УДК 613.26:577

Н.А. Москвина, Л.С. Дышлюк, Ю.В. Голубцова

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ НУКЛЕОТИДНЫХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ ФРАГМЕНТОВ ГЕНОМА ПЛОДОВ И ЯГОД ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКОГО РОДСТВА

Показан анализ нуклеотидных последовательностей генома плодово-ягодного сырья. Использованы молекулярно-биологические методы выявления родового сродства. Объектами исследования выбраны вишня/черешня, банан и киви, проведено сравнение нуклеотидной последовательности данных образцов. Представлены качественные характеристики и химический состав исследуемых объектов. Проведен сравнительный анализ последовательностей гомологических генов растительного сырья пищевого назначения: вишни/черешни, банана, киви. Были выбраны последовательности, присутствующие во всех геномах. Выполнен анализ геномов вишни / черешни, были выбраны небольшие последовательности, присутствующие во всех геномах. Проанализировали данные геномов банана, представлено 23 последовательности. Проведен анализ геномов киви, были выбраны 10 последовательностей, имеющих наибольшее сродство. Выстроены филогенетические дендрограммы генов плодово-ягодного сырья. Произвели равнение нуклеотидных последовательностей с помощью программы Word. Определено сходство нуклеотидных последовательностей областей геномов исследуемых объектов. Полученные результаты имеют важное значение для дальнейшей разработки новой методики идентификации плодово-ягодного сырья.

Вишня/черешня, банан, киви, геном, нуклеотидная последовательность, филогенетический анализ.

Введение

Известно, что мякоть плодов и ягод содержит многочисленные витамины, микро-, макроэлементы, другие биологически активные соединения, которые оказывают благотворное воздействие на организм человека. Поэтому большое значение уделяется всеобщему изучению и последующему применению их в качестве сырья при производстве продуктов питания [1].

В настоящее время широко распространена фальсификация продукции, она существует в любой отрасли промышленности. С ростом свободной торговли и частного производства, в том числе плодово-ягодного сырья, готовых продуктов и полуфабрикатов на его основе, увеличивается возможность их фальсификации по структуре и видовой принадлежности за счет использования различных красителей и ароматизаторов. Фальсификация очень выгодна изготовителям соков и плодово-ягодной продукции, в этой связи сегодня актуальна разработка высокоэффективных методов выявления фальсификаций продукции [5, 6]. Постоянное совершенствование методов молекулярной биологии и накопление данных по составу генома плодово-ягодных растений способствовали появлению экспресс-методов идентификации сырья растительного происхождения. На молекулярно-биологических методах основаны способы исследования происхождения и выявление видового сродства, позволяющих провести сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей генов. Итак, молекулярно-генетический анализ является неотъемлемой частью любого филогенетического исследования [2, 3, 4].

Основа филогенетического исследования – сравнение первичных нуклеотидных последовательностей и последующее представление результатов сравнения.

Следовательно, все вышесказанное говорит о необходимости и возможности решения проблемы фальсификации и идентификации продукции на растительной основе.

Целью настоящего исследования являлось определение филогенетики плодов и ягод путем анализа нуклеотидных последовательностей фрагментов генома плодов и ягод.

Объект и методы исследования

В качестве исследуемого объекта были выбраны нуклеотидные последовательности вишни/черешни, банана, киви.

Вишня (лат. *Prúnus subg. Cerásus*) – подрод растений рода Слива (*Prunus*) семейства Розовые (*Rosaceae*). Подрод *Cerasus* – плод (костянка) гладкий, без налёта; листья в почкосложении вдоль сложенные; цветки расположены зонтиками, развиваются одновременно с листьями или ранее их. Подрод делят на две секции – *Cerasus* и *Laurocerasus*, которые включают более 60 видов.

Плоды вишни имеют кисло-сладкий вкус, в них содержатся органические кислоты (лимонная кислота, яблочная кислота, янтарная кислота, салициловая кислота), микроэлементы (медь, железо, цинк, йод, марганец, хром, фтор, молибден, бор, ванадий, кобальт, никель, рубидий), макроэлементы (калий, кальций, фосфор, магний), а также пектиновые вещества, сахара, витамины А, С, Е, B_1, B_2, РР, фолиевая кислота.

Черешня, или **Вишня птичья** (лат. *Prunus avium*) – древесное растение из семейства Розовые (*Rosaceae*), произрастает в диком виде в лесах Украины, южной России, в Крыму, на Кавказе. Плоды черешни имеют приятный вкус и содержат органические кислоты, сахара (фруктозу, глюкозу), витамины С, А, B_1, B_2, Е, РР, микроэлементы (железо, йод), макроэлементы (калий, кальций, магний и дру-

гие), пектиновые вещества. Плоды также используют для получения соков, компотов, плодового вина, приготовления варенья и джема.

Банан (лат. *Músa*) – род многолетних травянистых растений семейства Банановые. Съедобные сорта бананов условно делятся на две основные группы: десертные, употребляемые в основном в сыром или сушёном виде, и плантайны (или платано), которые перед употреблением требуют термической обработки. Мякоть десертных сортов очень сладкая на вкус, содержит большое количество углеводов, витамина С, фосфор, железо, калий, кальций и магний.

Киви (лат. *Actinidia chinensis*) – название плодов культурных сортов растений, принадлежащих к роду Актинидия, родом из Китая, поэтому киви иногда называют «китайским крыжовником». Плод киви – это ягода. Мякоть обычно зелёная или жёлтая. Плоды киви содержат высокое количество калия.

Для выявления степени филогенетического родства между разными видами организмов использовали методы, основанные на сравнение нуклеотидных последовательностей гомологических генов. Данные представлены с помощью дендрограммы – чертежа, который отражает родственные связи между макромолекулами.

Результаты и их обсуждение

Анализ геномов исследуемого плодово-ягодного сырья проводили по базам данных национального центра NCBI США, были выбраны небольшие последовательности, присутствующие во всех геномах. Все выбранные нуклеотидные последовательности представлены в табл. 1.

Таблица 1

Наименование сырья	Количество нуклеотидных последовательностей	Степень сродства по скору, %
Вишня/черешня *(Prúnus subg. Cerásus)*	25	95
Банан (Músa)	23	95
Киви *(Actinidia chinensis)*	10	95

Проведен анализ геномов вишни / черешни, были выбраны небольшие последовательности, присутствующие во всех геномах. Полученные данные говорят о том, что для вишни / черешни представлено всего 25 последовательностей, которые имеют наибольшее сродство – 95 % по скору.

Результаты анализа геномов банана свидетельствуют о том, что для банана представлено всего 23 последовательности, которые имеют наибольшее сродство – 95 % по скору.

Проведен анализ геномов киви, были выбраны небольшие последовательности, присутствующие во всех геномах. Для киви представлено всего 10 последовательностей, которые имеют наибольшее сродство – 95 % по скору.

Равнения нуклеотидных последовательностей выполнены в программе Word, результаты филогенетического анализа www.phylogeny.fr представлены на рис. 1.

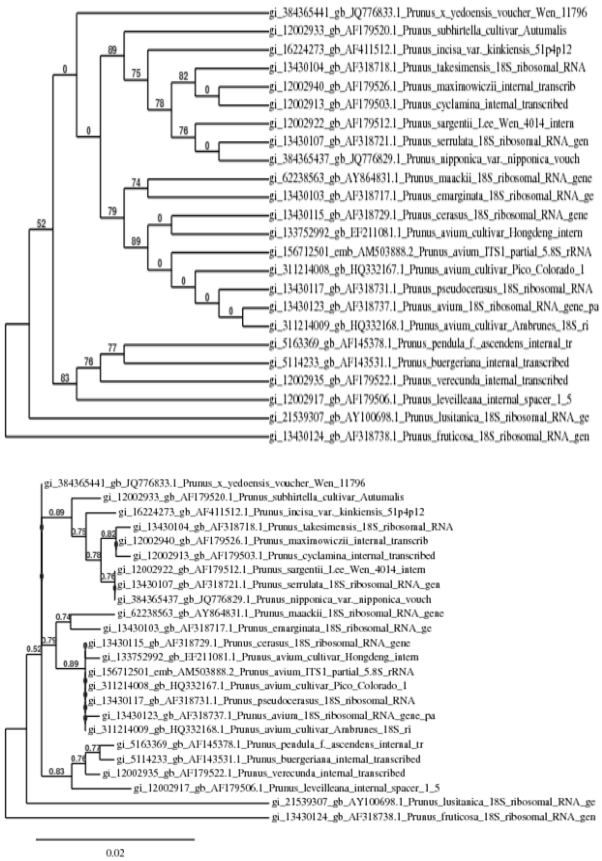

Рис. 1. Филогенетическая дендрограмма генов вишни / черешни

Согласно рис. 1, существует один основной кластер (группа двух или больше таксонов или последовательностей ДНК, которая включает как своего общего предка, так и всех его потомков), который обозначим Cluster I, и отдельная нуклеотидная последовательность, которая является первоначальной, каждый кластер делится на меньшие кластеры. Всего Cluster I делится на 42 кластера. Кроме этого, филогенетическое дерево имеет 24 узла. Представленный анализ отражает родственные связи родов вишни/черешни.

Для построения филогенетической дендрограммы генов банана провели равнение нуклеотидных последовательностей в программе Word, результаты www.phylogeny.fr отразили на рис. 2.

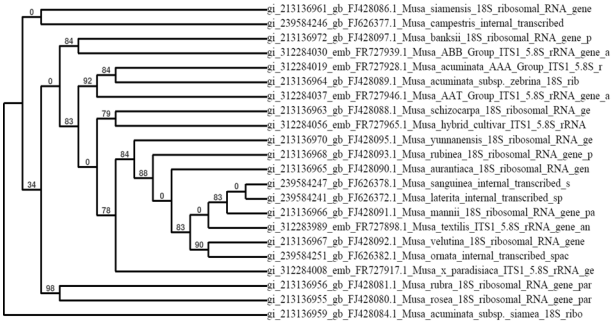

Рис. 2. *Начало*. Филогенетическая дендрограмма генов банана

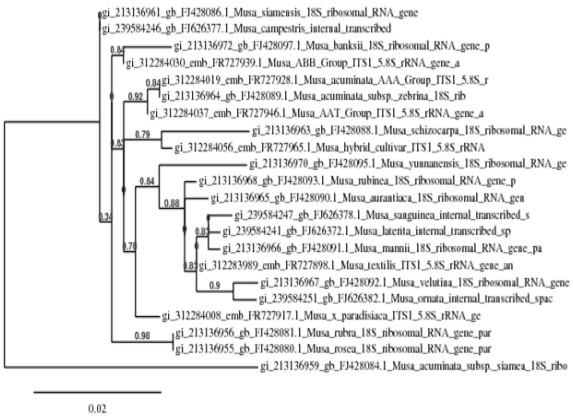

Рис. 2. *Окончание*. Филогенетическая дендрограмма генов банана

Анализ полученных данных показал, что существует один основной кластер, которые обозначим Cluster I, и отдельная нуклеотидная последовательность, которая является первоначальной, каждый кластер делиться на меньшие кластеры. Всего Cluster I делится на 40 кластеров. Представленное филогенетическое дерево имеет 20 узлов. Данный анализ отражает родственные связи выше приведенных родов банана.

Для построения филогенетической дендрограммы провели равнение нуклеотидных последовательностей генов киви в программе Word, филогенетический анализ www.phylogeny.fr, результаты которого отражены на рис. 3.

Как видно из рис. 3, существуют два основных кластера, которые обозначим Cluster I и Cluster II, каждый кластер делится, в свою очередь, на меньшие кластеры.Всего Cluster I делится на 8 кластеров и Cluster II – также на 8 кластеров. Кроме того, филогенетическое дерево имеет 8 узлов. Представленный анализ отражает родственные связи выше приведенных родов киви.

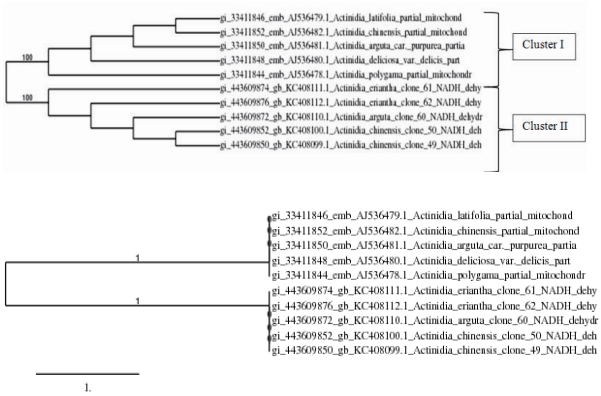

Рис. 3. Филогенетическая дендрограмма генов киви

Выводы

Для установления филогенетического родства растительного сырья пищевого назначения: вишни/черешни, банана и киви, провели сравнение нуклеотидных последовательностей их генов. По данным анализа нуклеотидного состава исследуемых генов обнаружили сходство нуклеотидных последовательностей геномов исследуемого сырья. Полученные результаты имеют весомое значение для разработки новой методики идентификации плодово-ягодного сырья и продуктов на их основе.

Список литературы

1. Левкис, З. Инновационные подходы в переработке плодов и ягод / З. Левкис, Л. Павловская // Наука и инновации. – 2012. – № 6. – С. 20–21.

2. Лукашов, В.В. Молекулярная эволюция и филогенетический анализ / В.В. Лукашов. – М.: Бином, 2009. – 256 с.

3. Методы ДНК-технологии для идентификации растительного сырья в молочных продуктах / А.Ю. Просеков, О.В. Мудрикова, А.В. Булавина, А.Н. Архипов // Молочная промышленность. – 2011. – № 12. – С. 62–63.

4. Просеков, А.Ю. Использование тест-систем в молочной промышленности / А.Ю. Просеков, Е.В. Короткая, К.В. Беспоместных // Молочная промышленность. – 2009. – № 11. – С. 70–72.

5. Тимофеева, В.А. Товароведение продовольственных товаров: учебник / В.А. Тимофеева. – изд. 6-е, перераб. и доп. – Ростов н/Д: Феникс, 2006.– 363 с.

6. Чепурна, И.П. Идентификация и фальсификация продовольственных товаров: учебник / И.П. Чепурна. – М.: Дашков и К°, 2007. – 448 с.

ФГБОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности»,
650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47.
Тел/факс: +7 (3842) 73-40-40,
e-mail: office@kemtipp.ru

SUMMARY

N.A. Moskvina, L.S. Dyshlyuk, Yu.V. Golubtsova

USE OF NUCLEOTIDE SEQUENCES OF FRUIT AND BERRY GENOME FRAGMENTS TO DETERMINE PHYLOGENETIC RELATIONSHIP

The analysis of the nucleotide sequences of the genome of fruit and berry raw materials is given. Molecular-biological methods of identifying generic affinity are used. The objects of study were cherry/ sweet cherry, banana, kiwi. The comparison of the nucleotide sequences of samples was carried out. Qualitative characteristics and chemical composition of the studied objects are presented. A comparative analysis of homologous genes sequences of plant raw materials such as cherry/sweet cherry, banana, kiwi was carried out. The sequences present in all genomes were selected. The analysis of cherry /sweet cherry genomes was carried out, and small sequences present in all genomes were selected. The data on the banana genomes was analyzed, 23 sequences being presented. The analysis of kiwi genomes were fulfilled and 10 sequences having the greatest affinity were selected. Phylogenetic dendogram of fruit and berry raw material genes were built. The alignment of nucleotide sequences using the Word program was done. The similarity of the nucleotide sequences of the genome areas of the studied objects was determined. The results obtained are important for further development of new methodology in the identification of fruit and berry raw materials.

Cherry/sweet cherry, banana, kiwi, genome, nucleotide sequence, phylogenetic analysis.

REFERENCES

1. Levkis Z., Pavlovskaia L. Innovatsionnye podkhody v pererabotke plodov i iagod [Innovative approaches in the processing of fruits and berries]. *Science and innovation*, 2012, no. 6, pp. 20-21.
2. Lukashov V.V. *Molekuliarnaia evoliutsiia i filogeneticheskii analiz* [Molecular evolution and phylogenetic analysis of]. Moscow, Binom, 2009. 256 p.
3. Prosekov A.Yu., Mudrikova O.V., Bulavina A.V., Arkhipov A.N. Metody DNK- tekhnologii dlia identifikatsii rastitel'nogo syr'ia v molochnykh produktakh [The methods of the DNA technologies for the vegetable raw materials identification in milk products]. *Dairy Industry*, 2011, no. 12, pp. 62-63.
4. Prosekov A.Yu., Korotkaya E.V., Bespomestnykh K.V. Ispol'zovanie test - sistem v molochnoi promyshlennosti [Application of test systems in the dairy sector]. *Dairy Industry*, 2009, no. 11, pp. 70-72.
5. Timofeeva V.A. *Tovarovedenie prodovol'stvennykh tovarov* [Commodity food products]. Rostov-on-Don, Publ. Phoenix, 2006. 363 p.
6. Chepurna I.P. *Identifikatsiia i fal'sifikatsiia prodovol'stvennykh tovarov* [Identification and falsification of food products], Moskow, Dashkov and Ko, 2007. 448 p.

Kemerovo Institute of Food Science and Technology,
47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056 Russia.
Phone/fax: +7 (3842) 73-40-40,
e-mail: office@kemtipp.ru

Дата поступления: 26.06.2014