

УДК 575

ПОПУЛЯЦИОННО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
ДОМСТИКАЦИИ

В.И. ГЛАЗКО

Выполнен сравнительный анализ генетических структур групп domesticiрованных и близкородственных диких видов животных *Ungulata* и растений (сорта *Glycine max* и предковый вид *Glycine ussuriensis*) с использованием оценок полиморфизма электрофоретических вариантов белков и фрагментов ДНК, фланкированных декануклеотидами и микросателлитными локусами (RAPD-PCR, ISSR-PCR маркеры). Доместцированные виды отличались от диких повышенным полиморфизмом по ферментам метаболизма экзогенных субстратов, пониженным — по ферментам метаболизма глюкозы, а также повышенной частотой встречаемости коротких фрагментов ДНК в спектрах продуктов амплификации RAPD-PCR и ISSR-PCR маркеров. Обсуждаются возможные механизмы популяционно-генетической дифференциации между группами domesticiрованных и диких видов.

Доместикация является уникальной моделью формообразования под влиянием отбора. «Эволюция волей человека» называл процесс domestикации Н.И. Вавилов. Изучение механизмов domestикации могло бы внести существенный вклад в понимание процессов формообразования, механизмов искусственного отбора и, соответственно, в поиски путей управления ими. Одна из особенностей domesticiрованных видов хорошо известна — это повышенная фенотипическая изменчивость [1]. Так, принято считать, что в настоящее время в мире имеется около 4,5 тыс. видов млекопитающих (среди которых встречаются виды-близнецы). А 5 основных с.-х. видов млекопитающих (козы, овцы, крупный рогатый скот, лошади, свиньи) по каталогу ФАО, составленному в 2005 г. по 180 странам, формируют 4920 фенотипически дифференцирующихся по разным морфологическим признакам пород (www.fao.org), что существенно больше всего видового разнообразия всех

живущих млекопитающих. Такая уникальная фенотипическая пластичность с.-х. видов нуждается в специальном популяционно-генетическом объяснении.

Изучив морфофизиологические особенности различных видов домашних животных С.Н. Боголюбский пришел к фундаментальному выводу о том, что имеются общие признаки domestикации, объединяющие различные виды домашних животных и отличающие их от диких видов [1]. Следует отметить, что параллелизм изменчивости признаков характерен при domestикации для эволюции различных групп организмов, частота их проявления не зависит от таксономического ранга, обнаруживается в царствах животных [1] и растений [10, 12], и в каждом царстве параллелизм изменчивости наблюдается по приблизительно одинаковым морфологическим признакам. В то же время параллельные изменения признаков в условиях domestикации у видов, достаточно далеких по происхожде-

нию, свидетельствуют о наличии специфических генных комплексов, попадающих под давление искусственного отбора. В последние годы накапливаются данные о коэволюции генофондов человека и доместичированных видов как животных [5], так и растений [9]. В этой связи особый интерес представляют сравнительные исследования генофондов доместичированных и диких близкородственных видов, поскольку выявление специфических черт генофондов с.-х. видов может способствовать более успешному их использованию и сохранению. В настоящей работе выполнен сравнительный анализ полиморфизма ряда структурных генов и фрагментов ДНК, фланкированных короткими инвертированными повторами (RAPD-PCR, ISSR-PCR маркеров).

Материалы и методы

Выполнены сравнительные исследования генофондов доместичированных и близкородственных диких видов представителей 2 отрядов животных — *Artiodactyla* (парнокопытных) и *Perissodactyla* (непарнокопытных), среди которых рассматривали дикие зоопарковые виды, воспроизводящиеся в биосферном заповеднике «Аскания-Нова», и некоторые породы крупного рогатого скота и лошадей, воспроизводимых в различных хозяйствах России и Украины. В общем, рассмотрено 12 видов животных (табл.1). В анализ также были включены популяционно-генетические оценки дифференциации последовательно 10, а затем дополнительно 8 (суммарно 18) сортов культурной сои (*Glycine max*) различных стран и 3 популяции дикой уссурийской сои, собранные в разных районах Дальнего Востока *Soja Glycine ussuriensis* Moench (предполагаемый предковый вид культурной сои)*.

Исходным материалом для электрофоретического анализа белков и изоферментов являлись образцы крови (плазма, эритроциты), а также образцы сердечной мышцы животных, гомогенизированные в 2%-м растворе тритон-100. С использованием крахмально-гелевого и полиакриламидного электрофореза с последующим стандартным гистохимическим окрашиванием гелей у животных исследован генетически детерминированный полиморфизм 30 генетико-биохимических систем: белки плазмы крови — альбумин (ALB), церулоплазмин (CP), трансферрин (TF), рецептор к витамину D (GC), α_1 ,P-гликопротеин (A1B), эстераза (ES, КФ 3.1.1.1), амилаза-1 (AM-1, КФ 3.2.1.1), щелочная фосфатаза (AP, КФ 3.13.1); ферменты эритроцитов и тканей — сорбитолдегидрогеназа (SORDH, КФ 1.1.1.14), лактатдегидрогеназа (LDH-1, LDH-2, КФ 1.1.1.27), малатдегидрогеназа (MDH, 1.1.1.37), малик-энзим (ME, КФ 1.1.1.40), 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (6-PGD, КФ 1.1.1.44), глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа (G6PD, КФ 1.1.1.49), диафороза (DP-1, КФ 1.6.4.3), супероксиддисмутаза (SOD-1, SOD-2, КФ 1.15.1.1), пуриннуклеозидфосфорилаза (PN, КФ 2.4.2.1), глутаматоксалацетаттрансназа (GOT, КФ 2.6.1.1), гексокиназа (HK, КФ 2.7.1.1), креатинкиназа (KK, КФ 2.7.3.2), аденилаткиназа (AK, КФ 2.7.4.3), фосфоглюкомутаза (PGM, КФ 2.7.5.1), карбоангидраза (CA, КФ 3.1.2), лейцинариламинопептидаза (LAP, КФ 3.4.11.1), пептидазы А,В (PEP А,В, КФ 3.4.11 или 13), аденозиндезаминаза (ADA, КФ 3.5.4.4), фумаратгидратаза (FH, КФ 4.2.1.2), глюкозофосфатизомераза (GPI, КФ 5.3.1.9), маннозофосфатизомераза (MPI, КФ 5.3.1.8).

Электрофоретическое разделение белков гомогенатов семян выполняли с использованием буферной системы 0,5 М ТЕБ (рН 8,0) в 14%-м крахмаль-

* Образцы семян растений для исследований любезно предоставлены д.б.н. В.В. Шерепитко (Украина) и к.б.н. И.В. Сеферова (ВИР, Россия).

Генетическая изменчивость domesticированных и диких видов *Ungulata*

| Вид, порода | n | P (%) | \bar{H}_e | \bar{H}_o | Полиморфные локусы |
|---|-----|-------|-------------|-------------|--|
| <i>Artiodactyla</i> | | | | | |
| Зубр | 40 | 20,0 | 0,065 | 0,080 | AMY-1, CP, PEP B, ME, ICD, PGM |
| Бизон | 10 | 20,0 | 0,090 | 0,094 | AMY-1, CP, PEP B, PGM, GPI, DP-1 |
| Серая украинская порода крупного рогатого скота | 34 | 30,0 | 0,146 | 0,155 | TF, pTF, GC, AMY-1, NP, AP, CA, CP, MPI |
| Белоголовая украинская порода крупного рогатого скота | 29 | 33,3 | 0,171 | 0,162 | TF, pTF, GC, AMY-1, NP, AP, CA, CP, MPI, PEP B |
| Лебединская порода крупного рогатого скота | 28 | 26,6 | 0,074 | 0,110 | TF, pTF, HB, CP, AMY-1, AP, CA, NP |
| Швицкая порода крупного рогатого скота | 36 | 26,6 | 0,086 | 0,120 | TF, pTF, CP, AMY-1, HB, NP, CA, AP |
| Бурая карпатская порода крупного рогатого скота | 20 | 23,3 | 0,097 | 0,098 | TF, pTF, GC, CP, AMY-1, HB, NP |
| Крупный рогатый скот породы пинцгау | 103 | 23,3 | 0,088 | 0,096 | TF, pTF, GC, CP, AMY-1, HB, NP |
| Якутская порода крупного рогатого скота | 9 | 23,3 | 0,093 | 0,105 | TF, pTF, GC, CP, AMY-1, HB, NP |
| Снежный баран | 6 | 16,7 | 0,077 | 0,089 | TF, MPI, AK, CK, GPI |
| Асканийский многоплодный каракуль | 34 | 30,0 | 0,101 | 0,124 | TF, HB, ME, LAP, ES, NP, LDR, DP, AP |
| Кулундинская овца | 18 | 30,0 | 0,091 | 0,110 | TF, HB, ME, LAP, ES, NP, LDR, DP, AP |
| Канна | 16 | 26,6 | 0,135 | 0,123 | TF, LAP, HK, CK, ME-1, ME-2, 6PGD, AP |
| Нильгау | 10 | 20,0 | 0,084 | 0,092 | 6PGD, G6PD, AK, LAP, FH, ME-1 |
| Гну | 4 | 16,7 | 0,080 | 0,090 | 6PGD, G6PD, ME, AK, CK |
| Сайгак | 6 | 16,7 | 0,052 | 0,052 | 6PGD, ME-1, PGM, AK, CK |
| Крупная белая порода свиней | 34 | 16,7 | 0,059 | 0,070 | TF, 6PGD, GPI, PGM, GC |
| <i>Perissodactyla</i> | | | | | |
| Зебра Чапмана | 3 | 13,3 | 0,067 | 0,058 | TF, ALB, GC, 6PGD |
| Зебра Гранта | 4 | 10,0 | 0,017 | 0,031 | TF, 6PGD, HK |
| Зебра Гриви | 3 | 3,3 | 0,022 | 0,018 | TF, 6PGD |
| Кулан | 10 | 23,3 | 0,082 | 0,102 | TF, 6PGD, G6PD, ME, AK, FH, AP |
| Осел | 7 | 13,3 | 0,042 | 0,051 | TF, ALB, 6PGD, PGM |
| Пони | 16 | 16,7 | 0,048 | 0,061 | TF, ES, GC, 6PGD, AP |
| Лошадь Пржевальского | 31 | 23,3 | 0,045 | 0,063 | TF, ALB, A1B, ES, 6PGD, GPI, PGM |
| Якутская порода лошадей | 25 | 20,0 | 0,078 | 0,086 | TF, ALB, ES, GC, 6PGD, GPI |
| Гуцульская порода лошадей | 23 | 26,6 | 0,089 | 0,087 | TF, ALB, ES, GC, A1B, 6PGD, GPI, PGM |

Примечание. P — доля полиморфных локусов; \bar{H}_e — ожидаемая средняя гетерозиготность локус на особь; \bar{H}_o — наблюдаемая средняя гетерозиготность; n — количество проанализированных животных.

ном геле в горизонтальной камере с последующим гистохимическим окрашиванием. Выполнен сравнительный анализ генетической структуры 18 сортов культурной сои, выведенных в разных странах, и 3 популяций дикой уссурийской сои по 21 ферментной системе (42 локуса) и спектрам продуктов амплификации, полученных при ис-

пользовании в качестве 5 праймеров фрагментов ди- и тринуклеотидных микросателлитных локусов с “якорными” нуклеотидами на флангах (ISSR-PCR маркеры).

Математическую обработку полученных данных выполняли с использованием стандартной компьютерной программы BIOSYS. Расчет генетичес-

ких расстояний, кластерный анализ выполняли с использованием метода [8].

Ядерную ДНК выделяли из лимфоцитов периферической крови у животных и из семян растений по стандартным методикам [11]. Метод RAPD-PCR применялся с использованием 2 праймеров, первичная последовательность которых была представлена в работе [4] — UBC-85: 5'-GTGCTCGTGC-3' и UBC-126: 5'CTTTCGTGCT-3'. ISSR-PCR проводили с использованием праймеров, комплементарных динуклеотидным микросателлитным локусам (GA)₉C, (AC)₉T и (AG)₉C, а также три-нуклеотидных праймеров (CTC)₆A, (CTC)₆C, (GAG)₆C [13].

Реакционная смесь объемом 20 мкл содержала: 50 mM KCl, 10 шМ трис-НС1 (рН 9,0), 0,01% тритон X-100, 0,3 mM каждого dNTP, 2 шМ MgCl₂ (Promega), 0,2 шМ праймера, 1 ед. акт. полимеразы *Thermus aquaticus* ("Диалат LTD", Москва), 20-50 нг ДНК. PCR проводили на амплификаторе "MasterCycler Gradient" (Австрия). При использовании метода RAPD-PCR температурный режим был следующим: 5 циклов — 1 мин при 92°C, 1 мин при 35°C, 2,5 мин при 72°C; 35 циклов — 1 мин при 92°C, 1 мин при 42°C, 2,5 мин при 72°C (всего 40 циклов).

В случае ISSR-PCR реакции проводили в таком температурном режиме: начальная денатурация — 2 мин при 94°C; 30 циклов: 30 с при 94°C, 30 с при 55°C, 2 мин при 72°C; терминальная элонгация — 10 мин при 72°C; охлаждение до 4°C.

Продукты амплификации разделяли методом электрофореза в 1,5%-м агарозном геле. Визуализацию результатов электрофореза проводили под ультрафиолетовым излучением на трансиллюминаторе после окрашивания гелей бромистым этидием. В работе рассматривались только те продукты амплификации, которые воспроизводились в 3—5 независимо повторенных PCR-процедурах с ДНК одних и тех же животных. Для определения

размеров продуктов амплификации на каждом блоке с двух сторон использовали маркер молекулярных весов 0,1-kb DNA Ladder (Gibco BRL).

Результаты и их обсуждение

У животных не обнаружено существенных отличий по уровню средней гетерозиготности, доле полиморфных локусов между группами с.-х. и диких видов: в обеих группах встречаются виды как с высокими, так и с низкими значениями этих показателей (см. табл.1). Скрининг биохимических систем плазмы и эритроцитов крови выявил у серой украинской породы крупного рогатого скота генетический полиморфизм по 9 локусам: AM-I, CP, GC, NP, TF, pTF-2, MPI, CA и AP. У белоголовой украинской породы к этому перечню добавился локус PEP В. Наиболее полиморфным белком плазмы крови крупного рогатого скота был TF, в системе которого у 2 изученных пород выявлено 5 аллелей: А, D1, D2, Е и F. Если первые 4 аллеля типичны для европейских пород, то Tf F характерен для пород зебу и отсутствует у большинства европейских пород. По этому локусу у украинской белоголовой породы преобладал вариант Tf А, а у серой украинской — Tf D2. У обеих пород присутствует аллельный вариант Tf F — предполагаемый маркер блоков генов предковой формы домашнего скота. У близкородственных диких видов — зубра, бизона и гаяла локус TF был мономорфен и имел сходство с Tf А крупного рогатого скота. Большинство систем, по которым выявлен полиморфизм у диких видов, относятся к ферментам внутриклеточного энергетического метаболизма. В исследованной нами группе зубров полиморфизм выявлен по системам CP, AM-I, ME, ICD, PEP В и PGM, а у бизона — AM-I, CP, PGM, GPI, PEP В и DP-1 (см. табл.1).

Анализ генетически детерминированного полиморфизма по электрофоретическим характеристикам 30 гене-

тико-биохимических систем у гуцульской породы домашней лошади выявил полиморфизм по 8 локусам: TF, ALB, A1B, ES, GC, 6PGD, GPI и PGM, а у якутской породы — по 6: TF, ALB, ES, GC, 6PGD, GPI. По ряду локусов у гуцульской породы с невысокой частотой встречаются наиболее быстро мигрирующие аллельные варианты, известные для лошадей, а у якутской породы эти варианты не выявлены. Например, по локусу 6-PGD у гуцульской породы с частотой 0.100 встречается самый быстрый вариант D, а у якутской породы присутствуют лишь F и S — с более низкой электрофоретической подвижностью. По локусам TF и GC самые быстрые электрофоретические варианты у якутской породы также отсутствуют.

У лошади Пржевальского полиморфизм выявлен по локусам TF, ALB, A1B, ES, 6PGD, GPI и PGM. Так же, как и у гуцульской породы домашней лошади, у дикого вида выявлены самые быстрые электрофоретические варианты по локусам TF и 6PGD. Размах генетической изменчивости у лошади Пржевальского сопоставим с таковым у пород домашней лошади, однако несколько ниже, чем у лошадей Пржевальского американской и английской популяций [6], уровень средней гетерозиготности которых формировался в основном за счет локусов TF и ES. Электрофоретическая подвижность зон активности большинства ферментов у лошади Пржевальского и домашних пород лошадей практически совпадает. Отличия между исследованными группами выявлены по подвижности ферментов LDH, DP, АК и GOT. Зоны с относительно большей подвижностью по локусу LDH наблюдались у лошади Пржевальского. Более быстрые варианты спектра фермента GOT выявлены у якутской лошади, а самая высокая электрофоретическая подвижность DP и АК наблюдалась у гуцульской породы. Можно предположить, что данные биохимические маркеры в боль-

шей степени вовлекались в процессы дифференциации изученных видов и пород, чем системы, по которым отличия не выявлены. Внутривидовой полиморфизм по электрофоретической подвижности у зебры Гриви наблюдался по локусу TF и 6PGD, остальные локусы в исследованной выборке животных были мономорфными. Кулан отличался от всех остальных представителей семейства более быстрой электрофоретической подвижностью по локусам GPI и A1B. Полиморфизм у этого вида обнаружен по локусам TF, 6-PGD, G-6-PD, ME, АК, FH.

Электрофоретическая подвижность рецептора к витамину D оказалась сходной между всеми видами семейства лошадей, несмотря на выраженные отличия по подвижности альбумина. Это особо интересное обстоятельство, поскольку известно, что ALB и GC являются одной из наиболее древних групп сцепления локусов, сохраняющейся у всех позвоночных [2].

Изученные группы диких зоопарковых видов и локальные породы домашних животных представляют изолированные и относительно малочисленные популяции. Известно, что в среднем по электрофоретическим вариантам белков и ферментов у млекопитающих уровень средней гетерозиготности (на локус на особь) колеблется от 3 до 7 % [2]. Ожидалось, что высокий уровень инбридинга, характерный для таких популяций, приведет к снижению генетической изменчивости. Однако оказалось, что для них характерен относительно высокий уровень генетической изменчивости, оцениваемый по таким генетико-популяционным параметрам как доля полиморфных локусов и средняя гетерозиготность. Обнаружено, что уровень и размах генетической изменчивости у domestikированных видов сопоставим с таковым у близкородственных диких видов, воспроизводящихся в условиях биосферного заповедника «Аскания-Нова». Кроме того, по ряду локусов

(например, у зубра по PGM) наблюдали отклонение распределения генотипов от равновесия Харди-Вайнберга в сторону избытка гетерозигот. В связи с этим можно предположить, что в популяциях зоопарковых видов и локальных пород домашних видов животных действуют механизмы, поддерживающие изменчивость по биохимическим маркерам. Поскольку снижение внутривидового разнообразия приводит к снижению устойчивости популяции к различного рода негативным воздействиям, то эти явления, по-видимому, являются популяционно-генетическими механизмами обеспечения адаптивности популяции.

При сравнении полиморфизма различных генетико-биохимических систем у диких и домашних видов млекопитающих обнаружены групповые отличия в изменчивости отдельных биохимических маркеров. Виды домашних животных оказались существенно более однообразны по полиморфизму таких белков, как трансферрин, эстеразы, диафороаза, кислая фосфатаза, каталаза и альбумин, чем виды диких. Например, среди парнокопытных TF полиморфен преимущественно у domesticированных видов (табл.1). Это позволяет полагать, что на уровне структурных генов могут существовать отличия между дикими и домашними видами по вовлеченности в полиморфизм разных генетических систем [2].

Мы проверили это предположение, оценив, какой вклад в уровень полиморфизма каждого вида вносит полиморфизм различных функциональных групп белков. Рассмотрены 3 группы белков с различными биохимическими функциями, поскольку это основные генетико-биохимические системы, которые используются в качестве биохимических маркеров структурных генов у более тысячи исследованных к настоящему времени видов животных и растений. В эти группы входили ферменты внутриклеточного энергетичес-

кого метаболизма, ферменты метаболизма экзогенных субстратов (с низкой субстратной специфичностью такие, как эстеразы, протеазы и т.д.) и транспортные белки. Данные, полученные у ряда диких и домашних видов млекопитающих по вкладу полиморфизма каждой из 3 функциональных групп белков (в анализ включены собственные и литературные данные [2]) были усреднены по количеству рассмотренных видов и было обнаружено, что так же, как и в случае морфофизиологических признаков, у этих видов имеются отличия в преимущественной изменчивости различных генетико-биохимических систем. Средняя гетерозиготность (по 30 локусам) у исследованных domesticированных видов *Ungulata* меняется в пределах от 0,036 у домашней свиньи до 0,171 у крупного рогатого скота; у диких видов — от 0,017 у зебры Гранта до 0,135 у антилопы Канны. В то же время между этими группами видов наблюдаются отчетливые отличия по вкладу в полиморфизм различных функциональных групп генетико-биохимических систем. Доля полиморфных локусов по ферментам внутриклеточного энергетического метаболизма (усредненная на количество рассмотренных видов) у домашних видов полорогих была 0,179, у диких — 0,629; ферментам метаболизма экзогенных субстратов — 0,464 и 0,193; транспортным белкам — 0,357 и 0,178 соответственно (табл.2).

Таблица 2

Вклад в полиморфизм (доля полиморфных локусов) разных функциональных групп генетико-биохимических систем у диких (А) и домашних (Б) видов млекопитающих

| Группа видов | Функциональные группы белков | | |
|--------------|------------------------------|-------|-------|
| | I | II | III |
| А | 0,629 | 0,193 | 0,178 |
| Б | 0,179 | 0,464 | 0,357 |

Примечание. I — ферменты внутриклеточного энергетического метаболизма; II — ферменты метаболизма экзогенных субстратов; III — транспортные белки.

Обнаруженные нами различия по вкладу в общий полиморфизм у диких и домашних видов млекопитающих разных функциональных групп белков хорошо согласуются с предположениями о том, что видообразование связано с реорганизацией механизмов энергообеспечения клетки, а также с тем, что обычно искусственный отбор не приводит к появлению новых видов, за исключением случаев искусственной межвидовой гибридизации. Можно ожидать, что естественный отбор способствует формированию новых видов, поддерживая полиморфизм ферментов внутриклеточного энергетического метаболизма, а искусственный — благоприятствует появлению форм, высоко адаптированных к изменчивому потоку экзогенных субстратов. Возможно, что широкий размах фенотипической изменчивости у domestцированных видов связан с разнообразием скоростей метаболизма экзогенных субстратов. Последнее, по нашему мнению, позволяет также предполагать наличие «субгенома», изменчивость которого существенна для широкого фенотипического разнообразия, характерного для домашних животных, что хорошо согласуется с «балансовой теорией» поддержания полиморфизма. Очевидно, что изменчивость такого «субгенома» может являться необходимым условием для проведения направленной селекции.

Далее нами был выполнен сравнительный анализ доли полиморфных локусов между культурными сортами сои и популяциями дикой уссурийской сои, предполагаемого предкового вида. При анализе полиморфизма различных ферментных систем обнаружен мономорфизм по 21 локусу (из 42) у всех исследованных групп растений.

По 5 локусам (PG1-C1 и PG1-C2, 6PGD-3, SHDH-1, DP-1) выявлены 3 аллельных варианта, по 16 локусам наблюдали 2 аллельных варианта (PG1-I, 6PGDX, ICD, PGM, SHDH-2, ESTD-1, ESTD-2, MDH-1, MDH-3, G-6-PD,

alpha-GPD, ADH-2, LAP-2, DP-2, EST-1, EST-2).

По трем локусам один из двух-трех аллельных вариантов присутствовал только у представителей дикого вида и не обнаруживался у культурных сортов (MDH-1, DP-1, EST-2); у культурных сортов, за исключением DP-1, эти локусы были мономорфны. По этим локусам полиморфизма у представителей дикого вида тоже не обнаружено — они были фиксированы по альтернативным аллельным вариантам, отсутствующим у культурных сортов.

У культурных сортов полиморфными оказались 19 локусов. У 3 исследованных популяций дикого вида сои полиморфизм выявлен по 7 локусам (PG1-C1, PGI-C2, PGI-I, ICD, ESTD-1, MDH-3, ADH-2) в отличие от 19 локусов у 18 сортов культурной сои.

Генетико-биохимические системы подразделили на 2 группы: на ферменты, участвующие во внутриклеточных процессах наработки АТФ (гликолиз, цикл Кребса — условно их обозначают как ферменты, участвующие в метаболизме глюкозы — G) и все остальные, не участвующие в метаболизме глюкозы (NG). В общем, в анализ включены 2 группы локусов — 21 G и 21 NG. Семь полиморфных локусов популяций диких видов включали только один локус NG (ESTD-1) и 6 локусов G. Суммарно у сортов культурной сои выявлен полиморфизм из 19 локусов по 11 локусам G и по 8 локусам NG.

Таким образом, если у дикой сои полиморфизм наблюдался преимущественно по локусам, продукты которых контролируют процессы внутриклеточного энергетического метаболизма (86 % от всех полиморфных локусов), то у культурных сортов сои среди полиморфных локусов существенно меньшая часть была представлена такими локусами (58 %), и в 3 раза большая, чем у диких видов, представлена локусами, не участвующими в метаболизме глюкозы (42 %). То есть, так же как и у животных, у domestцированных

ного вида сои в полиморфизм преимущественно вовлекались ферменты, не участвующие в метаболизме глюкозы.

Полученные данные свидетельствуют в пользу предположения о наличии «субгенома», маркируемого локусами, продукты которых участвуют в регуляции связей между внутренней и внешней биохимической средой (ферменты метаболизма экзогенных субстратов, транспортные белки), повышенная изменчивость которого является обязательным условием domestikации и у животных, и у растений

Кроме того, оказалось, что размах генетической изменчивости внутри вида *G.max* больше, чем у *G.soja*. Так, доля полиморфных локусов P: *G.max* — 45%; *G.soja* — 17%. То есть, domestikированный вид оказался более полиморфен, чем близкородственный дикий вид. Было выполнено также сравнение внутривидовых генетических расстояний (DN): у *G.max* величины расстояний колебались от 0,059 до 0,129; у *G.soja* — от 0,038 до 0,264. Из этого следует, что внутривидовая генетическая дифференциация (судя по размаху значений DN — генетических расстояний) у культурных сортов растений сопоставима с внутривидовой дифференциацией близкородственного дикого вида.

Сравнение генетических взаимоотношений, рассчитанных на основании дистанции М.Нея [8], полученных при генотипировании сортов сои и диких популяций по генетико-биохимическим системам и ISSR-PCR маркерам, свидетельствует о локус-специфичности и выраженной зависимости оценки генетических взаимоотношений от исследуемой группы растений в большей степени, чем от типа молекулярно-генетического маркера (белки или ДНК-маркеры). Например, по обоим типам маркеров популяции дикого вида оказываются по генетическим расстояниям существенно ближе друг к другу, чем каждая из них к культурным сортам.

Таким образом, сходные различия между domestikированными и близкородственными дикими видами и животных, и растений по вкладу в общий полиморфизм (доля полиморфных локусов, средняя гетерозиготность) разных функциональных групп белков свидетельствуют о том, что искусственный отбор, проводимый человеком, связан с генетико-биохимической адаптацией к разнообразию потока экзогенных субстратов.

У животных анализ спектров продуктов амплификации участков между инвертированными повторами декануклеотидов и микросателлитных локусов (RAPD-PCR и ISSR-PCR) позволил выявить межвидовые отличия и по этим типам молекулярно-генетических маркеров. Распределение длин ампликонов заметно различалось у диких и домашних видов. Анализ спектров продуктов амплификации участков между инвертированными повторами «десяток» (RAPD-PCR) позволил выявить межвидовые различия и по этому типу молекулярно-генетических маркеров. На электрофореграммах продуктов амплификации идентифицировались 15 и 9 полос для праймеров UBC-85 и UBC-126 соответственно.

При использовании UBC-85 размер ампликонов, вошедших в анализ, находился в пределах 2,4-0,4 тысяч пар нуклеотидов (т.п.н.). Наибольшее количество продуктов амплификации (10) выявлено у крупного рогатого скота, наименьшее (6) — у зебры Гриви. Отдельно проанализированы спектры продуктов амплификации UBC-85, полученные для представителей разных отрядов. Из 15 суммарных зон у непарнокопытных встречались 12, отсутствовали фрагменты длиной 0,8, 0,6 и 0,4 т.п.н. Общими для исследованных видов непарнокопытных являлись ампликоны длиной 1,9, и 0,7 т.п.н. Фрагменты длиной 1,6 т.п.н встречались только у лошади Пржевальского, а 1,1 т.п.н — только у кулана.

У животных отряда парнокопытных представлены все 15 зон. Общими продуктами амплификации для исследованных видов были фрагменты длиной 1,935, 1,8 и 1,7 т.п.н. Среди проанализированных парнокопытных животных фрагменты длиной 1,3 т.п.н. встречались только у бизона, 1,1 т.п.н. — только у крупного рогатого скота, 0,9 т.п.н. — только у гаяла.

По RAPD-PCR маркерам у группы domesticированных видов фрагменты длиной 2,0-2,5 т.п.н. от всего спектра продуктов амплификации в среднем по видам составили 13%, длиной 1,1 — 1,9 т.п.н. — 51%, длиной 0,4-1,0 т.п.н. — 36%. У диких — 21, 49 и 30% соответственно (табл.3).

Использование в ISSR-PCR тринуклеотидных праймеров позволяло полу-

Таблица 3

Сравнительный анализ частот встречаемости ампликонов разной длины в спектрах продуктов амплификации (RAPD-PCR) у domesticированных и диких видов *Ungulata*, полученных при использовании в качестве праймеров декануклеотидов UBC-85 и UBC-126

| Вид | Длины ампликонов | | |
|-------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|
| | короткие (0,4–1,0 т.п.о.,%) | средние (1,1–1,9 т.п.о., %) | длинные (2,0–2,5 т.п.о.,%) |
| domesticированные | 36,3 | 50,9 | 12,8 |
| дикие | 29,8 | 49,0 | 21,2 |

чать большее количество продуктов амплификации, особенно с размерами до 1,0 т.п.н. и 2,0 т.п.н., чем использование динуклеотидных праймеров, что свидетельствует о различиях между распределением ди- и тринуклеотидных микросателлитных повторов в геномах копытных.

По ISSR-PCR маркерам распределение было следующим. У группы domesticированных видов фрагменты длиной в 2,0-2,5 т.п.о. — 12%, 1,1-1,9 т.п.о — 38%, 0,4-1,0 т.п.о. — 50%; у диких — 17, 44, и 39% соответственно (табл.4). Видно, что у domesticированных видов статистически достоверно

($P < 0,05$) чаще встречаются короткие ампликоны при использовании ISSR-PCR маркеров, чем у диких. По RAPD-PCR маркерам наблюдается такая же тенденция, хотя различия и не были статистически достоверными.

Выявляется определенное сходство оценок генетических взаимоотношений между видами животных по отдельным маркерам обоих типов (белки, RAPD-PCR, ISSR-PCR).

Полученные данные свидетельствуют о том, что domesticированные виды отличаются от близкородственных диких преимущественным полиморфизмом структурных генов, продукты которых участвуют в регуляции связей между внутренней и внешней биохимическими средами, а также более высокой частотой встречаемости коротких фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами.

Повышенная частота встречаемости таких фрагментов ДНК согласуется с нашими предположениями о том, что в domesticации видов активное участие могли принимать процессы, связанные с событиями горизонтального обмена генетической информацией, тесным взаимодействием между

Таблица 4

Вклад ампликонов разной длины (%) у диких и domesticированных видов млекопитающих в суммарные спектры ампликонов, полученных при использовании в качестве праймеров фрагментов 3 ди- и 3 тринуклеотидных микросателлитных локусов

| Длина ампликонов (т.п.н.) | Дикие виды | Domesticирован- ные виды |
|------------------------------|---------------|-----------------------------|
| 2,5–1,8 | 17 | 12 |
| 1,8–1,1 | 44 | 38 |
| 1,1–0,4 | 39 | 50 |

генофондами человека, domesticiруемых видов, а также той части микробиоты, которая являлась их симбионтами-патогенами [7].

Выполненные исследования свидетельствуют о том, что наиболее перспективными путями ускорения селекционной работы с с.-х. видами могут быть приемы по увеличению эффективности поступления и метаболизма экзогенных субстратов путем использования методов трансгеноза, а также подбора оптимальных микробиальных симбионтов [13].

ЛИТЕРАТУРА

1. Боголюбский С.Н. Происхождение и преобразование домашних животных. М.: Советская Наука, 1959. — 2. Глазко В.И. Генетика изоферментов сельскохозяйственных животных. М.:ВИНИТИ, 1988. — 3. Глазко В.И. Кризис аграрной цивилизации и генетически модифицированные организмы. Киев: РА NOVA, 2006. — 4. Bailey E., Lear T. // Anim.Genet, 1994. Vol.25. Nol. P.105-108. — 5. Beja-Pereira A., Luikart G., Bradley D. et al. // Nature Genetics, 2003. Vol.35. № 4. P.311-313. 6. Bowling A., Ryder O. // J.of Heredity, 1987. Vol.78. P.75-80. — 7. Glazko V.I., Glazko T.T. Genome of rice (*Oryza sativa* L.) as model and its coevolution with human. — М.: Центр оперативной полиграфии РГАУ — МСХА, 2006. — 8. Nei M. // Amer. Natur, 1972. Vol.106. № 4047. — P.434-436. — 9. Olsen K.M., Caicedo A.L., Polato N. et al. // Genetics, 2006. V.174. P.544-558. — 10. Paterson A.H., Lin Y-R., Li Z. et al. // Science, 1995. V.269. P.1714-1718. — 11. Williams J., Kubelik A., Livak K. et al. // Nucleic Acids Res, 1990. Vol.18. P.6513-6535. — 12. Zakharova E.S., Epishin S.M., Vinetski Y.P. // Theor. Appl.Genet, 1989. 78. N 6. P.852-856. — 13. Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. // Genomics, 1994. Vol.20. P.176-183.

SUMMARY

The comparative analysis of genetic structures of domestic and close related wild animal (*Ungulate*) species and plant species (varieties of *Glycine max* and wild ancestor species of *Glycine ussuriensis*) with the use of evaluation of electrophoretic protein variants and polymorphism of DNA fragments, flanking by inverted repeats of decanucleotides and microsatellite loci (RAPD-PCR and ISSR-PCR markers) was carried out. Domesticated species differentiated of wild ones by the more high level of polymorphism of enzymes, participated in metabolism of exogenous substrates, more low polymorphism of enzymes of glucose metabolism and also by the more high frequencies of short DNA fragments in spectra of amplification products of RAPD-PCR and ISSR-PCR markers. The possible mechanisms of population-genetic differentiation between domestic and wild species were discussed.