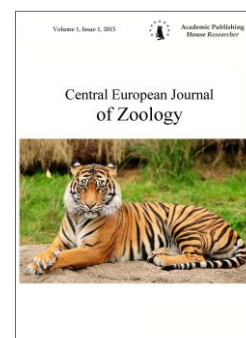


Copyright © 2017 by Academic Publishing House Researcher s.r.o.



Published in the Slovak Republic
Central European Journal of Zoology
Has been issued since 2015.
ISSN: 2412-2270
2017, 3(1): 4-18

DOI: 10.13187/cejz.2017.1.4
www.ejournal40.com



Articles and Statements

UDC 575.22: 599.742.11: 599.742.13

Comparative Analysis of Polylocus Spectra of ISSR-PCR Markers in Dogs, Jackals And Wolves

Irina I. Gaponova ^a, Valery I. Glazko ^{a, b}, Tatiana V. Blokhina ^a,
Eugenia A. Knyaseva ^a, Tatiana T. Glazko ^{a, b, *}

^a Russian State Agrarian University – MAA named after K.A. Timiriazev, Russian Federation

^b Centre of Experimental Embryology and Reproductive Biotechnologies RAAS, Russian Federation

Abstract

The problems of the relationship between the three representatives of the canidae family (Canidae) based on the example of a domestic dog (*Canis lupus familiaris*), a wolf (*Canis lupus*) and a jackal (*Canis aureus*) are considered. A study using ISSR-PCR on di- and trinucleotide primers (AG) 9C, (GA) 9C and (GAG) 6C, showed that jackals are more genetically diverse than wolves and dogs. According to the spectra of amplification products and the presence of common fragments, jackals are genetically closer to dogs than to wolves. Based on the genotyping of 53 loci, it can be concluded that in the genome of the jackal, the DNA segments flanked by inverted microsatellite repeats are more common than those observed in the genomes of wolves and the domestic dog. The results of studies using ISSR-PCR markers, indicating a high genetic heterogeneity of the jackal population, are consistent with the published data obtained by genotyping at microsatellite loci, as well as the polymorphism of the D-loop of mitochondrial DNA, which also indicate a more pronounced genetic variability Jackals in comparison with dogs and wolves.

Keywords: genetic heterogeneity, DNA markers, ISSR-PCR, dogs, jackals, wolves.

1. Введение

Взаимоотношения между видами семейства псовых (*Canidae*) активно исследуются, но некоторые вопросы до сих пор остаются весьма дискуссионными. К их числу относится история происхождения домашней собаки, вопрос об очагах одомашнивания и времени одомашнивания (Leonard et al., 2002; Pang et al., 2009; Savolainen et al., 2004), а также роль гибридизации между собаками, волками и шакалами (Larson, Bradley, 2014; Li et al., 2013; Von Holdt et al., 2010; Wang et al., 2013).

Исследования свидетельствуют о возможности наличия двух очагов одомашнивания собаки, европейского и азиатского (Frantz et al., 2016). Ведутся дискуссии и о времени

* Corresponding author
E-mail address: tglazko@rambler.ru (T.T. Glazko)

одомашнивания собаки, оно варьирует от 40000 лет до н.э. до 12000 лет до н.э. (Frantz et al., 2016; Dimond, 2002; Skoglund et al., 2015). На данный момент известно, что гибридизация собаки и волка могла существенно повлиять на выводы об их дивергенции. Большая генетическая изменчивость в Восточной Азии, чем в других регионах, и характер филогенетических построений свидетельствуют о происхождении домашней собаки в Восточной Азии около 15 000 лет назад. Учитывая относительно ограниченное количество археологических работ, выполненных в Восточной Азии, отсутствие поздних палеолитических находок, не исключает гораздо более раннее происхождения домашних собак в Восточной Азии (Savolainen et al., 2002). Возможно, повышенное генетическое разнообразие у восточноазиатских собак и сходство между собаками в деревнях Восточной Азии и волками могло искажаться скрещиванием с волками (Freedman et al., 2014). Существенен и вопрос об участии шакала в происхождении собаки, и о предковой форме собаки (Koler-Matznick, 2002). Показано, что популяция волков уменьшилась из-за антропогенного воздействия и/или климатических изменений, что вызвало существенную потерю генетического разнообразия (Germonpre et al., 2009). Возможно, популяция волка и предковой формы собаки прошла через «бутылочное горлышко» отбора, что существенно сказалось на их генетическом разнообразии. Хорватская и Итальянская популяции волков, тем не менее, отличаются умеренным генетическим разнообразием (Fabbri et al., 2014). Геном современной породистой собаки является свидетельством наличия двух узких популяционных мест в отношении сокращения численности: первое произошло при одомашнивании, а второе – при формировании пород (Karlsson et al., 2007). Исследование индийских популяций шакалов, проведенное с использованием генотипирования микросателлитных локусов, показало их высокую генетическую вариабельность (Rutkowski et al., 2015), также высокая генетическая изменчивость шакалов отмечена в Израиле, Европейская популяция шакалов более однородна, что может объясняться их уникальной историей (Rutkowski et al., 2015, Yunnam et al., 2015). Обобщая данные можно сказать, что популяции шакалов в целом более генетически разнообразны, чем популяции волка и собаки. Возможно, это является следствием гибридизации между волком, собакой и шакалом, а также более высокой адаптивностью и миграционной активностью шакалов.

В настоящее время в связи с активным развитием технологий секвенирования геномов, полилокусного генотипирования (геномного сканирования), позволяющего одновременно генотипировать множество локусов, появились новые возможности выявления генетических структур видов и внутривидовых групп и их сравнений. Одним из наиболее удобных методов в отношении сканирования геномов является полилокусное генотипирование с использованием в полимеразной цепной реакции (PCR) в качестве праймера фрагмента микросателлитного локуса – Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR-PCR маркеры) (Zietkiewicz et al., 1994; Glazko et al., 2016c). Данный метод позволяет одновременно оценивать распределение длин ряда коротких участков ДНК, фланкированных инвертированным повтором микросателлита, обладает высокой информативностью и удобен для выявления видовой, внутривидовой и межпородной дифференциации (Glazko et al., 2015a; Glazko et al., 2016a; Golik et al., 2017). Полилокусность ISSR-PCR-маркеров позволяет рассчитывать на выявление их комбинаций, тесно связанных с особенностями происхождения, отбора и фенотипической дифференциацией групп животных (Глазко и др., 2013; Эркенов, 2015; Glazko et al., 2015b; Glazko et al., 2016b; Erkenov et al., 2017).

Объектом исследования являлись шакалы и волки, отловленные в Краснодарском крае, и собаки пород джек-рассел терьер, леонбергер, цвергшнауцер, а также беспородные особи.

2. Материалы и методы

В работе использованы 11 образцов тканей шакалов, 4 образца ткани волков, и 5 образцов крови собак. Геномную ДНК выделяли из лейкоцитов периферической крови собак, стандартным набором ДНК – Экстран I («Синтол»), геномную ДНК шакалов выделяли из ткани стандартным набором ДНК Экстран II («Синтол»). Продукты амплификации получали при помощи стандартного набора для ПЦР «Синтол» в соответствии с рекомендациями производителя. В качестве праймера были использованы динуклеотиныемикросателлиты с якорными нуклеотидами (GA)₉C, (AG)₉C, а также

тринуклеотидный микросателлит (GAG)_nC. Полимеразная цепная реакция проводилась на амплификаторе «Терцик» со следующими параметрами: первичная денатурация (t= 94 °С, 2 мин), денатурация (t= 94 °С, 30 сек), отжиг (t=55 °С, 30 сек), элонгация (t=72 °С, 2 мин) – 35 циклов, финальная элонгация (t=72 °С, 10 мин). Продукты амплификации разделяли в 1,5 % агарозном геле в TBE-буфере. Визуализация производилась при помощи УФ трансиллюминатора. Размеры фрагментов ДНК определяли при помощи маркера молекулярных масс 100 bp+1.5 Kb+3 Kb (12 фрагментов от 100 до 3000 bp) M27 (СибЭнзим, Россия). Математическая обработка полученных результатов была осуществлена с помощью программы MSEXCEL и TFPGA. Для каждого спектра продуктов амплификации, полученного с соответствующим праймером, строилась матрица, отображающая присутствие, либо отсутствие конкретного ампликона.

В качестве популяционно-генетических характеристик использовали долю полиморфных локусов (% количества полиморфных фрагментов ДНК по отношению к общему количеству ампликонов, выявленных в спектре каждого праймера) и полиморфное информационное содержание спектра – Polymorphic Information Content (PIC). Расчет PIC выполнялся по формуле для диаллельных локусов, для которых $PIC = 2f(1-f)$, где f – частота одного из двух аллелей. Поскольку ISSR-PCR маркеры имеют доминантный характер проявления по присутствию продукта амплификации, f рассчитывается по формуле: $f=R^{1/2}$, где R – частота встречаемости животных среди исследованных, у которых в спектрах продуктов амплификации отсутствовал фрагмент ДНК данной длины. Значение R рассматривалось как доля гомозигот по рецессивному аллелю (Golik et al., 2017).

3. Результаты и их обсуждение

В спектре продуктов амплификации, полученных при использовании в качестве праймера последовательности (GA)_nC, выявлено суммарно у трех исследованных видов 13 фрагментов ДНК. Каждый такой фрагмент рассматривался как отдельный локус. У шакалов в спектре праймера (GA)_nC наблюдался повышенный полиморфизм относительно представителей других видов (табл. 1). Полиморфное информационное содержание (PIC) спектров продуктов амплификации, полученных при использовании в ПЦР последовательностей (GA)_nC, у шакалов в два раза выше, чем у волков, и в четыре – по сравнению с собаками, примерно так же исследованные виды отличались и по доле полиморфных локусов (табл. 1).

Таблица 1. Полиморфное информационное содержание (PIC) и доля полиморфных локусов (P) спектров продукции амплификации по праймеру (GA)_nC

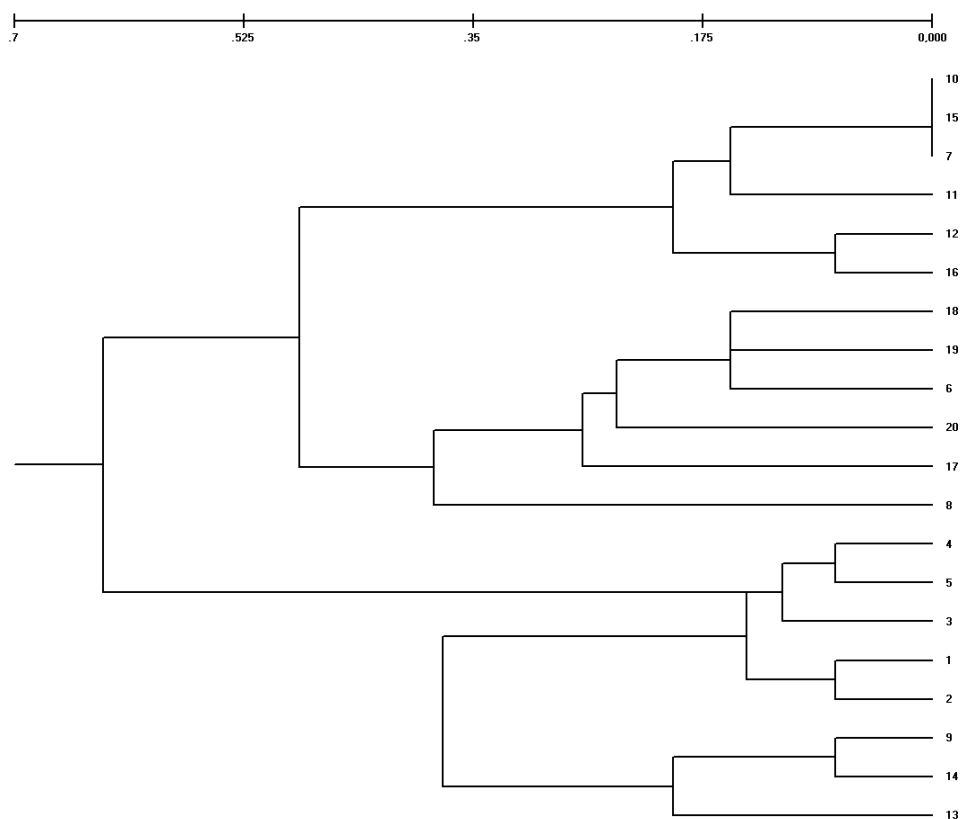
Праймер(GA) _n C	Собаки	Шакалы	Волки
PIC	0,08	0,26	0,13
P	27 %	91 %	44 %

Таким образом, спектры праймера (GA)_nC наиболее полиморфными оказались у шакалов. Спектры продуктов амплификации фрагментов геномной ДНК, фланкированных инвертированным повтором этого праймера (ампликонов) собак и волков были более консервативными по сравнению с шакалами. Наиболее консервативными ампликонами (не полиморфными) у собак оказались 8 фрагментов спектра с длинами 2800, 2000, 1300, 980, 850, 620 и 500 пар оснований (п.о.). Наиболее консервативными фрагментами у волков являются ампликоны в районе длин 850, 620, 550 и 500 п.о. У шакалов консервативен всего один фрагмент в районе 620 п.о. (табл. 2). Уникальным для спектра ампликонов собак является присутствие двух фрагментов длиной в 2800 и 2000 п.о., для шакалов – один фрагмент, длиной в 680 п.о. В спектре ампликонов этого праймера у волков отсутствуют фрагменты ДНК, не встречающиеся у представителей других видов.

Таблица 2. Сравнительный анализ полиморфизма фрагментов ДНК по праймеру (GA)₉C у собак, шакалов и волков

П.н.	Собаки	Шакалы	Волки
2800	-	н	н
2000	-	н	н
1400	+	+	+
1300	-	+	+
1200	+	+	н
980	-	+	+
900	н	+	+
850	-	+	-
700	+	+	+
680	н	+	н
620	-	-	-
550	-	+	-
500	-	+	-

«+» – полиморфизм по данному фрагменту ДНК; «-» – консервативный участок ДНК по данному фрагменту; «н» – отсутствие данного участка в спектре.

**Рис. 1.** Дендрограмма генетических взаимоотношений, построенных на основании генетических дистанций у собак, шакалов и волков по праймеру (GA)₉C.

1–5 – собаки, 6–16 – шакалы, 17–20 – волки

На дендрограмме, построенной на основании распределения у исследованных животных фрагментов геномной ДНК, фланкированных инвертированным повтором (GA)₉C, выделяется два основных крупных кластера, причем каждый из них подразбивается, в свою очередь, на два подкластера. Самый крупный объединяет подкластеры волков и шакалов, второй – шакалов и собак. Интересно отметить автономность подкластеров,

представители разных видов не входят в подкластеры друг друга, причем подкластер собак объединяется с подкластером шакалов, включающий только трех особей (рис. 1).

В спектрах ампликоновпраймера (GAG)₆C выделяется суммарно 23 фрагмента ДНК (табл. 3), причем у собак спектр ампликонов включает 15 фрагментов и все они мономорфны (табл. 3, 4). Наибольший полиморфизм спектров этого праймера выявлен, так же как и в спектрах праймера (GA)₉C, у шакалов. У них наблюдается примерно в два раза большие значения доли полиморфных локусов (P) и PIC по сравнению с волками (табл. 4).

Таблица 3. Сравнительный анализ полиморфизма фрагментов ДНК по праймеру (GAG)₆C у собак и шакалов

П.н.	Собаки	Шакалы	Волки
2500	-	Н	Н
2300	н	+	Н
2000	-	Н	Н
1800	н	+	Н
1600-1500	-	+	+
1400	-	+	+
1300	-	+	+
1200	-	+	+
1100	-	+	+
950	-	+	+
900	-	+	-
850	-	+	+
800	-	+	-
750	-	+	н
700	н	+	-
650	н	+	Н
620	-	-	-
550	-	+	-
500	-	-	-
490	н	+	+
450	н	+	н
400-390	н	+	-
350	н	+	н

«+» – полиморфизм по данному фрагменту ДНК; «-» – консервативный участок ДНК по данному фрагменту; «н» – отсутствие данного участка в спектре

Таблица 4. Полиморфное информационное содержание(PIC) и доля полиморфных локусов (P) спектров продукции амплификации по праймеру (GAG)₆C

Праймер (GAG) ₆ C	Собаки	Шакалы	Волки
PIC	0	0,28	0,14
P	0 %	90 %	53 %

И если по праймеру (GAG)₆C все 15 ампликонов консервативны у собак, у шакалов, напротив, отмечается высокий полиморфизм, и лишь две консервативные зоны в районе 620 и 500 п.о. У волков из 15-ти ампликонов наблюдается 7 консервативных зон. Общее количество полиморфных зон по данному праймеру у шакалов – 19, у волков – 8. В спектре ампликонов (GAG)₆C у собак выявлен один уникальный фрагмент длиной в 2000 п.о.

(табл. 3), отсутствующий у других видов; у шакалов таких фрагментов оказалось пять – длиной в 2300, 1800, 650, 450 и 350 п.о. (табл. 3). У волков не выявлено ампликонов, которые бы не встречались у представителей других видов.

На дендрограмме, построенной на основании расчета генетических расстояний по частотам встречаемости ампликонов спектров праймера $(GAG)_6C$ (рис. 2), выделяется два кластера: один объединяет собак, трех волков и шакала, второй – волков и шакалов. То есть, в отличие от спектров праймера $(GA)_9C$, спектры праймера $(GAG)_6C$ не дифференцируют исследованные группы животных на автономные кластеры и подкластеры, соответствующие видовой принадлежности исследованных групп животных (рис. 1, 2). Наиболее уникальный набор ампликонов (5 из 21-го имеющегося) выявлен у шакалов (табл. 3).

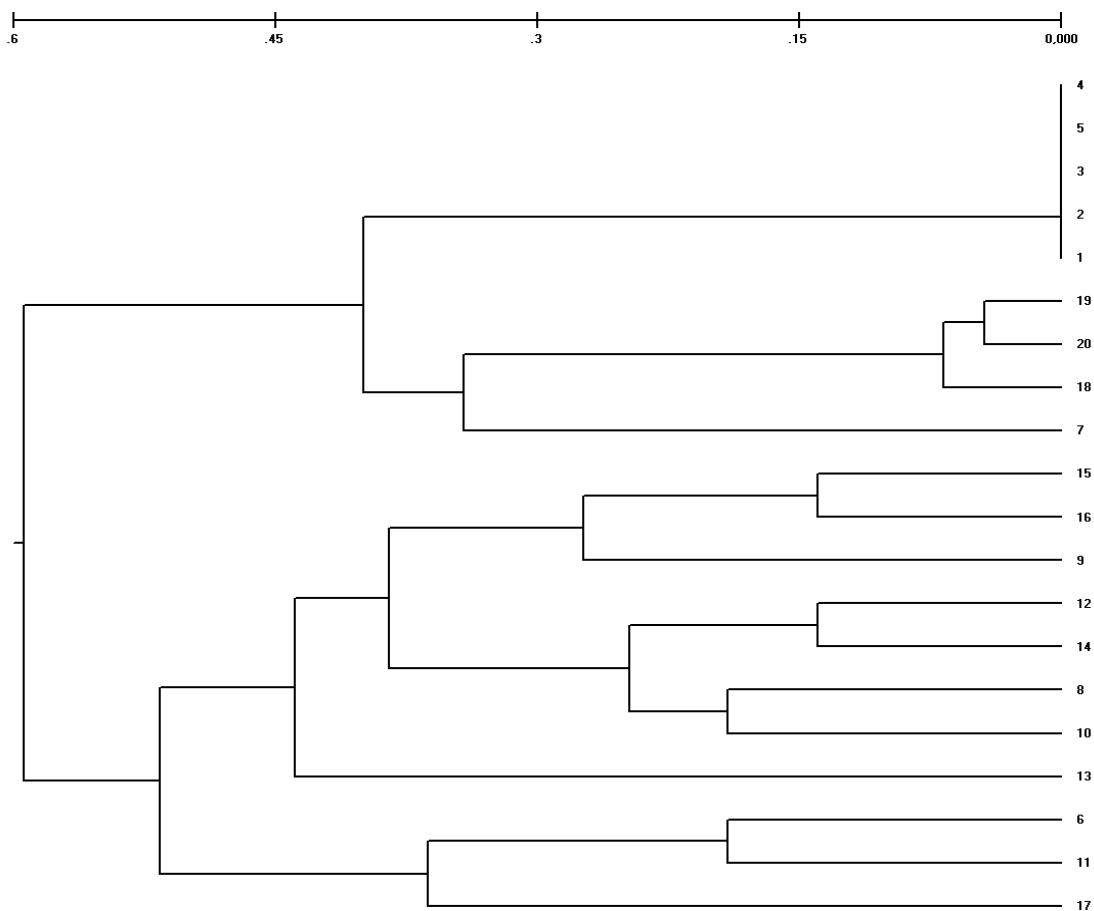


Рис. 2. Дендрограмма генетических взаимоотношений, построенных на основании генетических дистанций у собак, шакалов и волков по праймеру $(GAG)_6C$.

1–5 – собаки, 6–16 – шакалы, 17–20 – волки

В спектрах праймера $(AG)_9C$ суммарно выявлено 16 фрагментов ДНК, фланкированных инвертированным повтором этой последовательности (табл. 5). Наибольшее количество ампликонов наблюдалось у шакалов (Leonard et al., 2002), далее – у собак (Germonpre et al., 2009), и наименьшее – у волков (Frantz et al., 2016) (табл. 6). Причем и в этих спектрах продуктов амплификации у собак не наблюдалось полиморфных фрагментов, а у шакалов – так же как и в спектрах других праймеров, полиморфизм был существенно выше, чем у волков (табл. 6). У всех трех групп выделяется 2 консервативные зоны по данному праймеру, длиной 900 и 600-620 п.о., присутствующие у всех исследованных животных. В то же время, у собак в спектрах продуктов амплификации праймера $(AG)_9C$ не выявлено уникальных фрагментов; у шакалов обнаружено 5 таких фрагментов, встречавшихся только у представителей этого вида, длиной в 1600, 1500, 800, 550 и 350 п.о.; у волков выявлено 3 уникальных фрагмента – длиной в 850, 750 и 500 п.о.

Таблица 5. Сравнительный анализ полиморфизма фрагментов ДНК по праймеру (AG)₆C у собак и шакалов

П.н.	Собаки	Шакалы	Волки
1600	Н	+	Н
1500	Н	+	Н
1400	-	+	Н
1300	-	+	-
950	-	+	Н
900	-	-	-
850	Н	Н	-
800	Н	+	Н
750	Н	Н	+
700	-	+	Н
650	-	+	Н
600-620	-	-	-
550	Н	+	Н
500	Н	Н	-
400	-	+	Н
350	н	+	Н

«+» – полиморфизм по данному фрагменту ДНК; «-» – консервативный участок ДНК по данному фрагменту; «н» – отсутствие данного участка в спектре.

Таблица 6. Полиморфное информационное содержание (PIC) и доля полиморфных локусов (P) спектров продукции амплификации по праймеру (AG)₉C

Праймер (AG) ₉ C.	Собаки	Шакалы	Волки
PIC	0	0,31	0,02
P	0%	92,3%	16%

Построенная на основании ампликонов спектров праймера (AG)₉C дендрограмма включает два кластера – один, объединяет собак и шакалов, второй – шакалов и волков (рис. 3), так же, как и на дендрограмме распределения продуктов амплификации спектров праймера (GA)₉C (рис. 1).

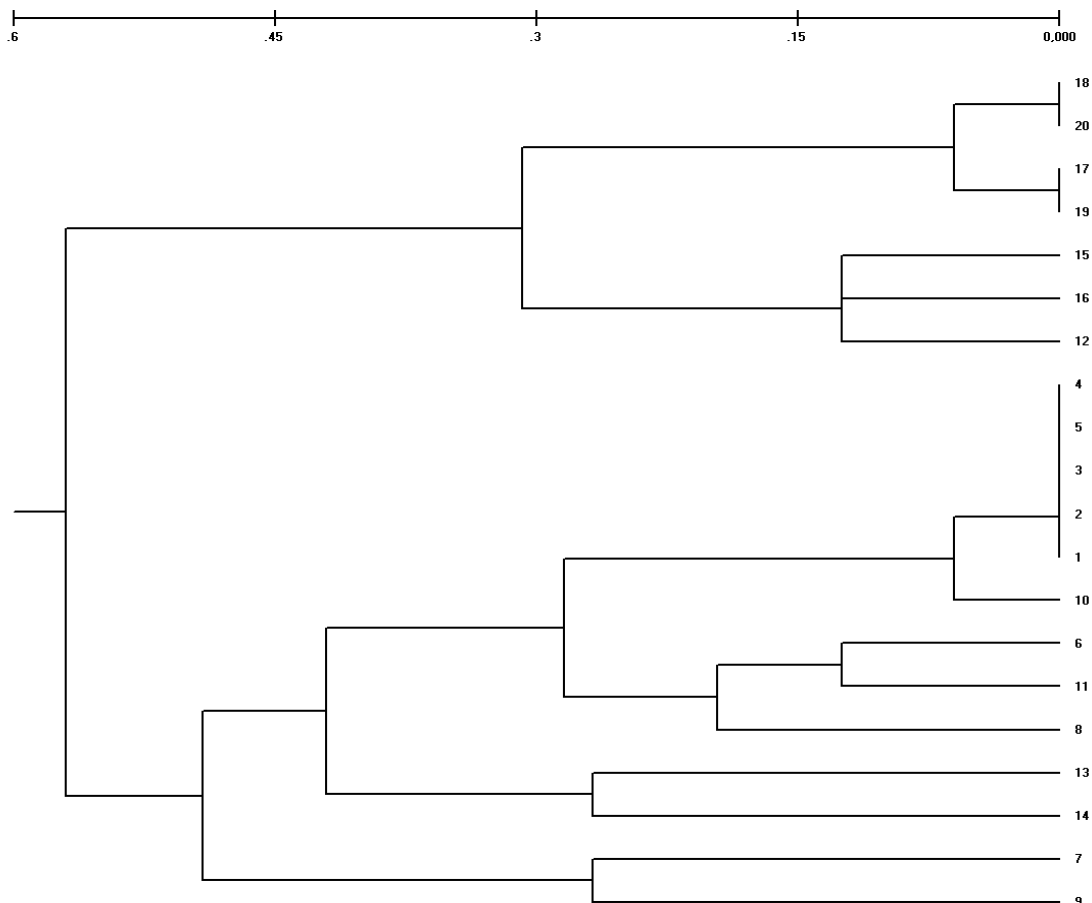


Рис. 3. Дендрограмма генетических взаимоотношений, построенных на основании генетических дистанций у собак, шакалов и волков по праймеру $(AG)_9C$.
1–5 – собаки, 6–16 – шакалы, 17–20 – волки

Полученные данные свидетельствуют о том, что спектры праймеров $(AG)_9C$ и $(GA)_9C$ надежно дифференцируют представителей домашней собаки (разного происхождения) от волков и, в меньшей степени, от шакалов, в отличие от спектров праймера $(GAG)_6C$. Шакалы по всем праймерам оказываются наиболее полиморфными и с наибольшим количеством уникальных фрагментов ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитных локусов, по сравнению с волками и собаками. В общем, из 53-х локусов суммарно по всем праймерам у шакала обнаружено уникальных 11 фрагментов, у собак – 3 фрагмента и у волков тоже 3. То есть, кроме повышенного полиморфизма, шакалы отличались от представителей других видов присутствием уникальных фрагментов геномной ДНК, фланкированных инвертированными повторами микросателлитов $(AG)_9C$, $(GA)_9C$ и $(GAG)_6C$.

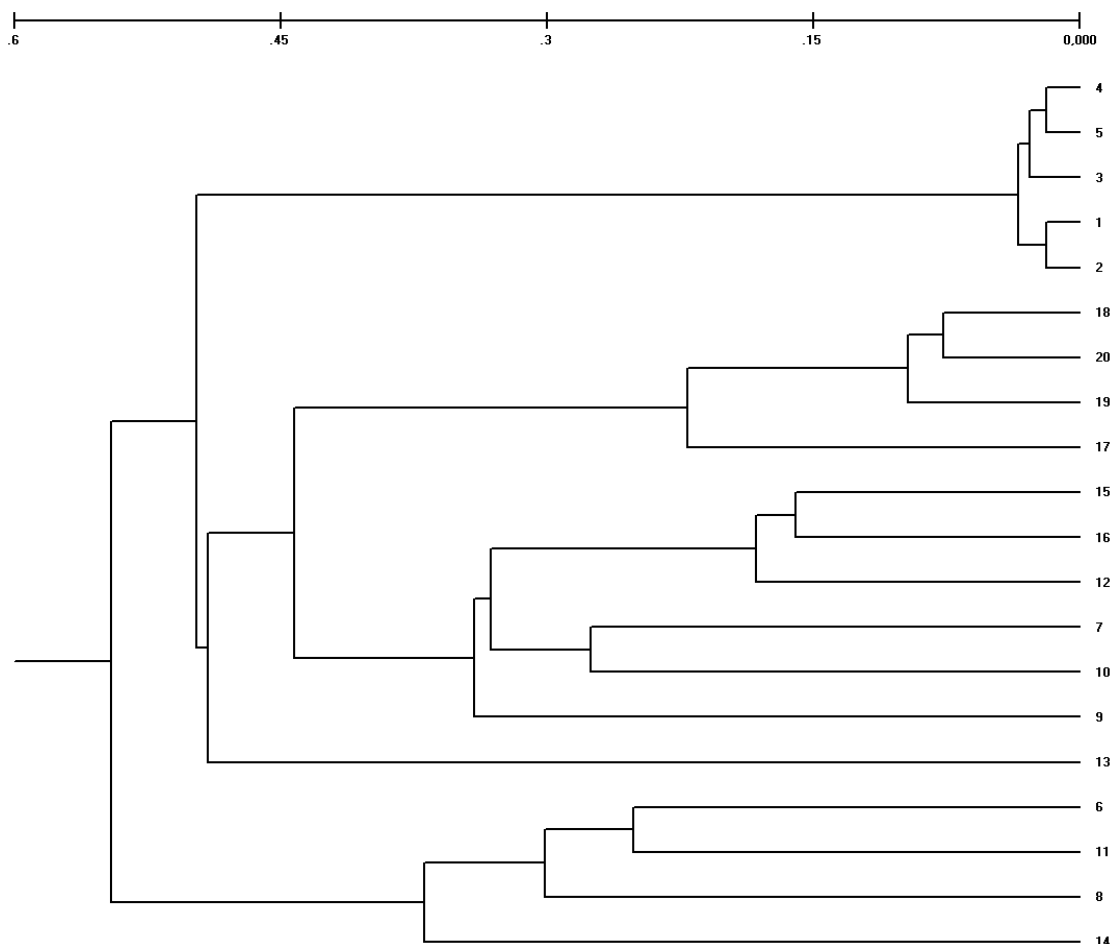


Рис. 4. Дендрограмма генетических взаимоотношений, построенных на основании генетических дистанций у собак, шакалов и волков по праймерам $(AG)_9C$, $(GA)_9C$, $(GAG)_6C$. 1–5 – собаки, 6–16 – шакалы, 17–20 – волки

Построение суммарной дендрограммы на основании генетических расстояний, рассчитанных по частотам встречаемости фрагментов ДНК разной длины в спектрах продуктов амплификации всех трех праймеров, $(AG)_9C$, $(GA)_9C$ и $(GAG)_6C$, свидетельствует об автономной кластеризации домашней собаки и более сближенных взаимоотношениях между шакалами и волками (рис. 4).

4. Заключение

Таким образом, при использовании ISSR-PCR метода отмечается дифференциация между шакалами, собаками и волками по трем праймерам, с выделением общей консервативной зоны длиной в 600–620 п.н. Собаки более консервативны по спектрам ампликонов как при использовании праймера $(GA)_9C$, $(AG)_9C$, так и при использовании $(GAG)_6C$, несмотря на различную породную принадлежность. Следует отметить, что наблюдаемая в наших исследованиях относительно пониженная генетическая гетерогенность собак различного происхождения совпадает с литературными данными об уменьшенном генетическом разнообразии геномных районов, даже ассоциированных с изменчивыми у разных пород фенотипическими характеристиками, что, по мнению авторов, является следствием действия высоко интенсивного искусственного отбора (Cadieu et al., 2009, Ratnakumar et al., 2011). Волки обладают более высоким полиморфизмом по всем трем праймерам, чем собаки, однако менее полиморфны в сравнении с шакалами.

На основании генотипирования 53 локусов можно заключить, что шакалы генетически более гетерогенны, чем волки и собаки; в геноме шакала чаще встречаются участки ДНК, фланкированные инвертированными повторами микросателлитов, не встречавшиеся в геномах волков и домашней собаки; обнаруживаются общие по длине фрагменты ДНК,

фланкированные инвертированными повторами микросателлитов, для представителей всех исследованных видов; по спектрам продуктов амплификации и присутствию общих последовательностей шакалы оказываются ближе к собакам, чем к волкам. В общем, полученные данные позволяют предположить более раннее отделение от общего предка шакалов, по сравнению с волками, и более высокую вероятность их повторных гибридизаций с предковыми формами собак, по сравнению с волками. Результаты исследований, проведенных с помощью ISSR-PCR маркеров, указывающие на высокую генетическую гетерогенность популяции шакалов согласуются с данными, полученными Negi T. (Negi Jhala, 2015) при использовании 10 микросателлитов (Li et al., 2013), а также с данными, полученными при исследовании участка D-петли митохондриальной ДНК, которые также свидетельствуют о высокой генетической вариабельности популяции шакала в Турции (İbiş et al., 2015).

Литература

Глазко и др., 2013 – Глазко В.И., Гладырь Е.А., Феофилов А.В., Бардуков Н.В., Глазко Т.Т. ISSR-PCR маркеры и мобильные генетические элементы в геномах сельскохозяйственных видов млекопитающих // *Сельскохозяйственная биология*, 2013, т. 2, С. 71–76.

Эркенов, 2015 – Эркенов Т.А. Генетическая структура и внутривидовая дифференциация карагаевской лошади // Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. Москва, 2015.

Cadiou et al., 2009 – Cadiou E., Neff M. W., Quignon P., Walsh K., Chase K., Parker H. G., VonHoldt B. M., Rhue A., Boyko A., Byers A., Wong A. Coat Variation in the Domestic Dog Is Governed by Variants in Three Genes // *Science*, 2009, Vol. 326, pp. 150–153, DOI: 10.1126/science.1177808

Dimond, 2002 – Dimond J. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication // *Nature*, 2002, Vol. 418, pp. 700–708.

Erkenov et al., 2017 – Erkenov Timur A., Valery I. Glazko, Eugenia F. Knyaseva, Tatiana T. Glazko. Generation of Molecular Genetic Markers in Studies of Genetic Structures of Horses // *International Journal of Environmental Problems*, 2017, 3(1): 36-46. DOI: 10.13187/ijep.2017.1.36

Fabbri et al., 2014 – Fabbri E., Caniglia R., Kusak J., Galov A., Gomercic T., Arbanasic H., Huber D., Randi E. Genetic structure of expanding wolf (*Canis lupus*) populations in Italy and Croatia, and the early steps of the recolonization of the Eastern Alps // *Mammalian Biology*, 2014, Vol. 79(2), pp. 138–148. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mambio.2013.10.002>

Frantz et al., 2016 – Frantz L.A.F., Mullin V.E., Pionnier-Capitan M., Lebrasseur O., Ollivier M., Perri A., Linderholm A., Mattiangeli V., Teasdale M.D., Dimopoulos E.A., Tresset A., Duffraisse M., McCormick F., Bartosiewicz L., Gál E., Nyerges É.A., Sablin M.V., Bréhard S., Mashkour M., Bălăşescu A., Gillet B., Hughes S., Chassaing O., Hitte C., Vigne J.D., Dobney K., Hänni C., Bradley D.G., Larson G. Genomic and archeological evidence suggests a dual origin of domestic dogs // *Science*, 2016, Vol. 352 (6290), pp. 1228–1231, DOI: 10.1126/science.aaf3161

Freedman et al., 2014 – Freedman A.H., Gronau I., Schweizer R.M., Vecchyo D.O.D., Han E., Silva P.M., Galaverni M., Fan Z., Marx P., Lorente-Galdos B., Beale H., Ramirez O., Hormozdiari F., Alkan C., Vila C., Squire K., Geffen E., Kusak J., Boyko A.R., Parker H.G., Lee C., Tadiotla V., Siepel A., Bustamante C.D., Harkins T.T., Nelson S.F., Ostrander E.A., Marques-Bonet T., Wayne R.K., Novembre J. Genome sequencing highlights the dynamic early history of dog // *PLOS Genetics*, 2014, Vol. 10, pp. 1–12, DOI: 10.1371/journal.pgen.1004016

Germonpre et al., 2009 – Germonpre M., Sablin M.V., Stevens R.E., Robert E.M. Hedges, Hofreiter M., Stiller M., Despre V.R. Fossil dogs and wolves from Palaeolithic sites in Belgium, the Ukraine and Russia: osteometry, ancient DNA and stable isotopes // *Journal of Archaeological Science*, 2009, Vol. 36, pp. 473–490, DOI: 10.1016/j.jas.2008.09.033

Glazko et al., 2015a – Glazko Tatiana T., Gleb Yu. Kosovskiy, Svetlana N. Kovaltchuk, Boris L. Zybailov, Valery I. Glazko. Genomic Scanning Using Inverted Repeats of Microsatellites (GAG)₆C, (AG)₉C // *Biogeosystem Technique*, 2015, Vol.(4), Is. 2, pp. 138-152. DOI: 10.13187/bgt.2015.4.138

Glazko et al., 2015b – Glazko Valery I., Maria A. Elkina, Tatiana T. Glazko. Genomic Scanning Using the Retrotransposon Fragments as "Anchors", in *Animals and Plants // Biogeosystem Technique*, 2015, Vol.(6), Is. 4, pp. 363-373. DOI: 10.13187/bgt.2015.6.363

Glazko et al., 2016a – Glazko Valery I., Timur A. Erkenov, Tatiana T. Glazko, Khisir M. Dzatoev. Genetic Structure of Karachai Horses on ISSR-PCR Markers // *Biogeosystem Technique*, 2016, Vol.(9), Is. 3, pp. 195-204. DOI: 10.13187/bgt.2016.9.195

Glazko et al., 2016b – Glazko Valeriy I., Boris L. Zybailov, Tatiana T. Glazko (2017). Noosphere and Domestication // *Biogeosystem Technique*, 2016, Vol.(10), Is. 4, pp. 271-283. DOI: 10.13187/bgt.2016.10.271

Glazko et al., 2016c – Glazko Valery I., Gleb Yu. Kosovsky, Tatiana T. Glazko. Distribution of Potential Non-Canonical DNA Motif in Proviral DNA Genes of the Avian Influenza and Bovine Leukemia Retroviruses // *International Journal of Environmental Problems*, 2016, Vol. (4), Is. 2, pp. 89-98. DOI: 10.13187/ijep.2016.4.89

Golik et al., 2017 – Golik Tatiana V., Irina I. Gaponova, Eugenia A. Knyaseva, Timur A. Erkenov, Tatiana T. Glazko. Spectra of ISSR-PCR Markers in Assessments of the Intrinsic Genetic Differentiation of the Karachai Horse // *Biogeosystem Technique*, 2017, 4(1): 9-24. DOI: 10.13187/bgt.2017.1.9

İbiş et al., 2015 – İbiş O., Aksöyek E., Özcan S., Tez C. A preliminary phylogenetic analysis of golden jackals (*Canis aureus*) (Canidae: Carnivora: Mammalia) from Turkey based on mitochondrial D-loop sequences // *Vertebrate zoology*, 2015, Vol. 65 (3), pp. 391–397, www.senckenberg.de/vertebrate-zoology on 13.xi.2015.

Karlsson et al., 2007 – Karlsson, E.K., Baranowska I., Wade C.M., SalmonHillbertz N. H C., Zody M.C., Anderson N., Biagi T.M., Patterson N., GerliRosengrenPielberg, Edward J Kulbokas III, Comstock K.E., Keller E.T., Mesirov J.P., Henrik von Euler, Kampe O., Hedhammar A., Lander E.S., Andersson G., Andersson L., & Kerstin Lindblad-Toh. Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association // *Nature genetics*, 2007, Vol. 39, pp. 1321–1328, DOI: 10.1038/ng.2007.10

Koler-Matznick, 2002 – Koler-Matznick Janice. The Origin of the Dog Revisited // *Anthrozoos*, 2002, V. 15(2), pp. 98–118.

Larson, Bradley, 2014 – Larson G., Bradley D.G. How Much Is That in Dog Years? The Advent of Canine Population Genomics // *PLOS Genetics*, 2014, Vol. 10(1), pp. 1–3. e1004093, DOI: 10.1371/journal.pgen.1004093

Leonard et al., 2002 – Leonard J.A., Wayne R. K., Wheeler J., Valadez R., Guillern S., Vila C. Ancient DNA Evidence for Old World Origin of New World Dogs, *Science*, 2002, Vol. 298, pp. 1613–1616, DOI: 10.1126/science.1076980

Li et al., 2013 – Li Y., von Holdt B.M., Reynolds A., Boyko A.R., Wayne R. K., Wu D-D, Zhang Y-P. Artificial Selection on Brain-Expressed Genes during the Domestication of Dog // *Molecular Biology and Evolution*, 2013, pp. 1–10, DOI: 10.1093/molbev/mst088

Negi Jhala, 2015 – Negi T., Jhala Y.V. Population Genetic Structure of Golden Jackal, *Canis aureus* in Gujarat, India // *Octa Journal of Biosciences*, 2015, Vol. 3 (1). pp. 13–17.

Pang et al., 2009 – Pang J-F., Kluetsch C., Zou X-J., Zhang A., Luo L-Y., Angleby H., Ardalan A., Ekstro C., Skollermo A., Lundeberg J., Matsumura S., Leitner T., Zhang Y-P., Savolainen P. mtDNA Data Indicate a Single Origin for Dogs South of Yangtze River, Less Than 16,300 Years Ago, from Numerous Wolves // *Molecular Biology and Evolution*, 2009, Vol. 26(12). pp. 2849–2864, DOI: 10.1093/molbev/msp195

Ratnakumar et al., 2011 – Ratnakumar V.A., Derrien T., Axelsson E., Pielberg G.R., Sigurdsson S., Fall T., Seppala E. H. Identification of Genomic Regions Associated with Phenotypic Variation between Dog Breeds using Selection Mapping // *PLOS Genetics*, 2011, Vol. 7(10): e1002316, DOI: 10.1371/journal.pgen.1002316

Rutkowski et al., 2015 – Rutkowski R., Krofel M., Giannatos G., Ćirović D., Männil P., Volokh A.M., Lanszki J., Heltai M., Szabó L., Banea O.C, Yavruyan E., Hayrapetyan V., Kopaliani N., Miliou A., Tryfonopoulos G.A., Lymberakis P., Penezić A., Pakeltyté G., Suchecka E., Bogdanowicz W. A European Concern? Genetic Structure and Expansion of Golden Jackals (*Canis aureus*) in Europe and the Caucasus // *PLOS One*, 2015, Vol. 1371, pp. 1–22, DOI: 10.1371/journal.pone.0141236

Savolainen et al., 2002 – Savolainen P., Zhang Y., Luo J., Lundeberg J., Leitner T. (2002). Genetic Evidence for an East Asian Origin of Domestic Dogs // *Science*, 2002, Vol. 298, pp. 1610–1613. URL: <http://www.jstor.org/stable/3832846>

Savolainen et al., 2004 – Savolainen P., Leitner T., Wilton A.N., Matisoo-Smith E., Lundeberg J. A detailed picture of the origin of the Australian dingo, obtained from the study of mitochondrial DNA // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, Vol. 101, No. 33 (Aug. 17, 2004), pp. 12387-12390. Accessed: 20-09-2016 14:51 UTC. URL: <http://www.jstor.org/stable/3373147>

Skoglund et al., 2015 – Skoglund P., Ersmark E., Palkopoulou E., and Dale L. Ancient Wolf Genome Reveals an Early Divergence of Domestic Dog Ancestors and Admixture into High-Latitude Breeds // *Current Biology*, Vol. 25, pp. 1–5, DOI: 10.1016/j.cub.2015.04.019

Von Holdt et al., 2010 – Von Holdt B.M., Pollinger J.P., Lohmueller K.E., Han E., Parker H.G., Quignon P., Degenhardt J.D., Boyko A.R., Earl D.A., Auton A., Reynolds A., Bryc K., Brisbin K., Knowles J.C., Mosher D.S., Spady T.C. Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication // *Nature*, 2010, Vol. 464, pp. 898-902. DOI: 10.1038/nature08837

Wang et al., 2013 – Wang G-D., Zhai W., Yang H., Fan R., Cao X., Zhong L. The genomics of selection in dogs and the parallel evolution between dogs and humans // *Nature Communication*, 2013, pp. 1–9. 4:1860, DOI: 10.1038/ncomms2814

Yumnam et al., 2015 – Yumnam B., Negi T., Maldonado J.E., Fleischer R.C., Jhala Y.V. Phylogeography of the Golden Jackal (*Canis aureus*) in India // *PLoS One*. 2015, 10(9):e0138497. DOI: 10.1371/journal.pone.0138497.

Zietkiewicz et al., 1994 – Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. Genome fingerprinting by sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification // *Genomics*, 1994, Vol. 20, pp. 176–183.

References

Glazko et al., 2013 – Glazko V.I., Gladys E.A., Feofilov A.V., Bardukov N.V., Glazko T.T. (2013). ISSR-PCR markery i mobil'nye geneticheskie elementy v genomakh sel'skokhozyaistvennykh vidov mlekopitayushchikh [ISSR-PCR markers and mobile genetic elements in the genomes of agricultural mammal species]. *Agricultural Biology*, Vol. 2, pp. 71–76.

Erkenov, 2015 – Erkenov T.A. (2015). Geneticheskaya struktura i vnutriporodnaya differentsiatsiya karachaevskoi loshadi [Genetic structure and in-breed differentiation of the Karachai horse]. Abstract diss. candidate of agricultural sciences. Moscow.

Cadieu et al., 2009 – Cadieu E., Neff M. W., Quignon P., Walsh K., Chase K., Parker H. G., VonHoldt B. M., Rhue A., Boyko A., Byers A., Wong A. (2009). Coat Variation in the Domestic Dog Is Governed by Variants in Three Genes, *Science*, Vol. 326, pp. 150–153, DOI: 10.1126/science.1177808

Dimond, 2002 – Dimond J. (2002). Evolution, consequences and future of plant and animal domestication, *Nature*, Vol. 418, pp. 700–708.

Erkenov et al., 2017 – Erkenov Timur A., Valery I. Glazko, Eugeny F. Knyaseva, Tatina T. Glazko (2017). Generation of Molecular Genetic Markers in Studies of Genetic Structures of Horses, *International Journal of Environmental Problems*, 3(1): 36-46. DOI: 10.13187/ijep.2017.1.36

Fabbri et al., 2014 – Fabbri E., Caniglia R., Kusak J., Galov A., Gomercic T., Arbanasic H., Huber D., Randi E. (2014). Genetic structure of expanding wolf (*Canis lupus*) populations in Italy and Croatia, and the early steps of the recolonization of the Eastern Alps, *Mammalian Biology*, Vol. 79(2), pp. 138–148. URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mambio.2013.10.002>

Frantz et al., 2016 – Frantz L.A.F., Mullin V.E., Pionnier-Capitan M., Lebrasseur O., Ollivier M., Perri A., Linderholm A., Mattiangeli V., Teasdale M.D., Dimopoulos E.A., Tresset A., Duffraisse M., McCormick F., Bartosiewicz L., Gál E., Nyerges É.A., Sablin M.V., Bréhard S., Mashkour M., Bălăşescu A., Gillet B., Hughes S., Chassaing O., Hitte C., Vigne J.D., Dobney K., Hänni C., Bradley D.G., Larson G. (2016). Genomic and archeological evidence suggests a dual origin of domestic dogs, *Science*, Vol. 352 (6290), pp. 1228–1231, DOI: 10.1126/science.aaf3161

Freedman et al., 2014 – Freedman A.H., Gronau I., Schweizer R.M., Vecchyo D.O.D., Han E., Silva P.M., Galaverni M., Fan Z., Marx P., Lorente-Galdos B., Beale H., Ramirez O.,

Hormozdiari F., Alkan C., Vila C., Squire K., Geffen E., Kusak J., Boyko A.R., Parker H.G., Lee C., Tadiogola V., Siepel A., Bustamante C.D., Harkins T.T., Nelson S.F., Ostrander E.A., Marques-Bonet T., Wayne R.K., Novembre J. (2014). Genome sequencing highlights the dynamic early history of dog, *PLOS Genetics*, Vol. 10, pp. 1–12, DOI: 10.1371/journal.pgen.1004016

Germonpre et al., 2009 – Germonpre M., Sablin M.V., Stevens R.E., Robert E.M. Hedges, Hofreiter M., Stiller M., Despre V.R. (2009). Fossil dogs and wolves from Palaeolithic sites in Belgium, the Ukraine and Russia: osteometry, ancient DNA and stable isotopes, *Journal of Archaeological Science*, Vol. 36, pp. 473–490, doi: 10.1016/j.jas.2008.09.033

Glazko et al., 2015a – Glazko Tatiana T., Gleb Yu. Kosovskiy, Svetlana N. Kovaltchuk, Boris L. Zybailov, Valery I. Glazko (2015a). Genomic Scanning Using Inverted Repeats of Microsatellites (GAG)₆C, (AG)₉C, *Biogeosystem Technique*, Vol.(4), Is. 2, pp. 138-152. DOI: 10.13187/bgt.2015.4.138

Glazko et al., 2015b – Glazko Valery I., Maria A. Elkina, Tatiana T. Glazko (2015b). Genomic Scanning Using the Retrotransposon Fragments as "Anchors", in *Animals and Plants, Biogeosystem Technique*, Vol.(6), Is. 4, pp. 363-373. DOI: 10.13187/bgt.2015.6.363

Glazko et al., 2016a – Glazko Valery I., Timur A. Erkenov, Tatiana T. Glazko, Khisir M. Dzatoev (2016a). Genetic Structure of Karachai Horses on ISSR-PCR Markers, *Biogeosystem Technique*, Vol.(9), Is. 3, pp. 195-204. DOI: 10.13187/bgt.2016.9.195

Glazko et al., 2016b – Glazko Valeriy I., Boris L. Zybailov, Tatiana T. Glazko (2016). Noosphere and Domestication, *Biogeosystem Technique*, Vol.(10), Is. 4, pp. 271-283. DOI: 10.13187/bgt.2016.10.271

Glazko et al., 2016c – Glazko Valery I., Gleb Yu. Kosovsky, Tatiana T. Glazko (2016c). Distribution of Potential Non-Canonical DNA Motif in Proviral DNA Genes of the Avian Influenza and Bovine Leukemia Retroviruses, *International Journal of Environmental Problems*, Vol. (4), Is. 2, pp. 89-98. DOI: 10.13187/ijep.2016.4.89

Golik et al., 2017 – Golik Tatiana V., Irina I. Gaponova, Eugenia A. Knyaseva, Timur A. Erkenov, Tatiana T. Glazko (2017). Spectra of ISSR-PCR Markers in Assessments of the Intrinsic Genetic Differentiation of the Karachai Horse, *Biogeosystem Technique*, 4(1): 9-24. DOI: 10.13187/bgt.2017.1.9

İbiş et al., 2015 – İbiş O., Aksöyek E., Özcan S., Tez C. (2015). A preliminary phylogenetic analysis of golden jackals (*Canis aureus*) (Canidae: Carnivora: Mammalia) from Turkey based on mitochondrial D-loop sequences, *Vertebrate zoology*, Vol. 65 (3), pp. 391–397, www.senckenberg.de/vertebrate-zoology on 13.xi.2015.

Karlsson et al., 2007 – Karlsson, E.K., Baranowska I., Wade C.M., Salmon Hillbertz N. H C., Zody M.C., Anderson N., Biagi T.M., Patterson N., Gerli Rosengren Pielberg, Edward J Kulbokas III, Comstock K.E., Keller E.T., Mesirov J.P., Henrik von Euler, Kampe O., Hedhammar A., Lander E.S., Andersson G., Andersson L., Kerstin Lindblad-Toh (2007). Efficient mapping of mendelian traits in dogs through genome-wide association, *Nature genetics*, Vol. 39, pp. 1321–1328. DOI: 10.1038/ng.2007.10

Koler-Matznick, 2002 – Koler-Matznick Janice (2002). The Origin of the Dog Revisited, *Anthrozoos*, V. 15(2), pp. 98–118.

Larson, Bradley, 2014 – Larson G., Bradley D.G. (2014). How Much Is That in Dog Years? The Advent of Canine Population Genomics, *PLOS Genetics*, Vol. 10(1), pp. 1–3. e1004093, DOI: 10.1371/journal.pgen.1004093

Leonard et al., 2002 – Leonard J.A., Wayne R.t K., Wheeler J., Valadez R., Guillern S., Vila C. (2002). Ancient DNA Evidence for Old World Origin of New World Dogs, *Science*, Vol. 298, pp. 1613–1616, DOI: 10.1126/science.1076980

Li et al., 2013 – Li Y., von Holdt B.M., Reynolds A., Boyko A.R., Wayne R. K., Wu D-D, Zhang Y-P. (2013). Artificial Selection on Brain-Expressed Genes during the Domestication of Dog, *Molecular Biology and Evolution*, pp. 1–10, DOI: 10.1093/molbev/mst088

Negi Jhala, 2015 – Negi T., Jhala Y.V. (2015). Population Genetic Structure of Golden Jackal, *Canis aureus* in Gujarat, India, *Octa Journal of Biosciences*, Vol. 3 (1). pp. 13–17.

Pang et al., 2009 – Pang J-F., Kluetsch C., Zou X-J., Zhang A., Luo L-Y., Angleby H., Ardalan A., Ekstro C., Skollermo A., Lundeberg J., Matsumura S., Leitner T., Zhang Y-P., Savolainen P. (2009). mtDNA Data Indicate a Single Origin for Dogs South of Yangtze River, Less

Than 16,300 Years Ago, from Numerous Wolves, *Molecular Biology and Evolution*, 2009, Vol. 26(12). pp. 2849–2864, DOI: 10.1093/molbev/msp195

Ratnakumar et al., 2011 – Ratnakumar V.A., Derrien T., Axelsson E., Pielberg G.R., Sigurdsson S., Fall T., Seppala E.H. (2011). Identification of Genomic Regions Associated with Phenotypic Variation between Dog Breeds using Selection Mapping, *PLOS Genetics*, Vol. 7(10): e1002316. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002316

Rutkowski et al., 2015 – Rutkowski R., Krofel M., Giannatos G., Ćirović D., Männil P., Volokh A.M., Lanszki J., Heltai M., Szabó L., Banea O.C., Yavruyan E., Hayrapetyan V., Kopalani N., Miliou A., Tryfonopoulos G.A., Lymberakis P., Penezić A., Pakeltytė G., Suchecka E., Bogdanowicz W. (2015). A European Concern? Genetic Structure and Expansion of Golden Jackals (*Canis aureus*) in Europe and the Caucasus, *PLOS One*, Vol. 1371, pp. 1–22, DOI: 10.1371/journal.pone.0141236

Savolainen et al., 2002 – Savolainen P., Zhang Y., Luo J., Lundeberg J., Leitne T. (2002). Genetic Evidence for an East Asian Origin of Domestic Dogs, *Science*, Vol. 298, pp. 1610–1613. URL: <http://www.jstor.org/stable/3832846>

Savolainen et al., 2004 – Savolainen P., Leitner T., Wilton A.N., Matisoo-Smith E., Lundeberg J. (2004). A detailed picture of the origin of the Australian dingo, obtained from the study of mitochondrial DNA, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 101, No. 33 (Aug. 17, 2004), pp. 12387–12390, Accessed: 20-09-2016 14:51 UTC. URL: <http://www.jstor.org/stable/3373147>

Skoglund et al., 2015 – Skoglund P., Ersmark E., Palkopoulou E., and Dale L. (2015). Ancient Wolf Genome Reveals an Early Divergence of Domestic Dog Ancestors and Admixture into High-Latitude Breeds, *Current Biology*, Vol. 25, pp. 1–5, DOI: 10.1016/j.cub.2015.04.019

Von Holdt et al., 2010 – Von Holdt B.M., Pollinger J.P., Lohmueller K.E., Han E., Parker H.G., Quignon P., Degenhardt J.D., Boyko A.R., Earl D.A., Auton A., Reynolds A., Bryc K., Brisbin K., Knowles J.C., Mosher D.S., Spady T.C. (2010). Genome-wide SNP and haplotype analyses reveal a rich history underlying dog domestication, *Nature*. Vol. 464, pp. 898–902, DOI: 10.1038/nature08837

Wang et al., 2013 – Wang G-D., Zhai W., Yang H., Fan R., Cao X., Zhong L. (2013). The genomics of selection in dogs and the parallel evolution between dogs and humans, *Nature Communication*, pp. 1–9. 4:1860. DOI: 10.1038/ncomms2814

Yumnam et al., 2015 – Yumnam B., Negi T., Maldonado J.E., Fleischer R.C., Jhala Y.V. Phylogeography of the Golden Jackal (*Canis aureus*) in India, *PLoS One*, 2015;10(9):e0138497. DOI: 10.1371/journal.pone.0138497.

Zietkiewicz et al., 1994 – Zietkiewicz E., Rafalski A., Labuda D. (1994). Genome fingerprinting by sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification, *Genomics*, Vol. 20, pp. 176–183.

УДК 575.22: 599.742.11: 599.742.13

Сравнительный анализ полилокусных спектров ISSR-PCR маркеров у домашней собаки, шакалов и волков

Ирина Игоревна Гапонова^a, Валерий Иванович Глазко^{a,b}, Татьяна Владимировна Блохина^a, Евгения Александровна Князева^a, Татьяна Теодоровна Глазко^{a,b,*}

^a РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, Российская Федерация

^b Центр экспериментальной эмбриологии и репродуктивных биотехнологий, Российская Федерация

Аннотация. Рассмотрены проблемы взаимоотношений между тремя представителями семейства псовых (*Canidae*) на примере домашней собаки (*Canis lupus*)

* Корреспондирующий автор

Адрес электронной почты: tglazko@rambler.ru (Т.Т. Глазко)

familiaris), волка (*Canis lupus*) и шакала (*Canis aureus*). Проведенное исследование с использованием ISSR-PCR по ди- и тринуклеотидным праймерам (AG)₉C, (GA)₉C и (GAG)₆C показало, что шакалы более генетически разнообразны в сравнении с волками и собаками. По спектрам продуктов амплификации и присутствию общих фрагментов шакалы оказываются ближе к собакам, чем к волкам. На основании генотипирования 53 локусов можно заключить, что в геноме шакала чаще встречаются участки ДНК, фланкированные инвертированными повторами микросателлитов, не наблюдавшиеся в геномах волков и домашней собаки. Результаты исследований, проведенных с помощью ISSR-PCR маркеров, указывающие на высокую генетическую гетерогенность популяции шакалов, согласуются с литературными данными, полученными при генотипировании по микросателлитным локусам, а также по полиморфизму участка D-петли митохондриальной ДНК, которые также свидетельствуют о более выраженной генетической вариабельности шакалов по сравнению с собаками и волками.

Ключевые слова: генетическая гетерогенность, ДНК маркеры, ISSR-PCR, собаки, шакалы, волки.