

26. Eyre-Walker A., Awadalla P. Does human mtDNA recombine? // J. Mol. Evol.— 2001.— Vol.53, №4–5.— P. 430–435.

27. Kravtsov Y., Schwartz M., Brown T.A. et al. Recombination of human mitochondrial DNA // Science.— 2004.— Vol.304, №5673.— P. 981.

28. Piganeau G., Gardner M., Eyre-Walker A. A broad survey of recombination in animal mitochondria // Mol. Biol. Evol.— 2004.— Vol.21, №12.— P. 2319–2325.

29. Tsaousis A.D., Martin D.P., Ladoukakis E.D. et al. Widespread recombination in published animal mtDNA sequences // Mol. Biol. Evol.— 2005.— Vol.22, №4.— P. 925–933.

30. White D.J., Gemmell N.J. Can indirect tests detect a known recombination event in human mtDNA? // Mol. Biol. Evol.— 2009.— Vol.26, №7.— P. 1435–1439.

### **Резюме**

В мтДНК исследованных гоминидов выявили фрагменты эукариотических мобильных генетических элементов и бактериальных IS-элементов. На основании анализа полученных результатов предположили возможность скрещиваний у переходных форм человекоподобных обезьян.

In the mtDNA studied hominoids revealed fragments of eukaryotic mobile genetic elements and bacterial IS-element. Based on the analysis of the results, we suggested the possibility of interbreeding with transitional forms of apes.

**РЕЗНИКОВА И.С., СТЕПУРА В.В., ШЕЛЕВ А.В., СПИРИДОНОВ В.Г.,  
МЕЛЬНИЧУК С.Д., АЛЫМОВ С.И.**

*Украинская лаборатория качества и безопасности продукции АПК,*

*Украина, 08162, Киево-Святошинский р-н,*

*пгт Чабаны, ул. Машиностроителей, 7,*

*e-mail: reznikova\_iren@mail.ru*

### **СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ДВУХ ПОПУЛЯЦИЙ БЕЛОГО ТОЛСТОЛОБА (*HYPOPHTHALMICHTHYS MOLITRIX* VAL.) И КАРПА (*CYPRINUS CARPIO* L.) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ МАРКЕРОВ**

Основным объектом рыбоводства в Украине, как и в большинстве стран является карп. Европейский одомашненный карп (*Cyprinus carpio* L.) по своему происхождению является объектом долгой доместикации сазана. Приблизительно 400 лет его выращивают в Китае и несколько столетий в Европе. Методами прямого и обратного скрещивания было выведено много пород и внутривидовых типов. Актуальным заданием для карповодства в Украине — выведение новых пород и внутривидовых типов украинского карпа, сохранение и закрепление генетически ценных существующих пород, сохранение генофонда редких массивов карпа, создание гетерогенных племенных стад, выведение новых региональных внутривидовых типов карпа. Белый толстолоб *Hypophthalmichthys molitrix* Val.) является аборигенным

видом в Китае, в настоящее время выращивание ведется в различных регионах Азии и составляет 20% (больше 3 млн т.) мирового воспроизводства карповых рыб [1, 2]. Молодь (белого амура, белого и пестрого толстолобов) выловленная в р.Янцзы была завезена на территорию европейской части СССР в 1958 г. из КНР. С 1958 по 2006 гг. В Украине было получено 6 последовательных поколений селекций белого толстолоба на приспособленность к заводским технологиям [3]. С целью предупреждения инбредной депрессии и обновления генофонда завозили растительноядных рыб из КНР в 1972 г.— отловленных в р.Амур, а в 1986–1988 гг. И 1998 г.— заводского происхождения [4]. В тоже время следует отметить, что в течении последних десятилетий из-за продолжительного отсутствия в Украине целенаправленной четко отработанной стратегии селекционно-племенной работы с растительноядными рыбами в условиях искусственного воспроизводства и ограниченной интродукции из водоемов естественного ареала, возникла дестабилизация генетической структуры племенного материала данных видов рыб, к которым относится и белый толстолоб.

В настоящее время наиболее перспективными для популяционно-генетических исследований рыб являются молекулярно-генетические маркеры, в особенности микросателлитные локусы ДНК. Микросателлиты — это короткие тандемные повторы (STR) последовательностей состоящих из 2–6 пар нуклеотидов которые широко применяются в качестве маркеров генетического полиморфизма [5, 6]. Открытый в 80-х годах феномен полиморфизма длины мини- и микросателлитных последовательностей ДНК лег в основу молекулярно-генетического идентификационного анализа [7, 8].

В отечественной литературе почти отсутствуют данные о состоянии генетической структуры маточных стад белого толстолоба и карпа полученные на молекулярно-генетическом уровне. Изучение генетической дифференциации рыб дальневосточного комплекса (преимущественно азиатских популяций) проводились лишь несколькими зарубежными исследователями [9, 10]. Практически отсутствуют работы отечественных авторов, в которых были бы представлены сравнительные характеристики разных методов анализа с использованием ДНК-маркеров.

Целью данной работы было исследование генетической структуры маточных стад белого толстолоба и карпа; оценка характера генетических процессов в этих популяциях с помощью микросателлитных маркеров, определение частот аллелей, уровни их гетерозиготности, индекса полиморфизма (PIC) и вероятности исключения ошибочного совпадения аллелей (PE) — характерных для данных популяций.

#### **Материалы и методы**

Материалом для исследования служила ДНК, выделенная из фрагментов спинных плавников отобранных в период весенней бонитировки в 2009 г. от производителей белого толстолоба (Лиманское рыбководное хозяйство) и карпа (Черниговрыбхоз и Лиманское рыбководное хозяйство). Объектом

исследований были 13 особей белого толстолоба и 23 особи карпа. ДНК выделяли по стандартной методике с использованием набора “ДНК-сорб”.

В результате проведенного нами анализа литературных данных [9, 10] для проведения микросателлитного анализа были отобраны шесть праймеров наиболее подходящих для популяционных исследований карповых видов рыб. ПЦР-реакцию проводили в амплификаторе Applide Biosystems при следующих условиях: денатурация — 3 мин при 94°, отжиг — 30 с при 94°, 30 с при 60°, 30 с при 72° — 30 циклов, элонгация — 5 мин при 72°. Продукты амплификации денатурировали формамидом (Sigma) и разделяли методом капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе “ABI Prism 3130” Genetic Analyzer (Applied Biosystem, США). Определение размеров аллелей осуществляли с помощью программы “Gene Mapper 3.7.” (Applied Biosystem, США) используя стандарт “Genescane-LIZ 500” (Applied Biosystem, США).

Оценку спектра и частот идентифицированных аллелей производили с помощью подсчета и анализа полученных генотипов. Индексы наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности (Hobs, Hexp), полиморфизма (PIC), а так же вероятности исключения ошибочного совпадения аллелей (PE) были рассчитаны при помощи программ Cervus 3.0.3 [11] и PowerStatsV12.

### **Результаты и обсуждение**

В результате проведенной работы выявлено для обеих популяций общие аллельные варианты по локусу MFW7 — 190 и 192 п.н. (табл. 1). В популяции белого толстолоба данные аллельные варианты встречаются с частотой 0,115 и 0,423, соответственно, а в популяции карпа с частотой 0,370 и 0,152, соответственно.

Популяция белого толстолоба оказалась более консолидированной в сравнении с популяцией карпа по локусу MFW9, о чем свидетельствуют обнаруженные 12 аллельных вариантов по данному локусу в популяции (*Syr-rinus carpio* L.). Следует отметить, что общим для обеих популяций является аллельный вариант 115 п.н., который встречается с различной частотой (для белого толстолоба 0,231 и для карпа 0,152).

Подобная ситуация наблюдается и по локусу Hmo11 — в обеих популяциях выявлены одинаковые аллельные варианты — 142 и 154 п.н. Аллельный вариант 142 п.н. встречается в обоих видах приблизительно с одинаковой частотой (для белого толстолоба 0,077 и для карпа 0,043). Аллельный вариант 154 п.н. в популяциях белого толстолоба и карпа встречается с частотой 0,385 и 0,065 соответственно.

По локусу Hmo37 популяция карпа является более консолидированной в сравнении с популяцией белого толстолоба. Так, только у представителей белого толстолоба было выявлено аллельные варианты 142, 148, 172, 184 п.н. с частотами 0,154, 0,269, 0,038, 0,192 соответственно. Аллельный вариант 190 встречается в обеих популяциях с частотами для белого толстолоба 0,346 и для карпа 0,043

Расчет параметров гетерозиготности показал (табл. 2), что белый толстолоб имеет тенденцию к гетерозиготизации по локусу, Hmo11 (наблю-

Таблица 1

**Количество и частота идентифицированных аллелей у белого толстолоба и карпа**

Назв. локуса	Кол-во аллелей	Аллель/частота					
Белый толстолоб (n=13)							
MFW7	6	168 (0,077)	172 (0,038)	176 (0,077)	188 (0,269)	190 (0,115)	192 (0,423)
MFW9	5	91 (0,115)	115 (0,231)	119 (0,115)	121 (0,500)	131 (0,038)	-
Hmo11	3	142 (0,077)	146 (0,538)	154 (0,385)	-	-	-
Hmo37	5	142 (0,154)	148 (0,269)	172 (0,038)	184 (0,192)	190 (0,346)	-
Карп (n=23)							
MFW7	4	190 (0,370)	192 (0,152)	264 (0,326)	266 (0,152)	-	-
MFW9	12	81 (0,130)	83 (0,022)	85 (0,109)	87 (0,109)	89 (0,022)	95 (0,065)
		109 (0,022)	111 (0,022)	113 (0,022)	115 (0,152)	117 (0,174)	125 (0,152)
Hmo11	6	142 (0,043)	154 (0,065)	158 (0,739)	162 (0,087)	166 (0,022)	170 0,043
Hmo37	2	184 (0,478)	190 (0,043)	-	-	-	-

Таблица 2

**Индексы гетерозиготности, полиморфизма и вероятности исключения случайного совпадения аллелей для микросателлитных маркеров белого толстолоба и карпа**

Название локуса	Белый толстолоб (n=13)					Карп (n=23)					
	Кол-во аллелей	Hobs	Hexp	PIC	PE	Кол-во аллелей	Hobs	Hexp	PIC	PE	
MFW7	6	0,692	0,751	0,682	0,416	4	0,957	0,727	0,658	0,912	
MFW9	5	0,385	0,695	0,625	0,105	12	0,696	0,896	0,863	0,422	
Hmo11	3	0,923	0,578	0,465	0,843	6	0,130	0,447	0,420	0,014	
Hmo37	5	0,308	0,794	0,725	0,543	2	0,000	0,510	0,375	0,000	
Среднее	4,75	0,577	0,704	0,624	0,476	6	0,445	0,645	0,579	0,337	
CPE					0,962	CPE					0,950

даемая гетерозиготность (0,933) выше ожидаемой (0,578)), а у карпа — по локусу MFW7 (0,447, соответственно). По остальным же локусам, как и по все панели в целом, как видно из табл. 2 по средним популяционным значениям показателей гетерозиготности (Hobs, Hexp) оба вида выявляют тенденцию к гомозиготизации.

Рассчитанные для обеих исследованных популяций индексы полиморфизма (PIC) свидетельствуют о высоком уровне полиморфизма данных видов ( $PIC > 0,550$ ). По локусу MFW9 более полиморфной была популяция карпа. По локусам MFW7, Hmo11, Hmo37 в частности, как и по всей панели в целом, популяция белого толстолоба характеризовалась более высоким уровнем полиморфизма, несмотря на то, что в популяции карпа выявлено большее количество аллельных вариантов.

Проведенные исследования дают возможность сделать выводы касательно информативности, как отдельных праймеров, так и выбранной панели в целом. В популяции белого толстолоба высокое значение вероятности исключения ошибочного совпадения аллелей (PE ( $PE > 600$ )) зафиксировано для локуса Hmo11 (0,843), в популяции карпа высокие значения PE зафиксировано для локуса MFW7 (0,912). Для остальных локусов в популяции белого толстолоба и карпа характерны низкие показатели вероятности исключения случайного совпадения аллелей. Комбинированная вероятность исключения случайного совпадения аллелей (CPE) для популяции белого толстолоба составила 0,962 (96,2%), для популяции карпа — 0,950 (95,0%), что свидетельствует о высоком уровне информативности выбранной панели микросателлитных маркеров для популяционных исследований белого толстолоба и карпа.

### **Выводы**

В результате проведенных исследований генетической структуры популяций маточных стад белого толстолоба и карпа с использованием микросателлитных маркеров установлены отличия в генетической структуре по частотам и количеству аллелей, которые определены маркерами MFW7, MFW9, Hmo11, Hmo13, Hmo34, Hmo37.

Проведенные исследования показали, что исследованная популяция белого толстолоба является более консолидированной по локусам MFW7 и Hmo11 и более гетерогенной по локусам MFW7 и Hmo37. В каждом из исследованных микросателлитных локусов ДНК определено ряд аллельных вариантов которые являются общими для представителей обоих видов. В тоже время, данная работа показала и отличия между данными видами. Так для белого толстолоба характерны аллельные варианты с меньшим количеством повторов по локусу MFW7 (168–192 п.н.), Hmo37 (142–190 п.н.), Hmo11 (142–154 п.н.) и большим количеством по локусу MFW9 (91–131 п.н.).

Использование предложенной микросателлитной панели маркеров для генотипирования карповых видов рыб, в частности белого толстолоба и карпа дает дополнительные возможности для проведения комплексной оценки видов, которые используются в Украине, а так же для контроля качества племенного материала.

Данная работа является первой в ряде запланированных исследований генетической структуры популяций разных видов, пород и внутривидовых типов рыб.

## Литература

1. Gyeyas A.A. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), and cross-amplification in other cyprinid species/ A.A. Gyeyas, M. Cairney, A.E. Gilmour, M.A. Sattar, T.K. Dass, B.J. McAndrew, D.J. Penman, J.B. Taggart // *Molecular Ecology Notes*.— 2006.— Vol.6.— P. 656–659.
2. FAO –Fish stat Plus, version 2.30 / Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.— 2005.— Режим доступа: <http://www.fao.org/fi/statist/FISOFT/FISHPLUS/asp>.
3. Шерман І.М. Селекція і промислова гібридизація в рибицтві. Рослиноідні риби // Організація селекційно-плеємінної роботи в рибицтві.— К.— 2006.— С. 79–115.
4. Богерук А.К. Каталог пород, кроссов и одомашненных форм рыб России и СНГ/ А.К. Богерук, Н.Ю. Евтихина, Ю.И. Ильясов.— М., 2001.— 208 с.
5. Алтухов Ю.П. Балансирующий отбор как возможный фактор поддержания единообразия аллельных частот ферментных локусов в популяциях тихоокеанского лосося — горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) // *Генетика*, 1987.— Т.23.— №10.— С. 1884–1896.
6. Животовский Л.А. Селективные процессы по ферментным локусам у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walbaum) // *Генетика*, 1987.— Т.23.— №10.— С. 1876–1883.
7. Иванов П.Л. Использование индивидуализирующих систем на основе полиморфизма длины амплифицируемых фрагментов (ПДАФ) ДНК в судебно-медицинской экспертизе идентификации личности и установления родства. Методические указания №98/253 // *Судебно-медицинская экспертиза*.— 1999, №5.— С. 35–41.
8. Калнина О.В., Калнин В.В. Новые возможности молекулярных маркеров в популяционных исследованиях // Молекулярно-генетические маркеры животных: тез. док. I Международной конференции по молекулярно-генетическим маркерам животных, 27–29 ян. 1994 г.— К.: Аграрна наука, 1994.— С. 57–58.
9. Gheyas A.A., Cairney M. Characterization of microsatellite loci in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*), and cross-amplification in other cyprinid species // *Molecular Ecology Notes*.— 2006.— №6.— P. 656–659.
10. Gen Hua Yuea, Mei Yin Hoa, Laszlo Orbana. Microsatellites within genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp// *Aquaculture*.— 2004.— Vol.234.— P. 85–98.
11. Marshall T.C., Slate J., Kruuk L., Pemberton J.M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations // *Mol. Ecol.*— 1998.— 7.— P. 639–655.

## Резюме

Проведены исследования генетической структуры популяций белого толстолоба и карпа с использованием микросателлитных маркеров. Установлен ряд видоспецифических особенностей размеров аллелей исследованных микросателлитных локусов ДНК MFW7, MFW9, Hmo11, Hmo37.

Проведені дослідження генетичної структури популяцій білого товстолоба та коропа за використанням микросателітних праймерів. Встановлено ряд видоспецифічних відмінностей розмірів алелей генетичних локусів MFW7, MFW9, Hmo11, Hmo37.

Microsatellite analysis of two populations silver carp and common carp was carried out in order to detect inter species polymorphism. It was found the species differences in alleles range of analyzed loci in MFW7, MFW9, Hmo11 and Hmo37.

## МЕХАНІЗМИ ВЗАЄМОДІЇ ТА ЕКСПРЕСІЇ ГЕНЕТИЧНИХ СИСТЕМ

ДУБОВЕЦ Н.И., БОНДАРЕВИЧ Е.Б., СОЛОВЕЙ Л.А., ШТЫК Т.И.,  
СЫЧЕВА Е.А.

*Институт генетики и цитологии НАН Беларуси,*

*Беларусь, 220072, Минск, ул. Академическая, 27, e-mail: N.Dubovets@jgc.bas-net.by*

### **ИССЛЕДОВАНИЕ ЭФФЕКТОВ ИНТРОГРЕССИИ ХРОМОСОМ D-ГЕНОМА ПШЕНИЦЫ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ КОЛОСА РЕКОМБИНАНТНЫХ ФОРМ ГЕКСАПЛОИДНЫХ ТРИТИКАЛЕ**

Ранее нами были получены данные, свидетельствующие о перспективности синтеза гексаплоидных тритикале с множественными D(A)- и D(B)-замещениями хромосом [1, 2]. Было показано, что формы, содержащие 3–4 межгеномных замещения, характеризуются высокой цитологической стабильностью и, как следствие этого, сохраняют в своем кариотипе интродуцированные хромосомы D-генама в ряду последующих поколений, имеют более высокое содержание белка и улучшенное качество клейковины. В то же время по основным показателям продуктивности формы с реконструированным кариотипом (вне зависимости от количества пар замещенных хромосом), как правило, уступали “чистым” гексаплоидным тритикале. В связи с этим на линейном материале были начаты работы по исследованию эффектов различных типов модификаций ядерного генома тритикале на экспрессию признаков продуктивности.

#### **Материалы и методы**

Материалом для исследования послужили линии гексаплоидных тритикале с D(A)- и D(B)-замещениями хромосом, выделенные из гибридного материала от скрещивания различных форм 8х- х 4х-тритикале (таблица).

Комбинация скрещивания	Линия	Типы межгеномных замещений хромосом
25АД20 х ПРАТ21	М I(1)-1	1D(1A), 2D(2B), 6D(6B)
	М I(1)-2	1D(1A), 2D(2B)
	М II(3)-1	1D(1A), 2D(2B), 3D(3A), 6D(6B)
	М II(3)-2	1D(1A), 2D(2B), 3D(3A) и 6D(6A)
	MY(5)-1	1D(1A), 2D(2B) (T5RS.5AL)
	MY(5)-2	1D(1A), 2D(2B)
ПРАО1 х ПРАТ72	4(2)-1	1D(1A), 2D(2A), 4D(4B), 7D(7A)
	4(2)-2	2D(2A), 4D(4B), 7D(7A)
ПРАД20 х ПРАТ72	8	1R(1A), 3D(3B), 4D(4B)

Гибридный материал был маркирован с использованием молекулярно-цитогенетических маркеров (С-бэндов) [3].