



Линь (Tinca tinca L.), западные и восточные популяции, ген cyt b мтДНК, нуклеотидные замены, Ярославская область, Рыбинское водохранилище

Tench (Tinca tinca L.), western and eastern populations, mtDNA cyt b gene, nucleotide substitutions, the Yaroslavl Region, Rybinsk Reservoir

10.35694/YARCX.2020.51.3.002

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ НУКЛЕОТИДНОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ ГЕНА *cyt b* мтДНК ЛИНЯ (*TINCA TINCA L.*) В ПОПУЛЯЦИЯХ ЗАПАДНОЙ И ВОСТОЧНОЙ ЧАСТЕЙ ЕВРАЗИИ

Е.Е. Слынько (фото)

к.б.н., старший научный сотрудник

Институт биологии внутренних вод им. И.Д. Панина РАН,
п. Борок

Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН,
г. Севастополь

доцент кафедры зоотехнии

ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, г. Ярославль

Е.Г. Скворцова

к.б.н., доцент, заведующий кафедрой зоотехнии

А.И. Суконина

магистрант технологического факультета

ФГБОУ ВО Ярославская ГСХА, г. Ярославль

Ю.В. Слынько

к.б.н., ведущий научный сотрудник

ФИЦ Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского
РАН, г. Севастополь

Линь (*Tinca tinca L.*) – один из древнейших сохранившихся представителей семейства карповых (Cyprinidae) в водоёмах Евразии, выделяемый в отдельное монотипическое подсемейство *Tincinae* [1; 2]. С давних времён линь активно используется в прудовом рыбоводстве [3]. Генетическое изучение линя проводилось неоднократно [4–11]. Ранее были выявлены филогеографические группы, разделяющиеся на западные (Англия, Испания, Польша) и восточные (Болгария, Иран, Китай) популяции Евразии на основании анализа двух ядерных и одного митохондриального (*cyt b*) маркеров [12]. Соответственно была поставлена задача установить, к какой филогруппе будут относиться популяции северо-восточной части России, в частности, Ярославской области, а также оценить максимальное

правдоподобие нуклеотидных замещений по гену *cyt b*.

Материал и методы

Для выполнения поставленной задачи собраны выборки линия из Некоузского района Ярославской области. Анализировали гены *cyt b* мтДНК. Линь отлавливался в р. Суножка (бас. Рыбинского водохранилища), Некоузский район Ярославской области: № 1ЯР, ЗЯР. Выделение и быструю очистку тотальной ДНК проводили с помощью реагентов Diatom™ DNAPrep 200. Для сравнения по генам *cyt b* были использованы данные по соответствующим фрагментам, взятым в NCBI из западно- (Англия, Швеция, Италия, Франция, Бельгия, Германия), восточно- (Украина, Россия) и центральноевропейских (Босния и Герцеговина, Польша, Румыния, Чехия) популяций, а также водоёмов Азии (Иран, Китай) (табл. 1).

У всех экземпляров анализ проводился по фрагментам генов *cyt b* mtDNA, длиной 863 п.н. Амплификацию этого фрагмента *cyt b* осуществляли в присутствии двух праймеров: прямого – GluF5'-AACCACCGTTGTATTCAACTACAA-3' и обратного – ThrR5'-ACCTCCGATCTTCGGATTACAAGACCG-3' [13]. Анализ таксономической принадлежности проводили в программах BLASTNCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>). Полученные ПЦР-продукты

секвенировали на базе ЗАО «ЕврогенРус» (Москва) в прямом и обратном направлениях. Филогенетические древо с расчётом бутстреп-поддержек узлов ветвления (1000 репликаций) и оценку максимального правдоподобия нуклеотидных замещений по гену *cyt b* получали в программе MEGA 7.0 с применением метода «ближайшего соседства» (Neighbor Joining, NJ) [14].

Результаты и обсуждение

Филогенетические взаимоотношения между выявленными вариантами нуклеотидной последовательности (гаплотипами) гена *cyt b* популяций линия представлены на рисунке 1.

Оценка максимального правдоподобия нуклеотидного замещения по гену *cyt b* у линия 863 п.н. для всех популяций приведена в таблице 2.

Частоты нуклеотидов составляют 28,96% (А), 30,88% (Т / U), 14,16% (С) и 25,99% (G). Коэффициенты скорости транзиции/трансверсии составляют $k1 = 85.123$ (пурины) и $k2 = 32.654$ (пиримидины). Общее смещение транзиции/трансверсии составляет $R = 24,921$, где $R = [A \times G \times k1 + T \times C \times k2] / [(A + G) \times (T + C)]$. Анализ включал 19 нуклеотидных последовательностей. Включённые позиции кодонов были 1 + 2 + 3.

Оценка максимального правдоподобия нуклеотидного замещения по гену *cyt b* у линия 863

Таблица 1 – Нуклеотидные последовательности NCBI по гену *cyt b* mtDNA

Регистрационный номер нуклеотидной последовательности (ваучер)	Сокращенная аббревиатура региона	Страна
JX974525	Itl	Италия
HM167946	Turk	Турция
HM167941	Ukr	Украина
HM560230	Blk	Босния и Герцеговина
DQ841176	Rum	Румыния
HM167949	Rus	Россия
HM167948	Pol	Польша
HM167944	GB	Англия
HM167943	Chi	Китай
Y10451	Fra	Франция
HM167942	Blg	Бельгия
HM167955	Iran	Иран
HM167954	Grm	Германия
HM167953	Czc	Чехия
HM167951	Swe	Швеция
KF552104	Chi	Китай

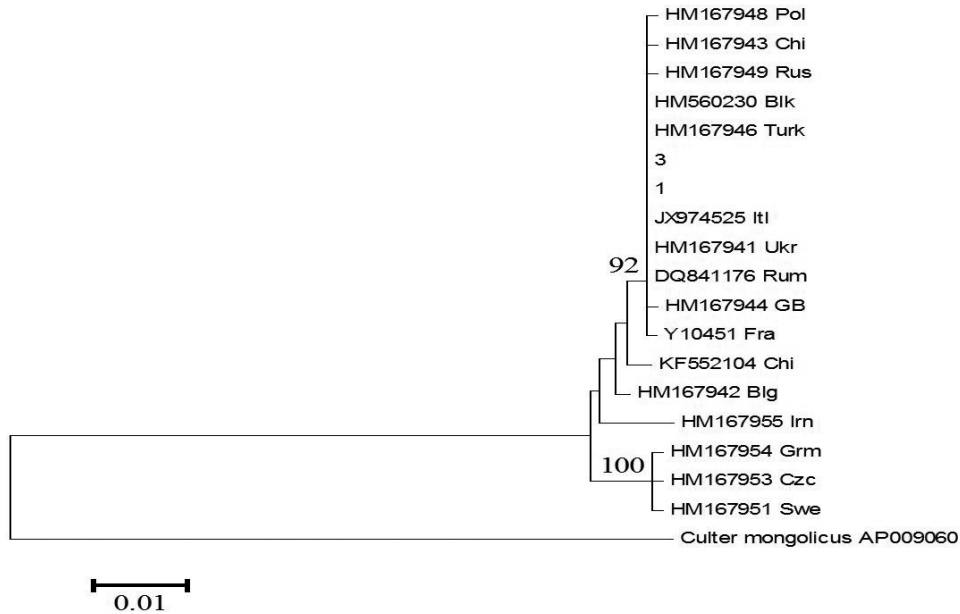


Рисунок 1 – Древо Neighbor Joining, отражающее филогенетические взаимоотношения между выявленными вариантами нуклеотидной последовательности (гаплотипами) гена *cyt b* популяций линия. В узлах ветвления указаны их бутстреп-поддержки. Внизу рисунка указана единица измерения длин ветвей – 0.01 нуклеотида. Внешняя группа – *Cultermongolicus*

п.н. для российских популяций приведена в таблице 3.

Частоты нуклеотидов составляют 28,81% (A), 31,05% (T / U), 14,29% (C) и 25,84% (G). Коэффициенты скорости транзиции/трансверсии $k1 = 1000$ (пурины) и $k2 = 1$ (пиримидины). Общее смещение транзиции/трансверсии составляет $R = 168,236$, где $R = [A \times G \times k1 + T \times C \times k2] / [(A + G) \times (T + C)]$. Анализ включал 3 нуклеотидных последовательности.

Оценка максимального правдоподобия нуклеотидного замещения по гену *cyt b* у линия для Западной Европы, кроме Британии и Франции, приведена в таблице 4.

Частоты нуклеотидов составляют 29,39% (A), 31,05% (T / U), 13,83% (C) и 25,72% (G). Коэффициенты скорости транзиции/трансверсии

Таблица 2 – Оценка максимального правдоподобия нуклеотидного замещения по гену *cyt b* у линия 863 п.н. для всех популяций

	A	T	C	G
A	-	0.54	0.45	21.04
T	0.51	-	14.82	0.25
C	0.51	17.61	-	0.25
G	43.04	0.54	0.45	-

составляют $k1 = 985.029$ (пурины) и $k2 = 1000$ (пиримидины). Общее смещение транзиции/трансверсии составляет $R = 488,667$, где $R = [A * G * k1 + T * C * k2] / [(A + G) * (T + C)]$.

Таблица 3 – Оценка максимального правдоподобия нуклеотидного замещения по гену *cyt b* у линия 863 п.н. для российских популяций

	A	T	C	G
A	-	0.54	0.45	21.04
T	0.51	-	14.82	0.25
C	0.51	17.61	-	0.25
G	43.04	0.54	0.45	-

Проведён сравнительный анализ полученных данных с данными по линию западной и восточной частей Евразии. Оказалось, что общее смещение транзиции/трансверсии в российских популяциях составляет $R = 168,236$. В западных популяциях этот коэффициент в 2 раза выше и составляет $R = 488,667$. Это свидетельствует о том, что в популяциях линия Рыбинского водохранилища в значительной степени транзиции преобладают над трансверсиями. Прежде всего, это свидетельство высокого генетического разнообразия, устойчивости и адапционных харак-

Таблица 4 – Оценка максимального правдоподобия нуклеотидного замещения по гену *cyt b* у линия 863 п.н. для Западной Европы, кроме Британии и Франции

	A	T	C	G
A	-	0.03	0.03	13.68
T	0.03	-	25.84	0.01
C	0.03	31.19	-	0.01
G	29.08	0.03	0.03	-

теристик линия из Рыбинского водохранилища. В западных популяциях количество транзиций и трансверсий по своим значениям близки, наблюдается небольшое преобладание транзиций над трансверсиями. Это свидетельствует о том, что в основном западные популяции линия имеют не естественное, а искусственное происхождение, являясь результатом направленного антропоген-

ного скрещивания. Соответственно значительно снижаются показатели устойчивости и адаптации, а также повышается риск возникновения вредных (летальных) спонтанных мутаций, которые могут быстро закрепиться и повлиять на состояние западных популяций линия. Это подтверждается коэффициентами скорости транзиции/трансверсии: в западных популяциях они практически одинаковы $k_1 = 985.029$ (пурины) и $k_2 = 1000$ (пиримидины), в российских популяциях коэффициенты скорости транзиции/трансверсии составляют $k_1 = 1000$ (пурины) и $k_2 = 1$ (пиримидины). В целом, проведенный анализ подтверждает существование двух филогеографических групп, но в связи с недостатком данных по российским популяциям, необходимо продолжение исследования, тем более, что российская (в частности ярославская) популяция занимает особое положение по соотношению транзиций и трансверсий.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке в рамках государственных тем № АААА-А18-118020790229-7 «Структурно-функциональная организация, продуктивность и устойчивость морских пелагических экосистем», № АААА-А18-118021350003-6 «Исследование механизмов управления производственными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса», № АААА-А18-118012690105-0 «Фауна, систематика и биология водных беспозвоночных континентальных вод» и № АААА-А16-116090850007-7 «Повышение эффективности использования биологических и породных ресурсов различных видов домашних и сельскохозяйственных животных, рыб и птиц».

Литература

1. Chen, Xiang-lin. Major groups within the family Cyprinidae and their phylogenetic relationships [Text] / Chen Xiang-lin, Yue Pei-qi, Lin Ren-duan // Actazootaxon. sin. – 1984. – V. 9. – № 4. – P. 424–440.
2. Богуцкая, Н.Г. К вопросу о положении линия *Tinca tinca* (L.) в системе карповых рыб (Cyprinidae) [Текст] / Н.Г. Богуцкая // Труды Зоол. ин-та АН СССР. – 1986. – Т. 154. – С. 49–65.
3. Комлацкий, В.И. Рыбоводство [Текст]: учебник, 2-е изд., испр. [Текст] / В.И. Комлацкий, Г.В. Комлацкий, В.А. Величко. – М.: Лань, 2018. – 200 с.
4. Linhart, O. Insemination, fertilization and gamete management in tench, *Tinca tinca* (L.) [Text] / O. Linhart, M. Rodina, M. Kocour, D. Gela // Aquacult Int. – 2006. – V. 14. – № 1–2. – P. 61–73.
5. Benzer, S.S. Breeding properties of *Tinca tinca* (L., 1758) living in Hirfanli dam lake (Kirsehir, Turkey) [Text] / S.S. Benzer, A. Gut, M. Yilmaz // E. U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences. – 2007. – Vol. 24. – № 1–2. – P. 127–129.
6. Chen, W.J. Molecular systematics of the Cyprinoidea (Teleostei: Cypriniformes), the world's largest clade of freshwater fishes: further evidence from six nuclear genes [Text] / W.J. Chen, R.L. Mayden // Molecular phylogenetics and evolution. – 2009. – V. 52. – № 2. – P. 544–549.
7. Flajshans, M.A. Review on the potential of triploid tench for aquaculture [Text] / M. Flajshans, D. Gela, M. Kocour, H. Buchtova, M. Rodina, M. Psenicka, et al. // Rev. Fish. Biol. Fisher. – 2010. – V. 20. – № 3. – P. 317–329.
8. Arslan, A. C-banded karyotype and nucleolar organizer regions of *Tinca tinca* (Cyprinidae) from Turkey [Text] / A. Arslan, FN. Taki // Caryologia. – 2012. – V. 65. – № 3. – P. 246–249.
9. Kohlmann, K. Comparison of microsatellite variability in wild and cultured tench (*Tinca tinca*) [Text] / K. Kohlmann, P. Kersten, M. Flajshans // Aquaculture. – 2007. – V. 272. – № 3. – P. 51–147.
10. Kohlmann, K. Genetic variability and differentiation of wild and cultured tench populations inferred from microsatellite loci [Text] / K. Kohlmann, P. Kersten, R. Panicz, D. Memis, M. Flajshans // Rev Fish Biol Fisher. – 2010. – V. 20. – № 3. – P. 279–288.

11. Lo Presti, R. Sequence variability at the mitochondrial ND1, ND6, cyt b and D-loop segments in tench (*Tinca tinca* L.) [Text] / R. Lo Presti, K. Kohlmann, P. Kersten, C. Lisa, L. Stasio Di // J. Appl. Ichthyol. – 2014. – № 30. – P. 15–21.
12. Lajbner, Z. PCR-RFLP assays to distinguish the Western and Eastern phylogroups in wild and cultured tench *Tinca tinca* [Text] / Z. Lajbner, P. Kotli'k // Molecular Ecology Resources. – 2011. – № 11. – P. 374–377.
13. Machordom A., Doadrio I. Evolutionary history and speciation modes in the cyprinid genus *Barbus* [Text] / A. Machordom, I. Doadrio // Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. – 2001. – V. 268. – I. 1473. – P. 1297–1306.
14. Saitou, N. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [Text] / N. Saitou, M. Nei // Molecular biology and evolution. – 1987. – Vol. 4. – № 4. – P. 406–425.

References

1. Chen, Xiang-lin. Major groups within the family Cyprinidae and their phylogenetic relationships [Text] / Chen Xiang-lin, Yue Pei-qi, Lin Ren-duan // Actazootaxon. sin. – 1984. – V. 9. – № 4. – P. 424–440.
2. Bogutskaya, N.G. K voprosu o polozhenii linija *Tinca tinca* (L.) v sisteme karpovyh ryb (Cyprinidae) [Tekst] / N.G. Bogutskaya // Trudy Zool. in-ta AN SSSR. – 1986. – T. 154. – S. 49–65.
3. Komlatskij, V.I. Rybovodstvo [Tekst]: uchebnik, 2-e izd., ispr. [Tekst] / V.I. Komlatskij, G.V. Komlatskij, V.A. Velichko. – M.: Lan', 2018. – 200 s.
4. Linhart, O. Insemination, fertilization and gamete management in tench, *Tinca tinca* (L.) [Text] / O. Linhart, M. Rodina, M. Kocour, D. Gela // Aquacult Int. – 2006. – V. 14. – № 1–2. – P. 61–73.
5. Benzer, S.S. Breeding properties of *Tinca tinca* (L., 1758) living in Hirfanli dam lake (Kirsehir, Turkey) [Text] / S.S. Benzer, A. Gut, M. Yilmaz // E. U. Journal of Fisheries & Aquatic Sciences. – 2007. – Vol. 24. – № 1–2. – P. 127–129.
6. Chen, W.J. Molecular systematics of the Cyprinoidea (Teleostei: Cypriniformes), the world's largest clade of freshwater fishes: further evidence from six nuclear genes [Text] / W.J. Chen, R.L. Mayden // Molecular phylogenetics and evolution. – 2009. – V. 52. – № 2. – P. 544–449.
7. Flajshans, M.A. Review on the potential of triploid tench for aquaculture [Text] / M. Flajshans, D. Gela, M. Kocour, H. Buchtova, M. Rodina, M. Psenicka, et al. // Rev. Fish. Biol. Fisher. – 2010. – V. 20. – № 3. – P. 317–329.
8. Arslan, A. C-banded karyotype and nucleolar organizer regions of *Tinca tinca* (Cyprinidae) from Turkey [Text] / A. Arslan, FN. Taki // Caryologia. – 2012. – V. 65. – № 3. – P. 246–249.
9. Kohlmann, K. Comparison of microsatellite variability in wild and cultured tench (*Tinca tinca*) [Text] / K. Kohlmann, P. Kersten, M. Flajshans // Aquaculture. – 2007. – V. 272. – № 3. – P. 51–147.
10. Kohlmann, K. Genetic variability and differentiation of wild and cultured tench populations inferred from microsatellite loci [Text] / K. Kohlmann, P. Kersten, R. Panicz, D. Memis, M. Flajshans // Rev Fish Biol Fisher. – 2010. – V. 20. – № 3. – P. 279–288.
11. Lo Presti, R. Sequence variability at the mitochondrial ND1, ND6, cyt b and D-loop segments in tench (*Tinca tinca* L.) [Text] / R. Lo Presti, K. Kohlmann, P. Kersten, C. Lisa, L. Stasio Di // J. Appl. Ichthyol. – 2014. – № 30. – P. 15–21.
12. Lajbner, Z. PCR-RFLP assays to distinguish the Western and Eastern phylogroups in wild and cultured tench *Tinca tinca* [Text] / Z. Lajbner, P. Kotli'k // Molecular Ecology Resources. – 2011. – № 11. – P. 374–377.
13. Machordom A., Doadrio I. Evolutionary history and speciation modes in the cyprinid genus *Barbus* [Text] / A. Machordom, I. Doadrio // Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences. – 2001. – V. 268. – I. 1473. – P. 1297–1306.
14. Saitou, N. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees [Text] / N. Saitou, M. Nei // Molecular biology and evolution. – 1987. – Vol. 4. – № 4. – P. 406–425.