

целесообразно отбирать животных, несущих положительную генетическую информацию по В-аллелям групп крови, индивидуально для данной популяции. Так в стаде животных местной селекции НПО «Баймакское» обильномолочность коров обусловлена аллелями  $Y_1A_1'Y'$ ,  $Y_1A_1'A_2'Y'$  и  $Y_1A_1'A_2'O'$ , а высокая жирномолочность связана присутствием аллеля  $I_2QO'$ . Данные аллели могут быть использованы в селекционной работе в качестве генетических маркеров для раннего прогнозирования продуктивности животных. Среди коров австрийской селекции в данном хозяйстве желательны животные-носители аллелей  $Q'$ ,  $E_3'Q'$ ,  $E_3'Y'$ ,  $Q'Y'$  и  $E_3'I'Q'$ , и селекционный процесс необходимо направить на уменьшение численности животных с аллелями  $B_2I_2$  и  $B_2O'G''_2$ .

### **Библиографический список**

1. Литвинов, И.В., Анализ связи ЕАВ-системы групп крови с хозяйственно-биологическими признаками черно-пестрого скота [Текст] / И.В.Литвинов, С.Е. Тяпугин, Н.Ю. Катышева, О.Н. Бургомистрова // Зоотехния. - 2005. - №4. - С. 2-4.
2. Попов, Н.А. Методические рекомендации по формированию генетической структуры стада и совершенствованию племенных качеств скота с использованием систем групп крови [Текст] / Н.А. Попов, А.М. Якушенков. - Дубровицы, ВИЖ, 1997. – 48с.
3. Рябов, Ю.К. Связь морфологических и биохимических показателей крови животных с мясной продуктивностью [Текст] / Ю.К. Рябов, П.Е. Ерофеева // Уральские нивы. - 1978. - №11. - С. 51-53.

УДК 575.1:595

Сурков А.А., Гончаренко Г.Г., Митрофанов В.Г.

УО «Гомельский государственный университет имени Франциска Скорины», Республика Беларусь, г. Гомель

## **ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ИНДИКАТОРНЫХ ВИДОВ-ДВОЙНИКОВ (DIPTERA: DROSOPHILIDAE) В ПРИРОДНЫХ ПОПУЛЯЦИЯХ**

**Ключевые слова:** *виды-двойники; Drosophila littoralis littoralis; D. lummei; протеомные маркёры; природные популяции.*

### **Введение**

Генофонд индикаторных видов-двойников отражает характер генетической устойчивости природной экосистемы в целом [1]. Анализ генетической структуры и состояния популяционных генофондов индикаторных видов-двойников двукрылых семейства *Drosophilidae* Беларуси и сопредельных территорий практически не проводился.

### Цель и задачи исследования

Целью нашей работы было изучение состояния генофондов двух индикаторных видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* из природных популяций приуроченных к речным и озёрным экосистемам Беларуси и сопредельных территорий, на основе анализа протеомных маркёров (изоферментов).

### Материалы и методы исследования

В настоящее время на территории Беларуси и сопредельных стран в природных популяциях найдены два представителя *Drosophila* группы *virilis*: *D. littoralis littoralis* Meigen и *D. lummei* Hackman (рисунок 1). Они обитают вблизи незагрязненных водотоков и водоемов, буквально в литоральной зоне. За пределами пресных водоёмов эти виды отсутствуют.

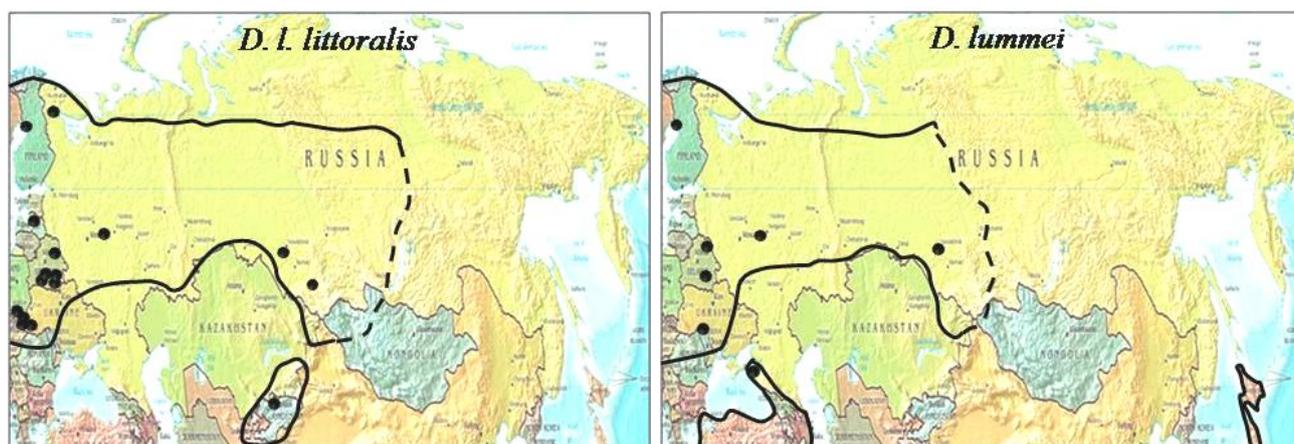


Рисунок 1 Места взятия выборок и распространение двух палеарктических видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* на территории Беларуси и сопредельных стран [6-9]

В ходе исследования взрослые особи двух видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* анализировались методом электрофореза. Каждая особь гомогенизировалась в 25 мкл дистиллированной воды или гелевого буфера. Электрофоретическое фракционирование гомогенизированных экстрактов индивидуальных особей проводилось нами по 11 ферментам в 13-14% крахмальном геле с использованием двух буферных систем: А) трис-ЭДТА-боратная, рН 8.6; В) трис-цитрат, рН 6.2. Все параметры электрофоретического фракционирования, а также экстракция и гистохимическое выявление ферментов подробно приведены нами ранее [2-4]. Каждая муха была исследована по 14 генам, кодирующим 11 ферментов. Обозначение выявленных электрофоретических вариантов дано по общепринятой номенклатуре Пракаша с соавторами [5], в соответствии с которой наиболее часто встречающийся электрофоретический вариант по каждому локусу и кодирующий его аллель обозначались символом 1.00, а все другие аллельные варианты, встреченные у проанализированных нами видов *Drosophila* группы

*virilis* обозначены цифровыми символами в зависимости от их электрофоретической подвижности относительно 1.00. Нулевые аллели обозначены символом 0.

Всего проанализировано 23 природные популяции, в которых нами было выявлено, по 11 ферментным системам, 42 различных электрофоретических варианта (электроморфа) у *D. l. littoralis* и 28 - у *D. lummei*.

### Результаты исследования

В результате проведенного нами всестороннего генетического анализа двух представителей *Drosophila* группы *virilis* было установлено, что все 56 электроморфов находятся под генетическим контролем 14 локусов (протеомных маркеров). В проведенных исследованиях нами использованы протеомные маркеры только с установленной генетической детерминацией. Все выявленные аллельные варианты и их относительная электрофоретическая подвижность наглядно изображены на рисунке 2.

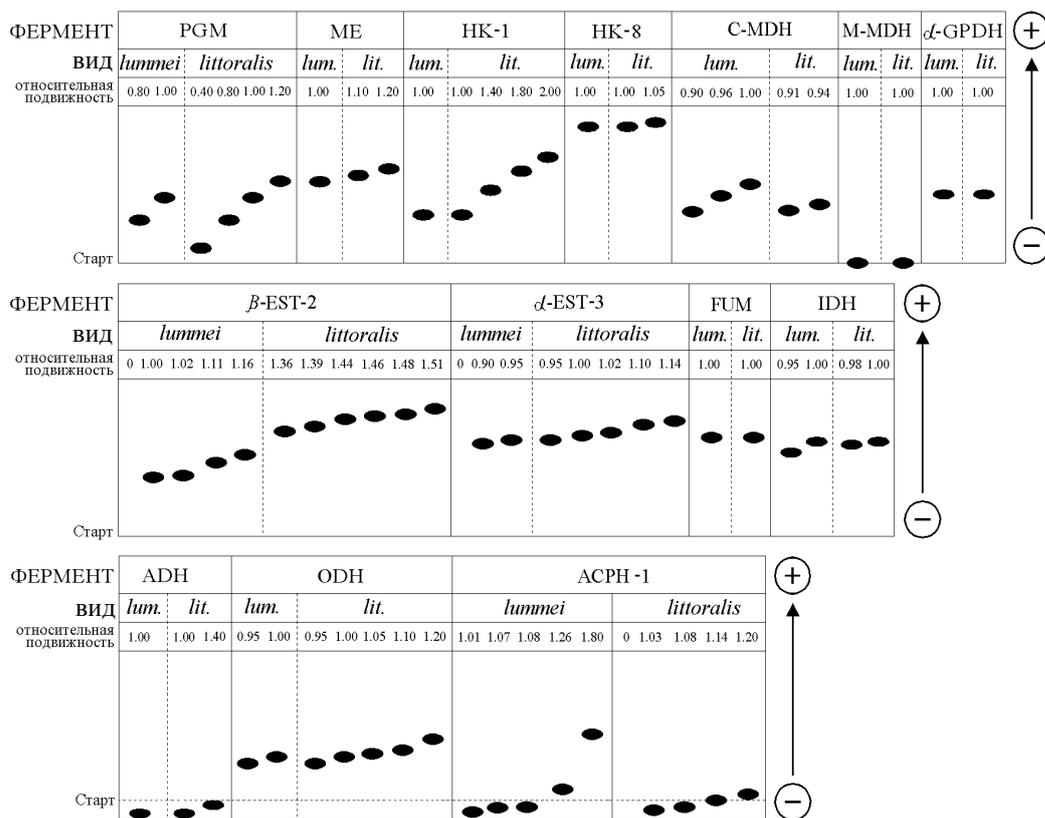


Рисунок 2 Схематическое изображение и обозначение электрофоретических спектров

Для оценки генетической структуры были рассчитаны частоты встречаемости аллелей в популяциях двух исследованных видов-двойников *Drosophila* группы *virilis*, которые наиболее точно отражают генетическую

структуру и являются эволюционно сложившейся характеристикой для каждой популяции.

В таблице 1 представлены аллельные частоты по 14 локусам у *D. l. littoralis* и *D. lummei* в природных популяциях Беларуси и сопредельных территорий (Россия, Украина и Балтия).

Таблица 1 - Аллельные частоты по 14 протеомным маркерам *D. l. littoralis* и *D. lummei*

Локус	Аллели	<i>D. l.littoralis</i>	<i>D. lummei</i>	Локус	Аллели	<i>D. l.littoralis</i>	<i>D. lummei</i>	
PGM	n <sup>1)</sup>	570	99	АСРН-1	n	603	98	
	0.40	.018	.000		0	.001	.000	
	0.80	.958	.929		1.01	.000	.020	
	1.00	.019	.071		1.03	.017	.000	
	1.20	.005	.000		1.07	.000	.051	
ME	n	605	98		1.08	.858	.643	
	1.00	.000	1.000		1.14	.071	.000	
	1.10	.002	.000		1.20	.053	.000	
	1.20	.998	.000		1.26	.000	.276	
HK-1	n	539	96		1.80	.000	.010	
	1.00	.011	1.000		ADH	n	535	96
	1.40	.978	.000		1.00	.002	1.000	
	1.80	.007	.000		1.40	.998	.000	
	2.00	.004	.000		$\alpha$ -GPDH	n	34	66
HK-8	n	539	96	1.00		1.000	1.000	
	1.00	.998	1.000	ODH		n	133	32
	1.05	.002	.000	0.95		.015	.031	
$\beta$ -EST-2	n	609	100	1.00	.917	.969		
	0	.000	.050	1.05	.023	.000		
	1.02	.000	.870	1.10	.038	.000		
	1.11	.000	.010	1.20	.007	.000		
	1.16	.000	.070	FUM	n	525	44	
	1.36	.002	.000		1.00	1.000	1.000	
	1.39	.002	.000		C-MDH	n	188	90
	1.44	.074	.000	0.90	.000	.044		
	1.46	.021	.000	0.91	.952	.000		
	1.48	.575	.000	0.94	.048	.000		
	1.51	.326	.000	0.96	.000	.056		
$\alpha$ -EST-3	n	594	95	1.00	.000	.900		
	0	.000	.042	M-MDH	n	188	90	
	0.90	.002	.905	1.00	1.000	1.000		
	0.95	.178	.053	IDH	n	34	90	
	1.00	.052	.000	0.95	.000	.011		
	1.02	.332	.000	0.98	.912	.000		
	1.10	.296	.000	1.00	.088	.989		
1.14	.140	.000						

Примечание: <sup>1)</sup>n - число проанализированных геномов

В ходе анализа особей двух видов оказалось, что локусы FUM,  $\alpha$ -GPDH, M-MDH являются мономорфными, причём по этим генам у исследованных видов группы *virilis* найден только один аллель. Наибольшая изменчивость обнаружена по генам, кодирующим  $\alpha$ -эстеразы-3,  $\beta$ -эстеразы-2, кислотную фосфотазу-1. В каждом из этих локусов встретилось более 7 аллелей.

На основании найденных частот встречаемости аллелей нами были вычислены параметры показателей, определяющих уровень изменчивости у представителей видов-двойников *Drosophila* группы *virilis*: *D. l. littoralis* и *D. lummei*. Значения основных показателей изменчивости приведены в таблице 2.

Таблица 2 - Основные показатели изменчивости у двух исследованных видов-двойников *Drosophila* группы *virilis*

Название видов	Доля полиморфных локусов		Среднее число аллелей		Среднеожидаемая гетерозиготность (ошибка)
	95% критерий	99% критерий	с частотой > 0%	с частотой > 1%	
<i>D. l. littoralis</i>	0.357	0.571	3.000	2.286	0.149 (0.075)
<i>D. lummei</i>	0.357	0.500	2.000	1.857	0.094 (0.068)

Исходя из полученных данных, следует сказать, что в целом *D. l. littoralis* обладает существенным запасом генетической изменчивости, поскольку у нее около 60% локусов находится в полиморфном состоянии, количество аллелей на локус достигает 2.3, а каждая особь гетерозиготна в целом по 15% своих генов. Именно столь существенный запас генетической изменчивости, по-видимому, объясняет высокую экологическую пластичность данного вида, позволяя ему занимать огромный ареал Северной Евразии и иметь высокую численность особей в популяциях.

Исследование второго вида-двойника *D. lummei* показало, что здесь ситуация существенно отличается. Как видно из таблицы 2 только 50% локусов у данного вида находится в полиморфном состоянии, количество аллелей на локус не превышает 1.86, а каждая особь в среднем гетерозиготна лишь по 9.4% своих генов.

Относительно низкая гетерозиготность у вида-двойника – *D. lummei* сопровождается редкой численностью особей, большим количеством (до 50 %) неоплодотворённых самок.

В результате анализа частот встречаемости нулевых аллелей в природных популяциях 2 видов-двойников с использованием разработанной тест-системы [10] установлено, что у *D. lummei* наблюдается более высокая концентрация нулевых аллелей, чем у *D. l. littoralis*, указывающая на значительный сегрегационный груз и неблагоприятное состояние генофонда в популяциях *D. lummei*.

Нам не удалось обнаружить ни одной особи *D. lummei*, которая была бы гомозиготна по нулевым аллелям сразу в двух локусах. По-видимому, такое сочетание у *D. lummei* приводит к летальному исходу и отчасти может объяснять низкую плодовитость самок этого вида в природных популяциях.

### **Выводы**

Таким образом, проведенный молекулярно-генетический анализ, по 14 протеомным маркерам у индикаторных видов-двойников *D. l. littoralis* и *D. lummei*, позволяет отслеживать изменения в генетической структуре, и тем самым формирует базу для эколого-генетического мониторинга, поскольку дает возможность улавливать все мутантные варианты появляющиеся в природных популяциях в результате загрязнения и при ухудшении экологической обстановки водной и околородной среды.

Работа выполнялась в рамках программы ГПОФИ «Радиация и антропоэкология», а так же договора о научном сотрудничестве между Учреждением образования «Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины» и Учреждением РАН «Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова», г. Москва.

### **Библиографический список**

1. Левонтин, Р. Генетические основы эволюции: Пер. с англ. / Р. Левонтин. - М.: Мир, 1978. – 352 с.
2. Гончаренко, Г.Г. Изучение биохимического полиморфизма у *Drosophila imeretensis* в природных популяциях Краснодарского края/ Г.Г. Гончаренко, В.Г. Митрофанов, А.Н. Катохин // Генетика. – 1984. – Т. XX. № 4. – С. 620-627.
3. Гончаренко, Г.Г. Аллозимная диагностика видов-двойников *Drosophila* группы *virilis*/ Г.Г. Гончаренко // ДАН СССР. – 1987. – Т. 295. № 4. – С. 976-980.
4. Сурков, А.А. Методический подход к исследованию генофондов короткоусых двукрылых *Drosophila* группы *virilis* в природных популяциях Беларуси / А.А. Сурков, Г.Г. Гончаренко, В.Г. Митрофанов, Л.И. Корочкин / Изв. Гомельского гос. ун-та им. Ф. Скорины.– 2003.– № 5 (20). – С. 50-54
5. Prakash, S. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. IV. Patterns of genic variation in central, marginal and isolated populations of *Drosophila pseudoobscura* / S. Prakash, R.C. Lewontin, J.L. Hubby // Genetics, 1969. – V. 61. – P. 841–858.
6. Гончаренко, Г.Г. Электрофоретический ключ для типировки взрослых особей двойниковых видов *Drosophila* группы *virilis*, обитающих в Палеарктике / Г.Г. Гончаренко, И.М. Емельянов // Докл. АН СССР. – 1990. – Т. 313. № 2. – С. 448-452.
7. Goncharenko, G.G. An electrophoretic key to adult members of the sibling species belonging to the *Drosophila virilis* group (*Diptera, Drosophilidae*) inhabiting Soviet Union and adjacent countries / G.G. Goncharenko, I.M. Emelianov // Z. zool. Syst. Evolut.-forsch. – 1992. – V. 30. – P. 281-286.

8. Lakovaara, S. The use of isoenzymes in tracing evolution and in classifying *Drosophilidae* / S. Lakovaara, A. Saura, P. Lankinen, L. Pohjola, P. Lokki // Zool. Scr., 1976. V.5. – P.173-179.

9. Throckmorton L.H. The *virilis* species group In M. Ashburner and E. Novitsky [eds.], The genetics and biology of *Drosophila* / L.H. Throckmorton. - London, Academic. – 1982. – V. 3B. – P. 227-297.

10. Сурков, А.А. Тест-система для выявления нулевых вариантов в генах, ответственных за синтез ключевых ферментов у видов-двойников *Drosophila* группы *virilis* / А.А. Сурков, Г.Г. Гончаренко // Известия Гомельского гос. ун-та им. Ф. Скорины. – 2005. – №4. – С. 61-68.

УДК 636.082.12.002.6

Траспов А.А., Зиновьева Н.А., Долматова И.Ю.  
ФГБОУ ВПО Башкирский ГАУ, г. Уфа, Россия

## **ЧАСТОТЫ АЛЛЕЛЕЙ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ В ГРУППАХ КОРОВ С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ МОЛОЧНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ**

***Микросателлиты, аллели, продуктивность, крупный рогатый скот, ПЦР, ДНК-маркеры***

В настоящее время выявлено большое число микросателлитных маркеров (МС) у различных видов сельскохозяйственных животных. Все идентифицированные на сегодня МС domesticированных животных зарегистрированы в международном генном банке (GenBank или EMBL). Известно около 300 микросателлитных маркеров крупного рогатого скота. В соответствии с рекомендациями международного общества генетики животных (ISAG) в панель для проведения исследований на достоверность происхождения рекомендуется включение 9-и маркеров, которые получили название «международного набора» маркеров или панели ISAG: BM1824, BM2113, INRA023, SPS115, TGLA122, TGLA126, TGLA227, ETH10, ETH225.

Эти маркеры являются обязательными для использования с целью возможности сопоставления данных, получаемых в различных лабораториях. По мнению Кленовицкого П.М. [2], необходимо изучать связь генетических маркеров с количественными признаками. Это совершенно справедливо, потому что основная цель селекции – это увеличение продуктивности животных, т.е. в конечном итоге продуктов питания.

Материалом служили пробы ДНК, выделенные из ткани коров (ушной выщип и кровь) чёрно-пёстрой породы ГУСП «Агрофирма Стерлитамакская» РБ (СНР\_AGRO). Выделение ДНК проводили с помощью колонок фирмы Nexttec (Германия) и с использованием набора реагентов для выделения ДНК DIAtom<sup>TM</sup> DNA Prep100 (ООО «Компания «Биоком», г. Москва) согласно рекомендациям фирмы-производителя. Анализ ДНК и постановку ПЦР