

producing ungerminating seeds in crosses with wheat and two lines, hybrids of which with wheat are characterized by arrest of the development at the stage of three leaves and die without transition to tillering. Segregation analysis revealed allelism for mutations of embryo lethality in four lines and seedling lethality in two lines of rye. Identified genes are not allelic, but linked. They were mapped in 6R chromosome close to breakpoint of evolutionary translocation. Our experience indicates a high level of variability of the rye genome, which was preserved thanks to the rye existence in the course of its evolution, domestication and breeding as mutually enriching, open-pollinating populations.

This work was supported by a program of the Presidium of RAS "Biodiversity of nature systems", a Grant of The President of RF for supporting of Leading scientific schools NSH-9513.2016.4.

### **Молекулярно-генетическая идентификация таксонов различного уровня в отряде Парнокопытные при исследовании следов с мест незаконной охоты**

Цыбовский И.С., Котова С.А., Рыбакова В.И., Рябцева А.О., Недзвецкая Д.Э., Спивак Е.А.  
Государственное учреждение «Научно-практический центр Государственного комитета судебных экспертиз Республики Беларусь», Минск, Беларусь

Возможность решения вопроса о происхождении биологического материала от конкретного вида животного (рода, семейства, подотряда и т.п.) важна в экспертно-криминалистической практике, особенно в расследовании преступлений экологического и природоохранного характера. Наиболее распространенным преступлением такого рода является незаконная охота (браконьерство). Судебно-экспертное исследование биологических следов с мест незаконной охоты в своем большинстве проводится в отношении объектов, не имеющих выраженных морфологических или физиологических характеристик (пятна крови, смывы с инструментов, фрагменты мышечной ткани и т.п.). Детальная информация для конкретизации объекта может быть получена только молекулярно-генетическим исследованием особенностей ДНК-маркеров.

Основными объектами незаконной охоты являются филогенетически родственные виды отряда Парнокопытные – лось (*Alces alces*), олень (*Cervus elaphus*), косуля (*Capreolus capreolus*), дикий кабан (*Sus scrofa*). Эффективным подходом к исследованию широкой группа родственных видов, для которых отсутствуют детальные сведения о структуре геномов, является адресная перекрестная амплификация (cross-amplification), базирующаяся на консервативных праймер-связывающих участках, имеющих схожие последовательности среди близкородственных видов.

Перекрестную применимость STR-локусов устанавливали путем проведения ПЦР с использованием праймеров бычьих, оленьих и свиных маркеров для тестирования образцов ДНК следующих видов животных: бык, олень, лось, косуля и кабан. Показано, что четыре бычьих микросателлита (*ETH225*, *TGLA122*, *TGLA126*, *CSSM036*), семь оленьих (*T156*, *T530*, *C01*, *T268*, *C273*, *T172*, *T193*) и два маркера северного оленя карибу (*RT9*, *RT24*) успешно амплифицируются у всех представителей подотряда Жвачные и не амплифицируются у представителей подотряда Нежвачные. Свиные микросателлиты, наоборот, успешно амплифицируются у представителей подотряда Нежвачные, но не амплифицируются у представителей подотряда Жвачные.

Один бычий STR-маркер (*BM1824*) амплифицируется как у представителей семейства Полорогие, так и у представителей семейства Оленевые, но продукт ПЦР значительно различается по своим аллельным размерам. Идентифицировать принадлежность одному из семейств подотряда Жвачные можно также на основе бычьих STR-маркеров (*BM2113*, *ETH10*, *ETH3*, *TGLA227*, *HEL1*). Эти локусы амплифицируются только у представителей семейства Полорогие и не амплифицируются у видов семейства Оленевые.

На основе переноса праймеров можно выделить STR-локусы, чьи особенности позволяют дифференцировать виды в составе семейства Оленевые и однозначно идентифицировать принадлежность того или иного биологического материала одному из видов. Три бычьих STR-маркера (*TGLA122*, *TGLA126*, *CSSM036*) амплифицируются у представителей всех трех видов и при этом имеют размерные диапазоны аллелей, различные у каждого вида. Например, у маркера *TGLA122* фрагмент длиной 134 п.н. свидетельствует о принадлежности лосю, фрагменты с размерами 126-128 п.н. характерны для косули, фрагменты в диапазоне 149-151 п.н. – для оленя. Размеры фрагментов указаны для автоматического ДНК-секвенатора «MegaBACE 750» («Amersham Biosciences», США). Маркер северного оленя *RT24* проявляется у оленя благородного одним фрагментом 185 п.н., у косули также амплифицируется один фрагмент, но размером 192 п.н., у лосей этот маркер полиморфен и характеризуется аллелями с размерным диапазоном 240-266 п.н. (AB3500, Applied Biosystems).

### **Molecular genetic identification of taxa of different levels within the order *Artiodactyla* based on traces from poaching crime scenes**

Tsybovsky I.S., Kotova S.A., Rybakova V.I., Rabcava A.A., Nedzvedskaya D.E., Spivak E.A.  
*Scientific and Practical Centre of the State Committee of Forensic Examination, Minsk, Belarus*

The ability to link biological material to the species (genus, family, suborder, etc.) it originates from is important in forensic science and especially in investigations of environmental crimes, of which illegal hunting (poaching) is the most common. Forensic investigation of poaching sites typically involves biological specimens (blood stains, fragments of muscle) that do not display clear morphological or physiological characteristics. Detailed information for specimen identification can therefore only be obtained via molecular genetic study of DNA markers.

The main targets of poaching are phylogenetically related species of *Artiodactyla* such as the moose (*Alces alces*), red deer (*Cervus elaphus*), roe deer (*Capreolus capreolus*), and wild boar (*Sus scrofa*). In the absence of detailed information on genome structures, an efficient approach to the study of a wide group of closely related species is cross-amplification based on conserved primer-binding regions, which have similar sequences in such species. The cross-applicability of STR loci was determined by PCR using cow, red deer, roe deer, moose, and wild boar DNA samples and primers specific to DNA from the cow, red deer, and pig.

We showed that four bovine microsatellites (*ETH225*, *TGLA122*, *TGLA126*, *CSSM036*), seven deer microsatellites (*T156*, *T530*, *C01*, *T268*, *C273*, *T172*, *T193*), and two reindeer microsatellites (*RT9*, *RT24*) can be successfully amplified in all the members of the suborder *Ruminantia* but not in the members of the suborder *Suina* (*Nonruminantia*). Similarly, pig microsatellites are successfully amplified in the members of *Suina* but not *Ruminantia*. Although one cow STR-marker (*BM1824*) is amplified in both the members of the *Bovidae* and *Cervidae* families, the corresponding PCR products differ substantially in allele size. It is also possible to discriminate between the *Ruminantia* families by using bovine STR markers (*BM2113*, *ETH10*, *ETH3*, *TGLA227*, *HEL1*). These loci are only amplified in the members of the *Bovidae* family but not of the *Cervidae* family.

Based on cross-amplification, it is possible to find STR loci whose characteristics allow the differentiation of the species within the *Cervidae* family and unequivocal assignment of biological material to a single species. Three bovine STR-markers (*TGLA122*, *TGLA126*, *CSSM036*) are amplified in all the three species but exhibit species-specific allele ranges. For example, for the *TGLA122* marker, fragment lengths of 134, 126-128, and 149-151 bp identify the species as the moose, roe deer, and red deer, respectively. The above fragment sizes are for the automatic DNA sequencer MegaBACE 750 (Amersham Biosciences, USA). While the *RT24* marker of the reindeer produces single fragments of 185 bp and 192 bp, respectively, in the red deer and roe deer, it is

polymorphic in the moose, resulting in allele sizes within 240-266 bp (for the automatic DNA sequencer AB3500, Applied Biosystems).