
СЕЛЕКЦІЯ, ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

УДК 639.3:575

СПЕЦИФІКА ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ АМУРСЬКОГО САЗАНА ВАТ "ДОНРИБКОМБІНАТ"

А.Е. Маріуца

Інститут рибного господарства НААН

Досліджено специфіку генетичної структури амурського сазана ВАТ "Донрибкомбінат" Слов'янського району, відділення "Червона Долина", за розподілом алелів і генотипів електрофоретичних варіантів окремих локусів. Виявлено породоспецифічні особливості генетичної структури за дослідженими локусами. Розраховано реальний і очікуваний рівень середньої гетерозиготності на локус в амурського сазана.

Риби належать до числа небагатьох об'єктів у яких, з одного боку, відносно повно дослідженні закономірності індивідуального розвитку, а з іншого — вивчені окремі закономірності філогенезу. В зв'язку з цим риб можна віднести до тих груп організмів, різнобічні дослідження яких привело до формулювання біогенетичного закону, пов'язавши в один індивідуальний і історичний розвиток тварин. У найпростішому вигляді цей закон наголошує, що онтогенез є коротким і швидким повторенням філогенезу, і вивчення механізмів, які підтримують біохімічний поліморфізм у природних популяціях риб, є одним з впливових завдань популяційної генетики [1].

Використання високополіморфних молекулярно-генетичних маркерних систем дає змогу проводити оцінку внутрішньо- і міжпорідної мінливості тварин як на міжпорідному, так і внутрішньопорідному рівнях. Мінливість за біохімічними маркерами гомологічна і легко зводиться до генних частот.

Ширше використання біохімічних маркерів за їх мінливості в сільськогосподарських тварин, у тому числі і риб, за специфічних умов відбору необхідна для вивчення можливих механізмів формотворних процесів, біохімічних основ взаємозв'язку різних морфологічних систем.

Виявлення і аналіз поліморфних білкових систем риб є також важливим

для розв'язання багатьох теоретичних і практичних проблем, пов'язаних з раціональною організацією рибного господарства і селекцією риб. Характеристика генетичної структури порідних груп риб з використанням методів біохімічної генетики допомагає оцінювати особливості їх походження, визначати ступінь їх генетичної подібності, а також вивчати специфічні особливості динаміки генофондів у відповідь на дію факторів штучного і природного відборів [2].

Метою роботи було вивчення генетичних особливостей та специфіки структури популяції амурського сазана шляхом аналізу розподілу алелів і генотипів за електрофоретичними варіантами окремих генетико-біохімічних систем.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Зразки крові відбирали у плідників 6-річного віку обох статей у кількості 32 особини з ВАТ "Донрибкомбінат" Слов'янського району, відділення "Червона Долина" (Україна). Кров брали піпетками Пастера з серця, як консервант використовували розчин гепарину (25 МО на 1 мл зразка). Фракціонували її центрифугуванням упродовж 10 хв з 3,5 тис. об./хв. Отримані фракції плазми крові, лейкоцитів та еритроцитів фасували у пробірки типу "Eppendorf", заморожували і зберігали за температури -18°C .

Для вивчення поліморфізму білкового спектра плазми крові у риб використовуву-

вали метод поліакриламідного гелі-електрофорезу. Електрофоретичний аналіз білків плазми крові проводили в 9%-му розділяючому поліакриламідному гелі.

Поліакриламідний гелі-електрофорез (PAGE) — це модифікована методика Gahne (1977) [3]. Метод дає змогу типувати на одній пластині гелю алелі локусів трансферину (TF), естерази (ES), альбуміну (ALB) [4].

На один трек наносили 7,5 мкл плазми крові. Як лідируючий фарбник використовували розчин бромфенолового синього в 50%-му гліцерині. Хід електрофорезу спостерігали за рухом альбумінової зони.

Після проведення електрофорезу гелі фарбували на активність естеразного спектра. Буфер містив 100 мл Na_2HPO_4 , 100 мл NaH_2PO_4 , α -нафтил ацетату, β -нафтил ацетату і RR-солі, фосфатний буфер рН — 7.4. Інкубували гелі 10–15 хв за 37°C у темноті.

Після проведення електрофорезу гелі знову фарбували на загальний білковий спектр з одночасною фіксацією 0,04%-м розчином кумасі G-250 в 7%-й оцтовій кислоті. Потім блоки відмивали в 7%-й оцтовій кислоті та фотографували.

Статистичну обробку отриманих результатів виконували за допомогою комп'ютерної програми "Biosys-1" [5].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У роботі розглянуто генетико-біохімічні системи, поліморфізм яких може бути використаний для визначення специфіки генетичної структури риб.

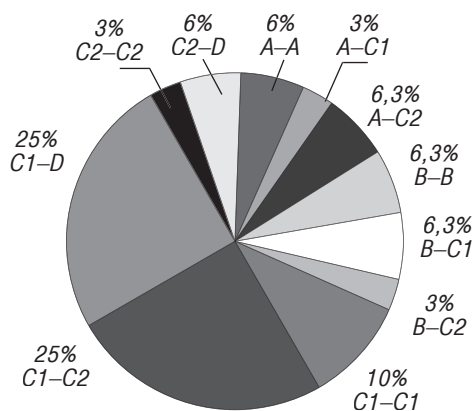
Трансферин (TF) — мономерний білок з молекулярною масою близько 70000, металопротейн бета-глобулінової зони сироватки крові виконує функцію перенесення іонів заліза [6, 7], неспецифічний, зв'язує іони інших металів, переважно кодується одним структурним геном. Дослідивши поліморфізм системи трансферину, було виявлено п'ять алельних варіантів трансферинового локусу — Tf A, Tf B, Tf C₁, Tf C₂, Tf D. Частоти п'яти алелів: Tf A — 0,033, Tf B — 0,100, Tf C₁ — 0,400, Tf C₂ — 0,367, Tf D — 0,100. Найбільш розповсюдженими генотипами є ті, які включають алелі Tf C₁, Tf C₂. Порівняння фактичних і теоретичних

генотипів виявили наявність невеликого надлишку гомозигот за локусом трансферину (Tf C₁C₁ — теоретично (4), фактично (9); Tf C₂C₂ — теоретично (3), фактично (5) (рисунок).

Естерази (EST) — ферменти, які каталізують у клітинах гідролітичне розщеплення складних ефірів на спирти і кислоти за участю молекул води (гідроліз). Успадковуються за кодомінантним типом без утворення гібридних білків. У популяційно-генетичних дослідженнях естерази мають дані про вплив екологічних умов на частоту визначення генотипів естераз [8].

Успадковуються естерази за кодомінантним типом без утворення гібридних білків. Молекула естерази являє собою димер, тому кількість ізоформ для цього ферменту обмежена [9]. Поліморфізм за генами естерази зустрічається доволі часто: його знайдено у багатьох родинах риб, враховуючи і коропових.

При електрофоретичному аналізі плазми крові виявили дві зони естеразної активності — швидка (Est-1) та повільна (Est-2). Локус Est-1 — поліморфний і представлений трьома генотипами — FF, FS и SS. Частота зустрічальності алельного варіанта — Est F — 0,267, Est S — 0,733. Спостерігається виражений статистично достовірний надлишок гетерозигот за локусом естерази (Est FS — теоретично (11), фактично (16)); і дефіцит гомозигот (Est S S — теоретично (16), фактично (14)); за локусом EST ($\chi^2 = 3,679$, $p = 0,005$).



Відсоток зустрічальності генотипів локусу трансферину в амурського сазана

Альбумін (ALB) — основний білок плазми крові, який становить 40–60% загальної кількості білка плазми. Основна його роль — участь у підтримці колоїдно-осмотичного тиску плазми і об'єму циркулюючої крові [10]. Проведений аналіз генетичної структури амурського сазана за локусом альбуміна виявив, що він був представлений двома електрофоретичними компонентами. З трьох теоретично очікуваних його генотипів виявлено ще два варіанти: однокомпонентний — AA і двокомпонентний — AB. Генотипу BB не було. Переважала частота зустрічальності алейного варіанта В — 0,867.

Рівень поліморфізму і середня гетерозиготність є головними показниками, що використовуються для порівняльної характеристики генетичної мінливості різних та переважно окремих таксономічних груп риб.

Для оцінки рівня генетичної мінливості застосовують три критерії відсотка поліморфних генів (P), середню гетерозиготність особи, розраховану на один локус (H) та середнє число алелів (A) [11, 12]. Нами було вивчено рівень середньої гетерозиготності на локус (таблиця).

З трьох досліджених генетико-біохімічних систем високий рівень середньої гетерозиготності спостерігався за локусом трансферину 0, 696, що свідчить про

Середня гетерозиготність за дослідженими локусами

Рівень середньої гетерозиготності	Локуси		
	TF	EST	ALB
H	0,696	0,398	0,235
He; (SE)	0,443 (0,135)		

Примітка. He — на локус за трьома поліморфними генетико-біохімічними системами; SE — похибка.

великий рівень генетичної мінливості досліджуваної популяції і потребу в її подальшій генетичній консолідації.

ВИСНОВКИ

Вивчення генетико-біохімічних систем виявило поліморфізм за локусами TF, ALB, EST. Аналіз генетичної структури амурського сазана, показав високу частоту зустрічальності алейних варіантів за локусами Tf C₁ — 0,400; Est S — 0,733; ALB B — 0,867.

Таким чином, алейні варіанти досліджених поліморфних генетико-біохімічних систем можуть бути використані для оцінки генетичної структури порід і внутрішньопорідних груп, що дуже важливо для організації племінної справи і ведення селекційної роботи в риборицтві.

ЛІТЕРАТУРА

1. Катасонов В.Я., Гомельский Б.Н. Селекция рыб с основами генетики. — М.: Агропромиздат, 1991. — 209 с.
2. Паавер Т. Биохимическая генетика карпа (*Cyprinus carpio* L.) / Т. Паавер. — Таллин: Валгус, 1983. — 122 с.
3. Gahne B., Juneja R.K., Grolmus J. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle // *Anim. Blood Group Biochem. Genet.* — 1977. — V. 8, № 3. — P. 127–137.
4. Алтухов Ю.П., Рычков Ю.Г. Популяционные системы и их структурные компоненты. Генетическая стабильность и изменчивость // *Общ. биология.* — 1970. — Т. 31. — С. 507–526.
5. BIOSYS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // D.L. Swofford, R.B. Selander // *J. Heredity.* — 1981. — V. 72. — P. 281–283.
6. Valenta V., Slechta V., Shlechtova V., Kalal L. Genetic polymorphism and isoenzyme patterns of lactate dehydrogenase in tench (*Tinea tinea*), crucian carp (*Carassius carassius*) and carp (*Cyprinus carpio*) // *Anim. Blood Groups and Biochem. Genet.* — 1977. — V. 8, № 3. — P. 217–230.
7. Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. — Л.: Наука, 1987. — 520 с.
8. Корочкин О.Л., Серов А.И., Пудовкин Л.И. и др. Генетика изоферментов. — М.: Наука, 1977. — 275 с.
9. Holmes R.S. Developmental Genetics of the Esterase Isozymes of *Fundulus heteroclitus* / R. Holmes, G. Whitt // *Biochemical Genetics.* — 1970. — V. 4. — P. 471–480.
10. Эфроимсон В.П. Введение в медицинскую генетику. — 2 изд. — М., 1968.
11. Брюейкер Дж.Л. Сельскохозяйственная генетика / Пер. с англ. — М., 1966.
12. Лобашов М.Е. Генетика. — 2 изд. — Л., 1967.

СПЕЦИФИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ АМУРСКОГО САЗАНА ВАТ “ДОНРЫБКОМБИНАТ”

А.Э. Мариуца

Исследована специфика генетической структуры амурского сазана, ВАТ “Донрыбкомбинат” Славянского района, отделения “Красная Долина”, по распределению аллелей и генотипов электрофоретических вариантов отдельных локусов. Выявлены породоспецифические особенности генетической структуры по исследованным локусам. Рассчитаны реальные и ожидаемые уровни средней гетерозиготности на локус у амурского сазана.

SPECIFICITY OF ECIFICITY OF GENETIC STRUCTURE OF THE AMUR WIDL CARP AT THE OS “DONFISHCOMBINE”

A. Mariutsa

Specificity of genetic structure of the Amur widl carp at the OS “Donfishcombine” of Slavic area of the department “Red Valley” according to separation of alleles and genotypes of electrophores variants particular loci has been investigated. It has been found out the breedspecific peculiarities of genetic structure according to the investigated loci. The real and expected level of middle heterozygosity on a locus of the Amur widl carp was calculated.

УДК 639.3.032

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ КРІОКОНСЕРВУВАННЯ СПЕРМИ НА РОЗВИТОК МОЛОДІ УКРАЇНСЬКИХ ПОРІД КОРОПА

О.Л. Безусий¹, В.О. Черепнін¹, В.В. Бех¹, Є.Ф. Копейка², С.І. Дрокін²

¹ Інститут рибного господарства НААН

² Інститут проблем кріобіології та кріомедицини НАНУ

*Проведено дослідження порівняння швидкості росту та відсотка виходу після періоду під-
рощування між групами молоді коропа, отриманої із застосуванням як нативної, так
і розмороженої кріоконсервованої сперми.*

Кріоконсервування статевих продуктів риб з метою збереження та подальшого використання генетичного матеріалу найбільш цінних у господарському відношенні плідників на сучасному етапі переходить із галузі новітніх досліджень у сферу рутинних технологій. Детально розроблені та постійно вдосконалюються режими заморожування, склад кріозахисних середовищ, форма та матеріал контейнерів [1–3].

Тим часом недостатньо вивченим залишається питання про те, як впливає глибоке охолодження сперми (до -196°C) на якість потомства риб, отриманого з її використанням. Серед фахівців активно дискутувались гіпотези щодо селективно-го впливу попереднього заморожування

на якість сперміїв, а отже, і на життєстійкість отриманої молоді. У літературі з'явилися публікації [4], в яких наводяться дані про вищу активність харчування та резистентність личинок, отриманих із застосуванням розмороженої сперми, порівняно із личинками, які виключились із ікри заплідненої нативною спермою. З іншого боку, інформації про порівняння найпростіших морфометричних показників, які б характеризували темп росту личинок із дослідної і контрольної груп, не наведено.

Мета досліджень полягала в тому, щоб шляхом порівняльного аналізу виявити наявність різниці (або показати її відсутність) між личинками коропа, отриманими з використанням нативної