного скота.

В СССР пик иммуногенетических исследований пришелся на 1970-80-е гг. В 1974 году проф. О.А. Иванова писала: *«Если в результате этого будет обнаружена генетическая связь по типу сцепления генов или плейотропии, то сравнительно легко выявляемые в лабораторных условиях гены групп крови, а соответственно и других типов белкового полиморфизма, могли бы быть использованы в качестве маркеров для селекционных целей. Речь идет о возможности раннего прогнозирования продуктивности животных и племенной ценности самцов-производителей»* [13]. Было опубликовано большое число статей. Одни авторы находили маркеры продуктивности, другим по тем же локусам выявить ассоциаций не удавалось. Чаще зависимость интерпретировалась как тенденция, реже - как статистически значимая разница [3].

С конца 80-х гг. поток публикаций сократился. Надежда на наличие устойчивой связи количественных признаков с конкретными аллельными вариантами групп крови, белков крови и белков молока стала угасать. Отмечалось, что иммуногенетические исследования не смогли дать однозначного ответа о характере и тесноте связи с хозяйственно-полезными признаками [12]. Более того, было установлено, что, если даже взаимосвязи и имеют место, они не являются универсальными [3].

В качестве объективных причин противоречивых результатов указывалось на то, что исследования лимитировались наличием малого числа маркеров и низким уровнем их полиморфизма [37]. Но основной причиной, по всей вероятности, был низкий методический уровень работ. Исследования, как правило, имели фрагментарный характер: проводились по отдельным системам, на ограниченном материале одного стада, без доказательной статистической обработки данных. Влияние систематических средовых факторов, которые оказывают большое влияние на вариацию экономически важных количественных признаков, не учитывалось. Исключением, возможно единственным, являлась работа [19], в которой была сделана попытка найти ассоциацию белков крови с *оценками племенной ценности быков*, рассчитанными по скорректированным на паратипические факторы данным.

Многими иммуногенетиками оценка и использование в селекции ассоциаций факторов групп крови с количественными признаками понималась и понимается тривиально. Например, проф. Н.А. Попов пишет: *«...По анализу сопряженности аллелей групп крови с главными селекционными признаками у коров ведущей части, а также части исследуемых первотелок, следует ранжировать их в стаде по величине удою, содержания жира, белка в молоке, живой массе и т.д. В зависимости от определения направления последующего совершенствования признаков, аллели первой четверти рангов будут являться желательными для увеличения их частот в стаде»* [29]. Во-первых, при таком подходе незачем вообще поднимать вопрос о маркерах групп крови - отбор по

продуктивности автоматически будет увеличивать частоту «желательных аллелей». Во-вторых, естественен вопрос: какова повторяемость «аллелей первой четверти» во времени и в пространстве?

Подобные упрощенчества проблемы не могли не отразиться на объективности результатов и сделанных на их основе выводов и заключений. Не случайно проф. Максименко В.Ф. в трудах ВИЖ'а за 2005 год писала, что с 1967 года различными учеными изучался аллелофонд ярославской породы, однако за все это время они даже *«...не смогли достаточно полно и объективно проследить динамику аллелофонда»* [20]. Проф. Тинаева Н.А. с коллегами резюмировали полувековые иммуногенетические изыскания так: *«Пока нет однозначного ответа, доказанного практическими исследованиями на сельскохозяйственных животных, о возможности использования полиморфных систем крови в прогнозировании продуктивных качеств животных в раннем возрасте»* [36]. А проф. Г.Н. Сердюк, многолетняя научная деятельность которого связана с иммуногенетикой, на международной конференции в С.-Петербурге отметил: *«Что касается связи групп крови с продуктивными признаками животных, то, несмотря на многочисленные исследования, таких четких связей между ними не выявлено»* [31]. На этом фоне диссонансом звучит утверждение кандидата биологических наук В.С. Матюкова: *«...Можно считать **доказанным** (здесь и далее выделено мною, В.К.) наличие **устойчивых** (по крайней мере, прогнозируемых) корреляций между особенностями конституции животного при рождении и его генотипом по полиморфным локусам»* [25]. Насколько объективно и правомочно данное утверждение рассмотрено ниже.

Лучшая работа 2008 г. Несмотря на полувековые бесплодные исследования, поиск ассоциаций факторов групп крови и белкового полиморфизма с хозяйственно-полезными признаками упорно продолжается [5,6,8,9,18,21,23-27 и др.]. Что касается качества исследований, то они, при повсеместном использовании персональных компьютеров и наличии доступных статистических программ, продолжают оставаться на примитивном уровне (во многих нет даже теста H_0).

Для подтверждения вышесказанного обратимся к результатам исследований, авторы которых были удостоены Диплома «За лучшую завершённую научную работу 2008 года в области АПК России» (см. Вестник Россельхозакадемии № 1 за 2009 год стр. 94) [26]. В этом объемном, разношерстном, на наш взгляд, сумбурном, в большинстве случаев без аргументированных доказательств «труде» рассмотрим небольшую часть - использование полиморфных систем крови для прогноза и повышения приспособленности (жизнеспособности) телят.

Впервые результаты *данного* исследования были представлены на конференции в Костроме в 2003 году [23]. В своей статье авторы привели таблицу забоя и падежа телят в зависимости от индекса сходства по антигенам групп крови родителей:

Индекс схождения	1999		2000		2001		Итого	
	п	%	п	%	п	%	п	%
Тёлки								
≤0,3	34	23,5	33	15,1	18	0,0	85	15,3
0,31-0,5	93	17,2	66	26,7	31	25,8	190	21,6
≥0,5	8	25,0	5	60,0	3	0,0	16	31,3
Итого	135	19,3	104	24,1	52	15,4	291	20,3
Бычки								
≤0,3	50	38,0	38	55,2	20	30,0	108	42,6
0,31-0,5	80	45,0	58	44,8	25	24,0	163	41,7
≥0,5	11	63,6	11	45,4	5	0,0	27	44,4
Итого	141	44,0	107	48,6	50	24,0	298	42,3
В целом								
≤0,3	84	32,1	71	36,6	38	15,8	193	30,6
0,31-0,5	173	30,0	124	34,7	56	25,0	353	30,6
≥0,5	19	47,4	16	50,0	8	0,0	43	39,5
Итого	276	31,9	282	27,3	102	19,6	589	31,4

Примечание. п – общее число телят; % – процент не выживших телят.
Затонированная часть таблицы - это данные, по которым, как утверждают сами авторы, нет зависимости между индексом антигенного схождения родителей и жизнеспособностью телят.

«Рассматривая» данную таблицу авторы отметили: «...По быкам в 1999 г. смертность приплода положительно взаимосвязана с величиной индекса схождения родителей, в 2000-2001 гг. напротив - отрицательно. В целом за три года взаимосвязи не выявлено».

Относительно телок: «Если рассматривать данные по годам, то видно, что по тёлкам **никаких взаимосвязей** индекса схождения родителей по антигенам групп крови с жизнеспособностью телят **не установлено**. По объединенной выборке за три года с возрастанием индекса схождения родителей смертность телок повышается» (подчеркнуто мною, В.К.).

И подытожили: «Таким образом, в целом с **большой натяжкой** зависимость жизнеспособности от схождения (различия) родителей по антигенам групп крови **можно признать подтвержденной**».

Какие-либо статистические доказательства, «подтверждающие» данный вывод, в статье совершенно отсутствовали. Статистический анализ - это не формальное дополнение к эксперименту, а большая и важная его часть, без которой вся работа становится малоэффективной, а результаты - голословными.

Мы решили проверить установленную авторами «зависимость». Выборка объединенных данных по телкам была обработана нами методами χ^2 , дисперсионным анализом (ANOVA) и критерием Стьюдента при сравнении средней жизнеспособности в группах с индексами антигенного схождения $\leq 0,3$ и $\geq 0,5$ [16].

Методом χ^2 были получены следующие результаты:

Индекс сходства	Живых, голов		Пало, забито, голов		Итого факт.	%
	факт.,q	теор.,q'	факт.,q	теор.,q'		
≤0,3	72	67,7663	13	17,2337	85	0,292096
0,31-0,5	149	151,4777	41	38,5223	190	0,652921
≥0,5	11	12,7560	5	3,2440	16	0,054983
Итого	232	232	59	59	291	-
%	0,797251	-	0,202749	-	-	100

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^w \sum_{i=1}^v \frac{(q_{ij} - q'_{ij})^2}{q'_{ij}} =$$

$$= 0,264497 + 0,040526 + 0,211736 + 1,040058 + 0,159357 + 0,950554 \approx 2,7,$$

где q_{ij} - наблюдаемая и q'_{ij} - ожидаемая численность животных.

При числе степеней свободы $df = (3-1)(2-1) = 2$ табличное $\chi^2_{0,05;2} = 5,99$, что превышает фактическое значение $\chi^2 = 2,7$ более чем в 2 раза. Следовательно, нулевую гипотезу, H_0 , о *независимости* двух событий следует принять.

Ниже даны результаты, полученные ANOVA:

Источник изменчивости	df	Сумма квадратов	Средний квадрат	F-критерий
Общая скорр.	290	47,038	-	-
Группа по индексу	2	0,434	0,217	1,34
Остаток	288	46,603	0,162	-
Коэффициент детерминации $R^2 = 0,0092$				

Примечание. df - число степеней свободы.

Табличное значение критерия Фишера $F_{\text{табл}} = 3,0$, что больше фактического $F = 1,34$. H_0 принимается. Следовательно, можно предположить, что вся изменчивость жизнеспособности телок обусловлена *случайными* причинами (заметим, что коэффициент детерминации равен 0,009).

Результаты сравнения сохранности в группах с индексами $\leq 0,3$ и $\geq 0,5$:

Показатели	Индекс ≤0,3	Индекс ≥0,5
Средняя сохранность и ошибка	0,847±0,0437	0,688±0,1010
Разность средних и ошибка	0,159±0,110	
Критерий Стьюдента, t	1,45	
Табличное значение, $t_{\text{табл}}$	1,98	

H_0 принимается, т.к. $t < t_{\text{табл}}$. Различие между группами статистически *не* значимо при уровне значимости $\alpha = 0,05$.

Таким образом, результаты статанализов свидетельствовали о том, что утверждать о наличии зависимости между индексами сходства родителей по антигенам групп крови и жизнеспособностью телок **не было никаких оснований**, даже с «большой натяжкой». Напомним, что по остальным выборкам (бычки, телки по годам) сами авторы отметили отсутствие зависимости.

В 2005-06 гг. данные *только* по телкам были опубликованы в журналах «Аграрная наука Евро-Северо-Востока» [24] и «Сельскохозяйственная биология» [25]. Результаты авторы интерпретировали уже без «большой натяжки»: «... **выживаемость приплода коррелирует** ... с иммуногенетическим тестом на антигенное сходство родителей...»[25]. В качестве доказательства цитировались авторитеты: «... Полученные данные в целом согласуются (в [24] - подтвердили) с выявленной ранее другими исследователями зависимостью жизнеспособности приплода от сходства (различия) родителей по антигенам групп крови» (ссылка на Охупкина С.К., Дунина И.М., Рожкова Ф.И.).

Еще через два года, в уже упомянутой работе [26], снова были приведены те же самые данные по телкам, но «большая натяжка» трансформировалась в закономерность: «... **Выявленная зависимость описывается полиномом второй степени**». Имея изначально три точки (группы), авторы провели какую-то манипуляцию с данными (не объясняется) и построили регрессию по пяти точкам, причем коэффициент детерминации составил 0,935 (почти функциональная зависимость (!); сравни с ANOVA). В Заключении авторы заявили: «... **доказана практическая возможность раннего прогноза племенной и хозяйственной ценности по ... генетическим маркерам**», а также: «... используя подбор родительских пар по антигенам групп, можно повысить выживаемость приплода».

Как сами публикации, так и метаморфоза с выводами - наглядный образец *лысенковской* технологии анализа данных: не удосужившись сделать элементарный статанализ*, авторы голословно утверждают, что взаимосвязь «**доказана**»; вводят в заблуждение научное сообщество и специалистов, говоря, что индекс антигенного сходства «... **имеет хорошие перспективы** для использования в практике» [25]; дают необоснованные рекомендации: «... **Желательно проводить такую оценку в условиях, далеких от оптимума, так как в 'комфортной' среде она может оказаться неэффективной из-за невозможности выявления дифференциальной жизнеспособности особей**» (!).

* Ещё 80 лет назад на 1-ом Всероссийском съезде по племенному делу в крестьянских хозяйствах А.С. Серебровский отмечал: «Что касается применения математической статистики в животноводственной селекции, то отстаивать его необходимость – значит доказывать необходимость быть грамотным. Против биометрии раздаются вполне справедливые возражения, что она не всегда спасает от неверных выводов. Но это говорит только за то, что нужно научиться владеть этим мощным оружием, не пользоваться им по наслышке, не критически. Ведь и грамотный человек может написать вздор, но на этом основании нельзя отвергать грамоту и жить по-старинке, неграмотно» (М.: Книгосоюз, 1928).

По последним рекомендациям следует дать расширенный комментарий:

1. Работа была проведена в хозяйстве, в котором смертность телят от желудочно-кишечных и респираторных заболеваний составляла 30-40% и более! В этих условиях нельзя обеспечить даже простого воспроизводства стада, не говоря уже о какой-то оценке и отборе, который должен следовать за оценкой (иначе никакого улучшения не будет).

2. При таких потерях телят здравый смысл, методика научных исследований [28] и практика говорят: надо сначала найти причины, устранить их, обеспечить животным нормальную жизнь и только после этого выводить закономерности, ставить какие-то селекционные опыты и т.п.

3. Зарубежные и наши исследования показали, что генетическая изменчивость жизнеспособности около 5% и ниже. Поэтому, чтобы повысить посредством селекции коров сохранность телят на 1% потребуются 300 лет [17]. 95% фенотипической изменчивости жизнеспособности обуславливается средовыми факторами. Именно на этой компоненте изменчивости животноводы должны концентрировать внимание, если они *действительно желают реально и быстро повысить жизнеспособность телят*.

4. Индекс антигенного сходства «работает» только в условиях «далеких от оптимума». А что делать специалистам хозяйств, где условия близки к нормальным? Имеется проверенный мировой практикой метод оценки племенной ценности животных, называемый «BLUP» [15]. Его можно использовать, в принципе, как для любых признаков, так и в любых условиях.

5. Эффективность BLUP при селекции производителей по жизнеспособности потомства была нами показана [17]. А эффективность индекса сходства, как альтернативы BLUP, *должны* были показать авторы, поскольку они предлагают «экологически безопасный и относительно дешевый способ повышения жизнеспособности животных *селекционно-генетическими* методами». Сделанное авторами сравнение с ветпрепаратами не корректно уже по тому, что *реальное* повышение сохранности (до 70%) за счет их применения сопоставлялось со *случайно полученным значением* сохранности (84,7%) *отобранной* группы (около 30% животных) с индексом сходства $\leq 0,3$. Нельзя проверить, какова была бы средняя сохранность телят, если бы все 100% животных имели индекс сходства $\leq 0,3$. Кроме того, как отмечалось в [23], телки подвергались интенсивной терапии. Следовательно, эффекты факторов «индекса сходства», «ветпрепарата» и их взаимодействия *смешались*. Отдельное же воздействие факторов на жизнеспособность телок авторами не исследовалось.

6. В работах [24-26] нет данных по бычкам. И это не случайно, т.к. результаты по бычкам противоположны таковым по телкам: во *всех трех группах* сохранность бычков была на уровне 56-58% [23]!? С такими показателями предлагаемый индекс уже не представишь, как «имеющий хорошие перспективы для практики». По утверждению авторов, бычки подвергались ветобработке в меньшей степени [23]. Следовательно, можно предположить, что показатели по бычкам *более* объективно характеризовали влияние уровня антигенного сходства родителей на их жизнеспособность.

В работе [25] авторы дали следующую заключительную характеристику предлагаемого ими «экологически чистого» способа: *«Однако паспортизация животных по маркерным полиморфным системам довольно **трудоемкая и дорогостоящая процедура, связанная с риском разноса инфекции при фиксации животных, взятии у них биологического материала и пр. Это требует бесперебойного обеспечения лабораторий достаточными по номенклатуре и качеству наборами реагентов. По сравнению с биохимическими тестами использование мерных признаков для раннего прогнозирования жизнеспособности более доступный, дешевый и несложный способ**».*

Не вдаваясь в суть «нового» способа, отметим, что он, как и индекс антигенного сходства, нуждается в детальном критическом рассмотрении. Например, мы не считаем «менее трудоемким» и «максимально упрощенным» снятие у новорожденных телят семи промеров с последующим расчетом шести индексов, а на их основе - индекса морфологического сходства. Возникает также вопрос о целесообразности всех этих расчетов лишь для того, чтобы с неизвестно какой вероятностью прогнозировать сохранность телят через три месяца. Во-первых, пока селекционер измеряет и считает - три месяца пролетели. Во-вторых, не все коровы телятся одновременно, существуют значительные годовые и сезонные различия. В-третьих, и самое главное, любая телятница сразу же после рождения теленка без каких-либо индексов может определить степень его жизнеспособности. Выживет теленок или нет в условиях «далеких от оптимума» - на 95% зависит от профессионализма специалистов, менеджмента и экономического положения хозяйства.

Фальсифицируя результаты, авторы убеждали коллег и специалистов-практиков в полезности индекса антигенного сходства, а затем отказались от него, говоря, что он **инфекционно опасен, трудоемок и затратен!** Но ведь все это было известно а priori. Зачем нужны были эти в высшей степени бесполезные исследования? В Заключении [26] читаем: *«... на новом информационном уровне ... вовлечена в исследование обширная информация, которая лежала мертвым грузом и считалась устаревшей».* Непонятно, что понимают авторы под «новым информационным уровнем»? В публикациях даны только проценты забитых и падших телят. Что нового привнесла перетряска «устаревших» данных? По нашему мнению - ничего, кроме мистификации.

Три работы [24-26] прошли внешнюю рецензию. Рецензии по статьям в журналах «Аграрная наука Евро-Северо-Востока» и «Сельскохозяйственная биология» нам не известны. В рецензии же на [26] по работе объемом 97 стр. не сделано ни одного замечания! Внешний рецензент пишет, что авторы *«... выявили **достоверную** связь индекса антигенного сходства родителей с жизнеспособностью приплода (!?) ... Научно-исследовательская работа выполнена на хорошем методическом уровне».* Рецензировать такой «труд» чрезвычайно трудно. Необходимо более месяца, чтобы только вникнуть. У внешнего рецензента, по-видимому, не было столько свободного времени, и он, как представляется, подписал то, что ему заготовили, «не глядя».

Анализ небольшой части «лучшей работы 2008 года» можно завершить следующим обобщением:

1. В.С. Матюков с коллегами при проведении своих исследований не учитывали систематические паратипические факторы, влияние которых на изменчивость жизнеспособности телят представляется существенным. Простое объединение данных за все годы могло быть причиной автокорреляции и связанной с нею ложной тенденцией.
2. Пренебрежительное отношение к биометрической обработке данных привело авторов к формулировке ошибочных выводов и к несоответствующему действительности заключению об эффективности индекса антигенного сходства родителей.
3. Исключение в работах [24-26] данных по бычкам свидетельствует о *намеренном* сокрытии нежелательной для авторов информации с целью «облегчения» введения научного сообщества и специалистов-практиков в заблуждение.
4. «Эволюция» артефакта о связности индекса антигенного сходства и жизнеспособности телок (от зависимости с «большой натяжкой» до почти функциональной закономерности) указывает на то, что авторы, *сознательно* искажали и завышали значимость своей работы, выдавали желаемое за подлинное.
5. Даже не принимая во внимание отсутствие влияния индекса антигенного сходства на жизнеспособность телят, сравнение эффективности индекса с эффективностью ветпрепаратов методически некорректно как по существу, так и по форме.
6. В целом, как постановка исследования, так и публикации, свидетельствуют о научно-методической несостоятельности, о несоблюдении хорошо известных, элементарных правил.
7. Несмотря на отсутствие статистической обработки данных и объективных критериев надежности результатов, работы [24-26] получили положительные рецензии. Это свидетельствует как о формальном отношении рецензентов к взятым на себя обязательствам, так и о недостаточной требовательности редакционных советов и экспертной комиссии.
8. В общем, принимая во внимание заключения цитируемых в первой части данной статьи ученых, исследования по *поиску ассоциаций* полиморфных систем крови с количественными признаками, как представляется, исчерпали себя, их следует признать не актуальными, не перспективными и, следовательно, закрыть.

Новая надежда!? За рубежом факторы групп крови используют, в основном, для первичного мониторинга достоверности происхождения животных.

В начале 1980-х годов были созданы маркерные системы, которые позволили проводить прямое исследование ДНК различных организмов. 1980-90 го-

ды считаются десятилетием создания карт сцепления и поиска локусов количественных признаков - QTL.

Что такое QTL? Большинство хозяйственно-полезных признаков, представляющих интерес для селекции, количественные (комплексные). Они детерминируются многими генами малого эффекта (полигенами) и в значительной степени подвержены воздействию факторов внешней среды. Аддитивная генетическая изменчивость этих признаков ~2-50%. Природа генов, лежащих в основе этой изменчивости, изучена плохо. Кроме того, смена лимитирующих факторов среды влечет за собой смену спектра генов, определяющих фенотипическую изменчивость признаков. Тем не менее, *предполагается* существование отдельных ключевых генов и/или групп сцепленных генов, которые при *любых* условиях привносят свой вклад в формирование количественного признака. Величина этого вклада регламентируется внешней средой [30]. Именно такие генетические локусы принято обозначать термином «локус количественного признака» (*Quantitative Trait Loci, QTL*). По терминологии INTERBULL, QTL'ли - это локусы, влияющие на фенотипическую вариацию признаков с непрерывной изменчивостью таких, как удои, привес, резвость, настриг шерсти, резистентность и т.д. Существенное уточнение дано в [11]: «QTL - это генетический локус, вариабельность которого на базе различных аллелей ведет к *статистически значимым* изменениям фенотипического проявления признака».

Используя молекулярно-генетические методы, можно определить различия между животными по многим участкам генома (сайтам). Эти сайты можно рассматривать как локусы генов-маркеров. Сами по себе они, вероятно, не являются QTL, но могут быть сцепленными с QTL. Тем самым становится возможным картировать QTL, генотипировать животных и отбирать их непосредственно по генотипам, т.е. в рамках традиционных программ селекции проводить *содействующий* (уточняющий и/или дополняющий) отбор животных по генетическим маркерам (*Marker Assisted Selection, MAS*).

В основе картирования QTL лежат хорошо известные биологические явления: сцепление генов, их рекомбинация во время мейоза и полиморфность генома. Если расщепление по генетическому маркеру *статистически значимо* (достоверно) ассоциируется с изменениями количественного признака, то предполагается, что локус маркерного гена сцеплено наследуется с QTL (благодаря близкому расположению на хромосоме гена-маркера и гена-QTL). Картируя ген-маркер можно локализовать прилежащий к нему QTL. Если число маркеров, которые сцеплены с QTL, очень большое и они равномерно распределены по геному, то реально выявить все сайты с локализацией QTL.

Идентификация QTL - это первый этап MAS. Второй - поиск с использованием статистических моделей смешанного типа (**BLUP**, **BLUP AM** или **BAYES**-метод) таких QTL, действие которых было бы достаточно сильным, чтобы обусловить *дискретность*, различимую даже на фоне паратипической изменчивости и расщепления генов других локусов (обзор по локализация QTL в аутосомах крупного рогатого скота дан в [34]). Такие QTL можно изучать менделевскими методами и использовать в схемах MAS.

Например, в традиционных программах селекции ремонтных бычков получают от отцов и матерей бычков с наилучшими оценками племенной ценности (*Estimated Breeding Value, EBV*). Ожидаемая EBV потомства соответствует $\frac{1}{2}$ суммы EBV родителей. Действительная EBV потомства может отклоняться от прогнозируемой из-за недостаточно точной оценки EBV родителей по фенотипическим данным и, главным образом, из-за эффекта *расщепления*. Использование информации по маркерам QTL совместно с оценками EBV родителей дает возможность повысить эффективность заказного спаривания и последующего отбора ремонтных бычков. Однако для этого необходима очень детальная и объективная характеристика идентифицированных QTL как по числу аллелей, так и по их воздействию на количественный признак.

Маркеры QTL могут быть использованы в селекционных программах с системой **МОЕТ** (*Multiple Ovulation and Embryo Transfer* - суперовуляция и пересадка эмбрионов) при прогнозе эффекта расщепления, когда нет никакой другой информации. Так, система МОЕТ позволяет получать большое число *полных* братьев. С помощью маркеров их можно в раннем возрасте дифференцировать по генотипам и сделать предварительный отбор. Тогда на проверку по качеству потомства будут поставлены только те бычки, которые с большей вероятностью (определяется степенью связности аллелей QTL с данным признаком) будут превосходить среднюю EBV родителей. Чтобы такая схема селекции стала возможной, должна быть определена *гетерозиготность* отцов и матерей бычков по идентифицированным QTL.

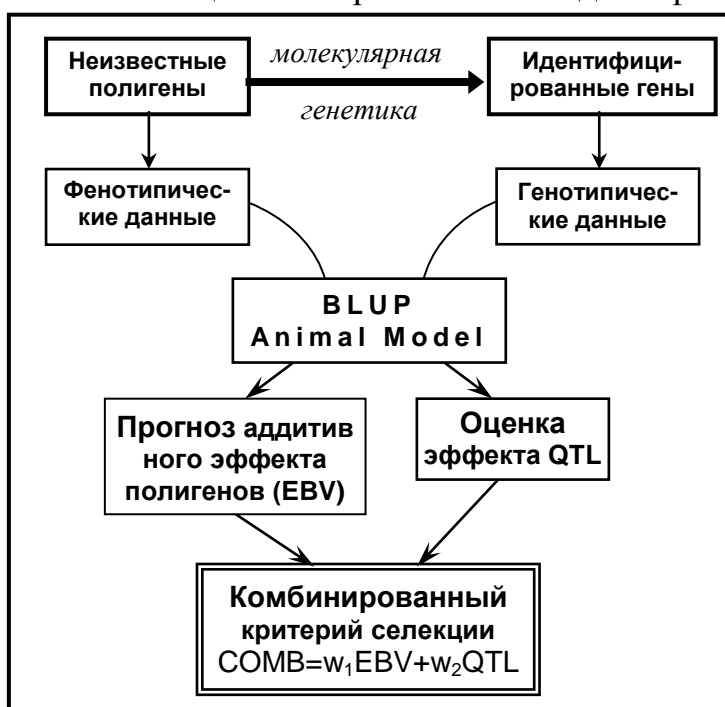


Схема комплексной генетической оценки (w_1 и w_2 – весовые коэффициенты) [15]

Эффективность MAS зависит от числа QTL и аллелей, их влияния на количественный признак и точности оценки этих эффектов. Для прогноза генотипа животных по количественным признакам и оценки эффектов QTL (аллелей) используются одни и те же фенотипические данные. Это делает возможным одновременное вычисление обоих генетических эффектов и конструирование единого критерия селекции на основе *комбинирования* информации по полигенам и маркерам QTL (см. рис.). Исследования показали, что использование таких критериев может повысить генетический прогресс на 8-30% и более

[48]. Проблема заключается в том, чтобы определить такие значения весовых коэффициентов w_1 и w_2 , которые бы максимизировали генетический прогресс при *длительной* селекции животных.

На схемы MAS возлагались большие надежды. Ряд стран внедрили MAS для предселекции молодых бычков до их оценки по потомству [33]. Однако результаты картирования QTL были часто неоднозначными. Сцепления, найденные одними авторами на определенном материале, часто не подтверждались другими исследователями при анализе других популяций [1]. Для промышленного животноводства было идентифицировано небольшое число важных генов. Из-за отсутствия маркеров, сцепленных с экономически важными признаками, коммерческое применение MAS было менее успешно, чем ожидалось [40].

Совершенствование методов молекулярной биологии и накопление фундаментальных знаний привело во второй половине 1980-х годов к качественному скачку - появлению сравнительно простого и дешевого метода, основанного на полимеразной цепной реакции (*Polymerase Chain Reaction, PCR*). Различные модификации PCR используются для выявления «нового поколения» ДНК-маркеров, создания насыщенных генетических карт и маркирования QTL.

ДНК-маркеры – это полиморфные участки ДНК с неизвестными функциями, но с известной позицией в хромосоме [11]. Преимущество ДНК-маркеров в том, что изменения в последовательности ДНК является первопричиной всех последующих изменений организма. Кроме того, они обеспечивают возможность анализа любых последовательностей генома, а не только белок-кодирующих, составляющих от 1 до 10% от всего генома [2,7].

Полиморфизм нуклеотидных последовательностей ДНК способствует созданию любого количества ДНК-маркеров различных типов [2,14,22]. С усовершенствованием и автоматизацией методов секвенирования (расшифровки последовательности нуклеотидов) стало возможным генотипирование животных по тысячам маркеров.

Наиболее эффективной считается технология с применением «микрочипа» (одновременный анализ на специальной платформе экспрессии десятков тысяч генов в нескольких десятках проб), на основе полиморфизма по единичному нуклеотиду (*Single Nucleotide Polymorphism, SNP*). Технология микрочипов позволяет получать маркеры, равномерно рассеянные по всему геному. Эти маркеры интенсивно изучаются в геномах человека и животных для выявления ассоциаций и сцеплений с различными QTL, которые могут быть релевантными (действительными) в *любой* популяции.

В среднем один SNP приходится на 400 нуклеотидов. Число SNP на ген колеблется от 0 до 29. Типичный индивидуум в среднем гетерозиготен примерно по 24000-400000 несинонимичных, т.е. изменяющих аминокислоту в кодируемом белке, замен [2]. В геноме человека находится около 1 млн. SNP (можно предположить, что такое же количество у крупного рогатого скота), из которых около 500000 не кодирующих, 200000 синонимичных кодирующих (молчащих, не изменяющих аминокислотную последовательность кодируемого белка) и 200000 несинонимичных кодирующих SNP.

Мониторинг генома предполагает анализ десятков тысяч генетических маркеров. Компании Illumina и Affymetrix выпустили на рынок чипы, позволяющие типировать 500 тыс. SNP-маркеров; скоро будут доступны чипы с миллионом и более маркеров. Цена такого анализа снижается, и в будущем можно ожидать, что генотипирование нескольких сотен или тысяч животных с помощью этих чипов будет финансово приемлемо [4]. В самой большой базе данных - dbNCNB - содержится более 11 млн. SNP. Именно такие ДНК-маркеры особенно удобны для построения плотных генетических карт или карт сцепления с QTL (интервал между сцепленными маркерами или размер искомого участка QTL может быть сведен к 1-2 и менее сантиморганам, cM; 1cM=1% рекомбинантных гамет при кроссинговере).

Наличие генетических карт высокой плотности для крупного рогатого скота, относительно дешевая технология микрочипов и развитие методологии генетической оценки животных делают возможной *геномную селекцию* (*Genomic Selection, GS*) в молочном скотоводстве. Под GS подразумевают оценку *тотальной геномной племенной ценности* (*Total Genomic Breeding Value, TGBV*) и её использование при отборе животных [43]:

$$TGBV_i = \sum_j CSE_{ij} ,$$

где CSE_{ij} - оценка эффекта j -го хромосомного участка у i -го животного (суммирование по всему геному).

GS обеспечивает унифицированную концепцию. Так как *весь* геном анализируется *одновременно*, то отпадает необходимость в идентификации QTL или генов. Методология TGBV предполагает, что весь геном объясняет всю генетическую вариацию признака(-ов). Было показано, что с высокоплотными маркерами GS без фактического знания локализации мажорного (главного) гена так же эффективна, как MAS, в которой известна точная локализация мажорного гена. Поэтому, имея плотные маркерные карты, фенотипические данные и надлежащее аналитическое средство, можно рассчитывать TGBV животных *не идентифицируя* QTL или гены. Компьютерным моделированием [43] было установлено, что при наличии маркерной картой с одним полиморфным мультиаллельным маркером на каждом сантиморгане и 100 полусибсами на каждого производителя, точность GS по продуктивным признакам при использовании BLUP составит 0,73, метода BAYES'a - 0,85 (обзор некоторых проблем GS см. в [35]).

Точность отбора в традиционных программах селекции, применяемых на западе, уже, как правило, достаточно высокая. Но т.к. информацию о геноме можно получить у очень молодых животных (даже у эмбриона), то GS может быть мощным фактором воздействия на продолжительность генерационного интервала и, следовательно, на генетический прогресс. Это воздействие считается более важным, чем влияние на точность отбора. Существенное снижение генерационного интервала возможно даже при естественном воспроизводстве. Однако

самое впечатляющее повышение генетического прогресса можно ожидать при комбинации GS с новыми репродуктивными (клеточными) технологиями.

В частности, Georges и Massey [41] реализовали идею сокращения генерационного интервала в **VELO-генетической** (быстрой) схеме MAS. В данной схеме предполагается извлекать ооциты из яичников телок-плодов. Затем ооциты культивируются и оплодотворяются *in vitro*. Некоторое число эмбриональных клеток используется для генотипирования по маркерам. На основании маркерных генотипов проводится отбор эмбрионов. Отобранные эмбрионы имплантируются самкам-реципиентам. Процедуру можно повторить: извлечь ооциты у особей второго поколения. В этом случае генерационный интервал самок редуцируется от обычного минимума 2-2,5 года до 3-6 месяцев.

Haley и Visscher [42] пошли дальше и предложили **WHIZZO-генетическую** (скоростную) схему разведения, в которой генерационный интервал сокращается до предела. Согласно этой схеме, культура клеток, полученная от оплодотворения ооцитов, отбирается по маркерной информации. В отобранной культуре мейоз индуцируется оплодотворением. Результирующие культуры снова отбираются по маркерам и цикл повторяется. Вся схема разведения может быть проведена в лабораторных условиях. Тогда генерационный интервал будет зависеть только от времени, которое потребуется для выполнения необходимых лабораторных манипуляций. Если эти технические приемы сократят генерационный интервал, например, в X раз, то можно ожидать повышение генетического прогресса также в X раз (при сохранении точности отбора).

WHIZZO-схема не применима в традиционных программах селекции, т.к. животные не «фенотипируются», и в MAS-схемах, где только часть общей генетической изменчивости объясняется генетическими маркерами. Но она может быть использована при GS, когда вся генетическая изменчивость объясняется генетическими маркерами. GS, стремящаяся к прогнозу общей генетической ценности, в комбинации с VELO- или WHIZZO-генетическими схемами, имеет значительно большие перспективы, чем MAS.

Чтобы внедрить GS, необходима референтная популяция для картирования QTL. В молочном скотоводстве обычно используют «внучатый проект». Один раз типировав по маркерам животных референтной популяции, GS может быть сразу же применена в базовой популяции по всем признакам. Это большой прорыв по сравнению с традиционной MAS, в которой ключевым является *достоверно* идентифицированный *индивидуальный* локус. Общая изменчивость и изменчивость, которая объяснялась идентифицированными QTL, были редуцированными. При GS непосредственно объясняется большая часть изменчивости всех признаков, без затрат времени на поиск QTL. Западные ученые выражают надежду, что с внедрением GS может свершиться долгожданная молекулярная революция в разведении сельскохозяйственных животных.

Заключение. Многолетний поиск *устойчивых, статистически значимых* ассоциаций факторов групп крови и полиморфизма белков с количественными признаками не увенчался успехом. Надежда на использование в селекции животных *этого типа* маркеров не сбылась. Продолжающиеся исследования и публикации на данную тему можно было бы оправдать, если бы заключенная в них информация была объективной, достоверной, без фальсификаций и мистификаций, не вселяла бы читающим ложных надежд. Подобные «исследования» ничего не дают ни для развития зоотехнической науки, ни для модернизации методов разведения животных; они только компрометируют и дискредитируют, как авторов, так и российскую науку.

Пока у нас десятилетиями декларируются *перспективы* использования факторов групп крови, полиморфизма белков, каппа-казеина и полиморфизма ДНК (как и метода BLUP), в экономически развитых странах уже практически прошел этап «маркер-зависимой» селекции и разрабатывается теория геномной селекции. Некоторые страны уже начали поэтапный переход на оценку геномной племенной ценности животных. Это «передовой фронт» селекции и как науки, и как технологии. Поэтому российские ученые-селекционеры свои исследования должны ориентировать именно в данном направлении. Только в этом случае наша зоотехническая (селекционная) наука от псевдонаучных «закономерностей», разведения по линиям, создания «новых типов», разработки «методов голштинизации» и «породообразовательных теорий» может перейти к разработке современных научных основ генетики и селекции животных.

Литература

1. Аксенович Т.И. *Проблемы картирования QTL*. // Новосибирск: Новосибирский ГУ, 2001.-Грант РФФИ 01-04-49518 (<http://www.ict.nsc.ru/ws/Lyap2001/2281/>).
2. Алтухов Ю.П., Салменкова Е.А. *Полиморфизм ДНК в популяционной генетике*. // Генетика.-2002.-Т. 38.-№ 9.-С. 1173-1195.
3. Амбросьева Е.Д. *Биохимические маркеры в свиноводстве (обзор)*. // Аграрная Россия.-2002.-№ 5.-С. 19-30.
4. Аульченко Ю.С., Аксенович Т.И. *Методологические подходы и стратегии картирования генов, контролирующих комплексные признаки человека*. // Вестник ВОГиС, 2006.-Т. 10.-№ 1.-С.189-202.
5. Баранова Н.С., Баранов А.В. *Генетическая оценка плодовитости молочного скота*. // Аграрная наука Евро-Северо-Востока.-2008.-№ 11.-С. 170-172.
6. Боев М.М., Боев М.М., Стрекозов Н.И. *Селекционно-генетические аспекты повышения жирномолочности молока крупного рогатого скота*. // Вестник РАСХН.-2009.-№ 2.-С. 86-89.
7. Глазко В.И., Дунин И.М., Глазко Г.В., Калашникова Л.А. *Введение в ДНК-технологии*. М.: Росинформагротех, 2001.-436 с.
8. Деева В.С., Сухова Н.О. *Группы крови крупного рогатого скота и их селекционное значение*. Новосибирск: СибНИПТИЖ, 2002.-172 с.
9. Ерёмкина М.А., Гриненко А.А. *Генетические особенности коров молочного направления продуктивности, полученных от разных видов подбора родительских пар*. // Доклады РАСХН.-2008.-№ 6.-С. 41-42.
10. Захаров И.А. *Генетическое картирование генома крупного рогатого скота*. // Цитология и генетика.-1992.-Т. 26.-№ 5.-С. 67-72.
11. Зиновьева Н., Гладырь Е., Державина Г., Кунаева Е. *Методы маркер-зависимой селекции*. // Животноводство России.-2006.-№ 3.-С. 29-31.
12. Зубец М.В., Костюк А.Г., Власов В.И., Подоба Б.Е. *О возможности осуществления заказа на желательный генотип потомка по группам крови в автоматизированно-аналитическом режиме*

- при подборе пар.* // Молекулярно-генетические маркеры животных. Киев.-1994.-С. 82-83.
13. **Иванова О.А.** *Генетика.* М.: Колос, 1974.-431 с.
 14. **Календарь Р.Н., Глазко В.И.** *Типы молекулярно-генетических маркеров и их применение.* // Физиология и биохимия культурных растений.-2002.-Т. 34.-№ 4.-С. 279-296.
 15. **Кузнецов В.М.** *Методы племенной оценки животных с введением в теорию BLUP.* Киров: Зональный НИИСХ Северо-Востока, 2003.-358 с.
 16. **Кузнецов В.М.** *Основы научных исследований в животноводстве.* Киров: Зональный НИИСХ Северо-Востока, 2006.-568 с. (см. также сайт www.vm-kuznetsov.ru; вызов через адресную строку»).
 17. **Кузнецов В.М.** *Возможность селекции и BLUP-оценка быков по жизнеспособности.* // Вестник Россельхозакадемии.-2008.-№ 2.-С. 79-82.
 18. **Лазарева Ф.Ф., Сагитдинов Ф.А.** *Перспективы использования групп крови при селекции уральского черно-пестрого скота.* // Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки / Материалы международной научно-практической конференции к 75-летию ВИЖа / Труды ВИЖа.-Вып. 62.-Т. 1.-Дубровицы, 2004.-С. 56-58.
 19. **Любимова З.П., Кузнецов В.М.** *Изучение связи племенной ценности быков-производителей с биологическими полиморфными системами белков крови.* // Использование интерьерных показателей в селекционно-племенной работе: сб. науч. тр./ ВНИИРГЖ. Л., 1982.-С. 67-74.
 20. **Максименко В.Ф.** *Генетико-селекционные аспекты сохранения ярославской породы скота.* // Труды ВИЖа: Дубровицы, 2005.-С. 134-137.
 21. **Максимова Л., Петрачкова И., Шульга Л.** *Использование иммуногенетических маркеров при выведении внутривидового типа айрширского скота.* // Молочное и мясное скотоводство.-2007.-№ 5.-С. 9-11.
 22. **Марзанов Н.С., Озеров М.Ю., Насибов М.Г., Марзанова Л.К.** *Микросателлиты и их использование для оценки генетического разнообразия животных (обзор иностранной литературы).* // Сельскохозяйственная биология.-2004.-№ 2.-С. 104-111.
 23. **Матюков В.С., Бурнадзе Т.П., Окуловская Е.А.** *Селекционно-генетические методы повышения жизнеспособности молодняка крупного рогатого скота.* // Проблемы развития и научное обеспечение животноводства Евро-Северо-Востока России: сборник материалов научно-практической конференции, Кострома, 23-25 июня 2003 г.: Кострома, 2005.-С. 235-241.
 24. **Матюков В.С., Окуловская Е.А., Бурнадзе Т.П.** *Генетические аспекты жизнеспособности телят.* // Аграрная наука Евро-Северо-Востока.-2005.-№ 7.-С. 89-92.
 25. **Матюков В.С., Меркова Н.М., Лямытских О.А.** *Оценка жизнеспособности молодняка крупного рогатого скота на основе использования морфологических признаков.* // Сельскохозяйственная биология.-2006.-№ 6.-С. 21-27.
 26. **Матюков В.С., Жариков Я.А., Миронов В.В., Лямытских О.А., Меркова Н.М., Чередова Е.В.** *Разработать систему оценки племенной ценности крупного рогатого скота по биохимическим маркерам и экстерьерным признакам.* // Отчет о НИР за 2006-2008 гг.: 06.01.01. / НИПТИ АПК Республики Коми: Сыктывкар, 2008.-92 с.
 27. **Москаленко Л., Коновалов А., Зверева Е.** *Генетические маркеры продуктивного долголетия коров.* // Молочное и мясное скотоводство.-2009.-№ 3.-С. 9-10.
 28. **Овсянников А.И.** *Основы опытного дела в животноводстве.* М.: Колос, 1976.-203 с.
 29. **Попов Н.А.** *Концепция генетического мониторинга при разведении молочного крупного рогатого скота.* // Прошлое, настоящее и будущее зоотехнической науки / Материалы международной научно-практической конференции к 75-летию ВИЖа / Труды ВИЖа.-Вып. 62.-Т. 1.-Дубровицы, 2004.-С. 36-42.
 30. **Потокина Е.К., Чесноков Ю.В.** *Современные методы геномного анализа в исследованиях генетики количественных признаков у растений.* // Сельскохозяйственная биология.-2005.-№ 3.-С.3-18.
 31. **Сердюк Г.Н.** *Использование иммуногенетических маркеров в селекции животных.* // Современные методы генетики и селекции в животноводстве: материалы международной научной конференции, С.-Петербург: ВНИИГРЖ, 2007.-С. 240-243.
 32. **Серебровский А.С.** *Генетический анализ.* М.: Наука, 1970.-342 с.
 33. **Смарагдов М.Г.** *Методы молекулярных маркеров в селекции хозяйственно ценных признаков у крупного рогатого скота.* // Сельскохозяйственная биология.-2005.-№ 6.-С. 3-7.
 34. **Смарагдов М.Г.** *Генетическое картирование локусов, ответственных за качественные показатели молока у крупного рогатого скота.* // Генетика.-2006.-Т. 42.-№ 1.-С. 5-21.

35. **Смарагдов М.Г.** *Тотальная геномная селекция с помощью SNP как возможный ускоритель традиционной селекции.* // Генетика.-2009.-Т.45.-№ 6.-С. 725-728.
36. **Тинаева Н.А., Маркович Л.Г., Конкина В.В., Семикрасова Е.А.** *О возможности использования полиморфизма белков крови как показателя отбора в пушином звероводстве.* // Вестник ВОГиС.-2007.-Т. 11.-№ 1.-С. 122-129.
37. **Шмидт Т.Ю., Симоненко В.Н., Шевченко В.Г.** *Генетическое картирование генома крупного рогатого скота.* // Современные проблемы биотехнологии и биологии продуктивных животных: сб. науч. тр. ВНИИФБиП с.-х. животных. Боровск, 2001.-Т. XL.-С. 210-232.
38. **Шмидт Т.Ю., Шевченко В.Г.** *Возможности использования микросателлитных маркеров для генетического картирования локусов хозяйственно-полезных признаков (Quantitative Trait Loci - QTL).* // Вопросы общей биологии в ветеринарии.-2002.-С. 176-182.
39. **Шталь В., Раш Д., Шиллер Р., Вахал Я.** *Популяционная генетика для животноводов-селекционеров.* Москва: Колос, 1973.-439 с.
40. **Dekkers J.C.M.** *Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons.* // J. Anim. Sci.-2004.-V. 82.-P. 313-328.
41. **Georges M., Massey J.M.** *Velogenetics, or the synergistic use of marker assisted selection and germ-line manipulation.* // Theriogenology. 1991.-V. 35.-P. 151-159.
42. **Haley C.S., Visscher P.M.** *Strategies to utilize marker - quantitative trait loci associations.* // J. Dairy Sci. 1998.-V. 81, № 2.-С. 85-97.
43. **Meuwissen T.H.E.** *Genomic selection: The future of animal breeding.* // Norwegian University of Life Sciences, Box 5003, 1432 As Norway.2007–P. 88-91.
44. **Neiman-Sörensen A., Robertson A.** *The association between blood groups and several production characteristics in three Danich Cattle Breeds.* // Acta Agric. Scand.-1961.-V.11.-P. 163 (цит. по [39]).
45. **Rocha J.L., Sanders J.O., Cherbonnier D.M, Lawlor T.J., Taylor J.F.** *Blood groups and milk and type traits in dairy cattle: After forty years of reserch.* // J. Dairy Sci.-1998.-V. 81.-№ 6.-P. 1663-1680.
46. **Sax K.** *The association of size differences with seed-coat pattern and pigmentation in Phaseolus Vulgaris.* // Genetics.-1923.-V. 8.-P.552-560.
47. **Serebrovsky A.S., Wassina E.T.** *On the topography of the sex-chromosome in fowis.* // J. Genet.-1926.-V. 17.-P. 211-216 (цит. по [10]).
48. **Zhang W., Smith C.** *The use of marker assisted selection with linkage disequilibrium.* // Theoretical and Applied Genetics.-1992.-V. 86.-P. 492-496.

Написано:

24.06.2009 г.

Обновление:

28.07.2009 г.

13.09.2009 г.

10.10.2009 г.

10.04.2010 г.