

СЕЛЕКЦІЯ, ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

УДК 639.3:597–115

ГЕНЕТИЧНА СТРУКТУРА ОКРЕМИХ ПЛЕМІННИХ СТАД СТРОКАТОГО ТОВСТОЛОБИКА (*HYRORHTALMICHTHYS NOBILIS*)

І. І. Грициняк, info@ifr.com.ua, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

А. Е. Маріуца, mariutsa@list.ru, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

С. І. Тарасюк, tarasjuk@ukr.net, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

Мета. Вивчення специфіки генетичної структури, рівня внутрішньої та міжпопуляційної генетичної мінливості племінних стад строкатого товстолобика різних зон ведення рибництва за використання ДНК-маркерів (ISSR-PCR).

Методика. Для дослідження специфіки генетичної структури на підставі ПЛР використовували ISSR-PCR-методику з відповідно підібраними праймерами.

Результати. За результатами досліджень племінних стад строкатого товстолобика було проведено аналіз генетичної структури за використання трьох мікросателітних локусів ДНК: (CTC)₆C, (GAG)₆C, (AGC)₆G. Досліджені популяції накопичують резерв генотипової мінливості у різних ділянках мікросателітних локусів. Виявлені специфічні особливості між дослідженими популяціями строкатого товстолобика можуть характеризувати ступінь гетерозиготності стад, що розводяться в даних господарствах. Варіацій виявлених ампліконів достатньо, щоб відокремлювати особин племінних стад, або, якщо робота проводиться з групою плідників, підбирати батьківські пари для підвищення генетичного розмаїття.

Наукова новизна. Встановлено особливості генетичної структури, рівень генетичної мінливості племінних стад строкатого товстолобика різних зон ведення рибництва за використання ДНК-маркерів.

Вперше отримано нові дані про специфіку генетичної структури при використанні методів на основі ПЛР, які сприяють виявленню специфіки механізмів підтримки відносної стабільності генофонду строкатого товстолобика і дозволяють контролювати та зберігати специфічність їх генетичної структури.

Практична значимість. Практична значимість досліджень полягає в пропонуванні методу генетичного контролю популяцій строкатого товстолобика, на підставі ПЛР, який дає можливість за використання запропонованих праймерів провести аналіз генетичної структури племінних стад і реалізувати генетичну інформацію на різних стадіях селекційного процесу.

Ключові слова: молекулярно-генетичні методи, ДНК, строкатий товстолобик, генетична структура, ПЛР.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Важлива роль у вирішенні проблеми раціонального використання природних ресурсів внутрішніх водойм відводиться рослиноїдним риbam. Для акліматизації вони були обрані за принципом раціонального використання природної кормової бази, яка не повністю використовувалась рибами водойм Європейської частини колишнього СРСР. Природним ареалом рослиноїдних риб є рівнинні ріки Східної Азії — від р. Амур на півночі до Південного Китаю. Нині вони поширені



практично у всіх внутрішніх водоймах України. З 1961 р. розпочалося розроблення біотехніки розведення та вирощування рослиноїдних риб [1, 2].

Строкатий товстолобик (*Hypophthalmichthys nobilis*) — риба, яка має найвищу інтенсивність росту серед зазначених рослиноїдних видів. Автохтонний мешканець рік південного Китаю [3], прісноводний річково-озерний вид. Строкатий товстолобик є частково рослиноїдною рибою. У природних умовах основною їжею строкатого товстолобика є зоопланктон, заміною — фітопланктон і детрит. Для реалізації високого потенціалу росту строкатого товстолобика необхідна наявність у водоймі зоопланктону в кількості не менше 3–4 г/м³. Надмірно висока густина посадки строкатого товстолобика (понад 500–700 екз./га) може призвести до конкуренції з коропом у споживанні зоопланктону і зниження росту. В умовах збалансованої, повноцінної годівлі строкатий товстолобик може досягати маси 35–40 кг. М'ясо строкатого товстолобика має високі поживні та смакові якості [4].

Одними з ефективних методів виявлення та дослідження особливостей поліморфізму ДНК риб вважається ISSR-PCR-аналіз. Суть методу ISSR-PCR (*Inter-Simple Sequence Repeat*) полягає в ампліфікації ділянок ДНК, фланкованих мікросателітами. Дані праймери дозволяють ампліфікувати фрагменти ДНК, які перебувають між двома досить близько розташованими мікросателітними послідовностями [5, 6]. В результаті ампліфікації мультилокусні спектри, представлені на електрофореграмі, нараховують 10–60 смуг. До основних переваг ISSR-маркерів відноситься помірно висока точність та поліпшена відтворюваність. Виявлені послідовності ДНК можуть бути частиною так званих геноспецифічних локусів. Отримані ПЛР-продукти є видоспецифічними [7]. Виявлення поліморфізму методом ISSR-PCR дозволяє встановити певну специфічність спектру ампліконів, у залежності від досліджуваного праймеру.

Оцінка генетичної структури стад товстолобика та її корекція в конкретних умовах вирощування дозволяє оптимізувати селекційний процес та адаптацію до змін умов середовища [8]. Ефективним методом у даному аспекті може стати використання ДНК-маркерів [9, 10]. Порівняльний аналіз генетичної структури з використанням різних типів маркерів є важливим для виявлення систем, найбільш залучених до процесів диференціації та вирішення окремих питань генетики [11]. На сьогодні для дослідження генетичної структури товстолобика описана значна кількість поліморфних локусів ДНК [12, 13].

ВИДІЛЕННЯ НЕВИРШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ. МЕТА РОБОТИ

Результати, одержані за використання ДНК-маркерів, мають як важливе загальнобіологічне значення, так і дозволяють контролювати селекційно-племінну роботу в процесі відтворення генофонду наявних популяцій риб. Для підвищення ефективності селекційно-племінної роботи в рибництві доцільно використовувати генетичні маркери, які мають високу специфічність до окремих фрагментів ДНК риб [5]. До теперішнього часу генетична структура рослиноїдних риб описана фрагментарно.

Метою дослідження було проведення порівняльного аналізу генетичної структури строкатого товстолобика племінних господарств України.



МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Відібрано зразки крові з хвостової вени у груп строкатого товстолобика (*Hypophthalmichthys nobilis*) ДП рибгосп «Галицький», Івано-Франківська обл., (n=15); ДВСРП «Лиманське» Харківської обл. (n=15), ВАТ «Донрибокомбінат», Донецька обл. (n=15). Як консервант використовували гепарин, з розрахунку 25 МО на 1 мл крові. Відібрану кров фракціонували центрифугуванням впродовж 10 хвилин. Отримані фракції плазми, лейкоцитів та еритроцитів фасували у пробірки типу «Eppendorf», заморозували і зберігали за температури -18°C .

ДНК виділяли з еритроцитів за допомогою набору реагентів «Diatom DNA Prep 100», згідно з рекомендаціями виробника. ПЛР проводили за допомогою стандартного набору для проведення полімеразної ланцюгової реакції «GenePak PCR Core» («Лабораторія Ізоген»).

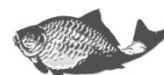
Для ПЛР використовували ампліфікатор «Mastercycler» (Eppendorf). У пробірки з ліофілізованою сумішшю, що містила 1 од. Taq-полімерази, 200 мкМ дезоксинуклеозидтрифосфатів, 2,5 мМ MgCl_2 , вносили 5 мкл (20 нг) геномної ДНК, 5 мкл 0,2 мМ праймеру, 10 мкл ПЛР-розчину. Реакцію проводили в наступному режимі: перший етап — денатурація 2 хв за 95°C ; наступні 35 циклів: денатурація — 30 с за 94°C , 30 с відпал — за 58°C , синтез — 2 хв — за 72°C . Продукти ПЛР аналізували методом електрофорезу, який проводили у 2%-ому агарозному гелі. Візуалізацію фрагментів ДНК проводили в ультрафіолетовому випромінюванні на транслюмінаторі Caution (Франція) за використання барвника бромистого етидію (0,5 мкг/мл гелю) з фіксуванням електрофореграм цифровою камерою Canon EOS 450D (Японія). Визначення генотипів зразків здійснювали за використання маркера молекулярних мас 1-kb DNA Ladder (Gibco BRL) (Україна). Статистичне опрацювання та аналіз даних гелів проводили з використанням програми TotalLab V2.01 [14].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В результаті досліджень племінних стад строкатого товстолобика (*Hypophthalmichthys nobilis*) ВАТ «Донрибокомбінат» (Донецька обл.), ДП рибгосп «Галицький» (Івано-Франківська обл.), та ДВСРП «Лиманське» (Харківська обл.) проведений аналіз генетичної структури за використання трьох праймерів: $(\text{CTC})_6\text{C}$, $(\text{GAG})_6\text{C}$, $(\text{AGC})_6\text{G}$.

У популяції строкатого товстолобика ДВСРП «Лиманське» за використання праймеру $(\text{CTC})_6\text{C}$ сумарно виявлено 18 ампліконів, розмір яких знаходився у межах 750 — 2500 пар нуклеотидів (п.н.). Спектри нараховували від двох до п'яти ампліконів. За локусом $(\text{CTC})_6\text{C}$ у популяції ДВСРП «Лиманське» виявлено вісім алелів. Кількість ампліконів довжиною 750 п.н., 1000 п.н. становила 16,8%. Кількість ампліконів довжиною 1500 п.н., 1900 п.н., та 2500 п.н. становила 5,6%. Кількість ампліконів довжиною 900 п.н. та 1600 п.н. становила 11% (рис. 1).

У популяції строкатого товстолобика ДП рибгосп «Галицький» за використання праймеру $(\text{CTC})_6\text{C}$ сумарно виявлено 26 продуктів ампліфікації, розмір яких знаходився у межах 500–1000 п.н. Спектри нараховували від одного до дев'яти ампліконів.



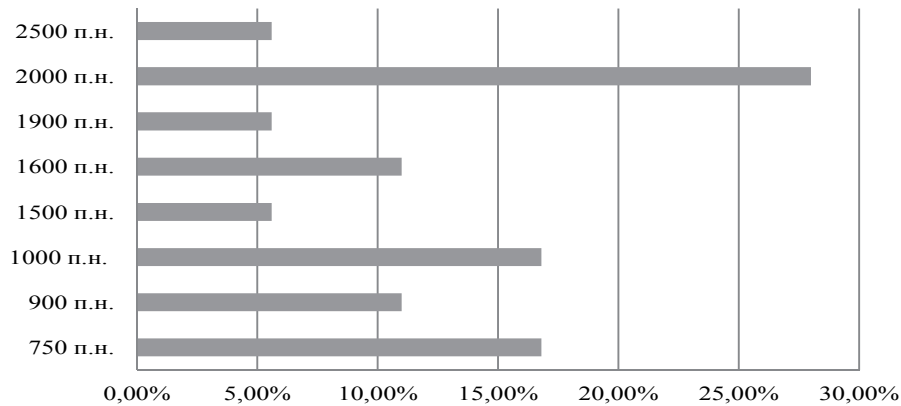


Рис. 1. Відсоткове співвідношення алельних варіантів за використання праймеру (СТС)₆С у строкатого товстолобика ДВSRП «Лиманське»

За локусом (СТС)₆С у популяції виявлено сім алелів. Кількість ампліконів довжиною 700 п.н., 1000 п.н. становила 23%. Кількість ампліконів довжиною 750 п.н., та 800 п.н. становила 7,69%. З різним відсотковим співвідношенням детектувались амплікони довжиною 500 п.н., 600 п.н., 850 п.н. (рис. 2).

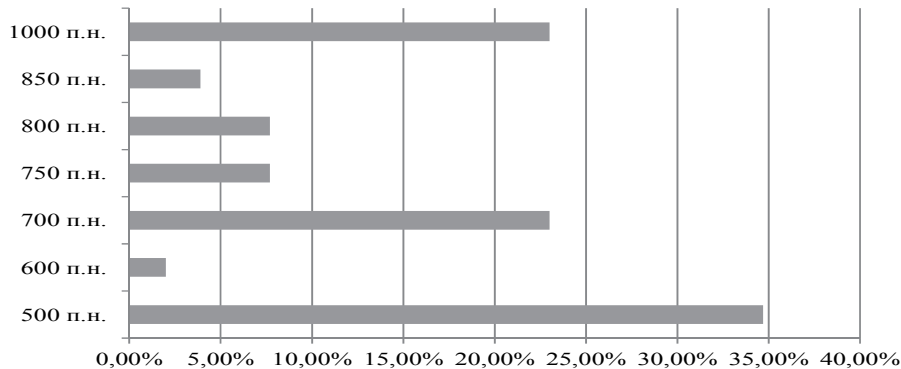


Рис. 2. Відсоткове співвідношення алельних варіантів за використання праймеру (СТС)₆С у строкатого товстолобика ДП рибгосп «Галицький»

У груп строкатого товстолобика ВАТ «Донрибокомбінат» за використання праймеру (СТС)₆С сумарно виявлено 21 амплікон, розмір яких знаходився у межах 900-2000 п.н. За локусом (СТС)₆С у популяції виявлено п'ять алелів. Кількість ампліконів довжиною 1000 п.н., 1200 п.н. становила 14,3%.

Найбільша кількість ампліконів виявлена розміром 900 п.н., що становила 43% (рис. 3).

У трьох досліджуваних популяціях за праймером (СТС)₆С виявлена наявність одного спільного алельного варіанту — 1000 п.н. В господарствах ДВSRП «Лиманське» та ДП рибгосп «Галицький» у строкатого товстолобика за використання праймеру (СТС)₆С виявлена наявність одного спільного алельного варіанту — 750 п.н.



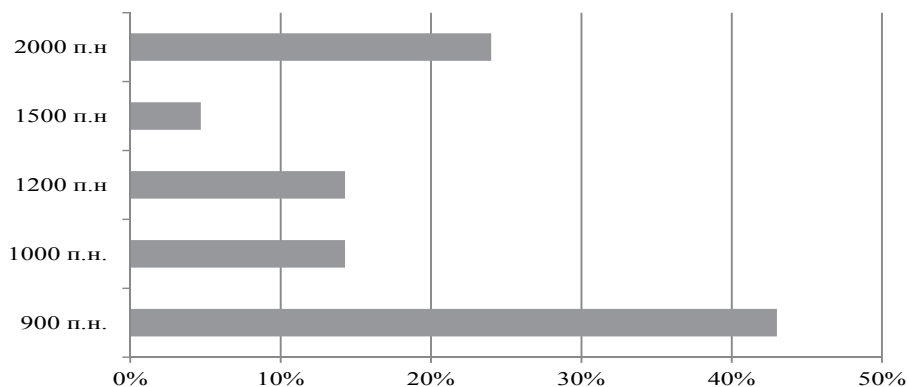


Рис. 3. Відсоткове співвідношення алельних варіантів за використання праймеру (СТС)₆C у строкатого товстолобика ВАТ «Донрибокомбінат»

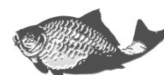
Порівняльний аналіз генетичної структури господарств ДВСРП «Лиманське», ВАТ «Донрибокомбінат» та ДП рибгосп «Галицький» за використання праймеру (GAG)₆C дав можливість виявити певні особливості генетичної структури в залежності від географічного розташування господарств.

Використання праймеру (GAG)₆C сприяло формуванню специфічних спектрів продуктів ампліфікації, причому їх поліморфізм був прямо пов'язаний з кількістю виявлених локусів. Отримані дані свідчать про абсолютно різний характер представленості мікросателітних повторів у представників досліджених груп товстолобика.

Загалом у досліджуваних господарствах виявлена значна кількість ампліконів (ДВСРП «Лиманське» — 25, ВАТ «Донрибокомбінат» — 13, ДП рибгосп «Галицький» — 28) довжиною від 80 п.н. до 3500 п.н. У групі ДП рибгоспу «Галицький» виявлено найбільшу кількість ампліконів довжиною 80–250 п.н., які кардинально відрізнялись від таких інших господарств. У ДВСРП «Лиманське» та ВАТ «Донрибокомбінат» виявлено наявність одного спільного амплікону довжиною 1500 п.н., частка якого була 20% і 15,3% відповідно. Інші виявлені амплікони відрізнялися за спектром: ВАТ «Донрибокомбінат» — 450 п.н. — 1500 п.н.; ДВСРП «Лиманське» — 1300 п.н. — 3500 п.н.

Таким чином, використаний праймер (GAG)₆C, високополіморфний для інших видів риб, був слабо інформативним для досліджуваних груп товстолобика, що може свідчити про звуження генетичної різноманітності в результаті їх обмеженої гетерозиготності. Хоча слід відмітити, що застосування нейтральних молекулярних маркерів, таких як ISSR, порівняно рівномірно розподілених серед геному, дозволяє одночасно визначити мінливість у групах і не пов'язаних між собою локусів, що особливо цінно для збереження і використання генетичних ресурсів риб.

У господарстві ДВСРП «Лиманське» за використання праймеру (AGC)₆G виявлено десять алелів. Виявлені алельні варіанти довжиною 450 п.н. та 500 п.н., траплялися з однаковим відсотковим співвідношенням — 15,2%, алельні варіанти 1000 п.н., 1200 п.н., 1500 п.н., 2000 п.н., — 3%, алельні варіанти 550 п.н., 750 п.н., — 18%, решта алельних варіантів детектувались з різним відсотковим співвідношенням (рис. 4).



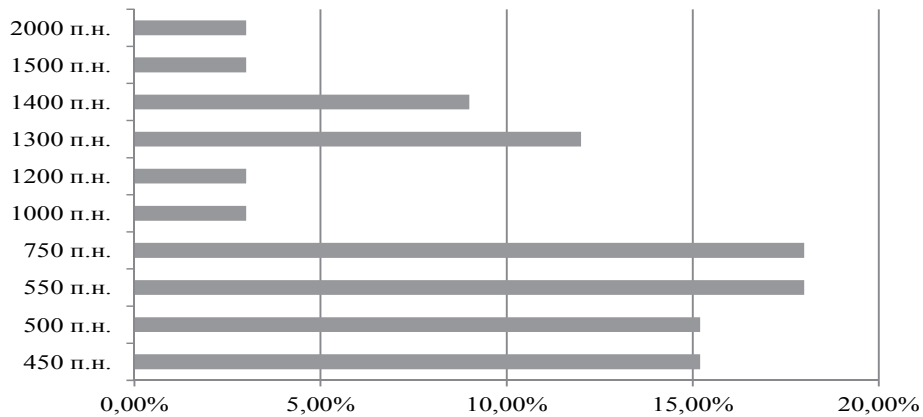


Рис. 4. Відсоткове співвідношення алельних варіантів за використання праймеру (AGC)₆G у строкатого товстолобика ДВСРП «Лиманське»

За локусом (AGC)₆G в популяції ДП «Галицький» виявлено десять алелів. Серед виявлених нами алельних варіантів: 250 п.н., 450 п.н., 1200 п.н., 1400 п.н., 1500 п.н., та 2000 п.н., кількість ампліконів становила 2,5%. Найбільша кількість ампліконів була довжиною 750 п.н. і становила 25%. З різним відсотковим співвідношенням детектувалось решта алельних варіантів (рис. 5).

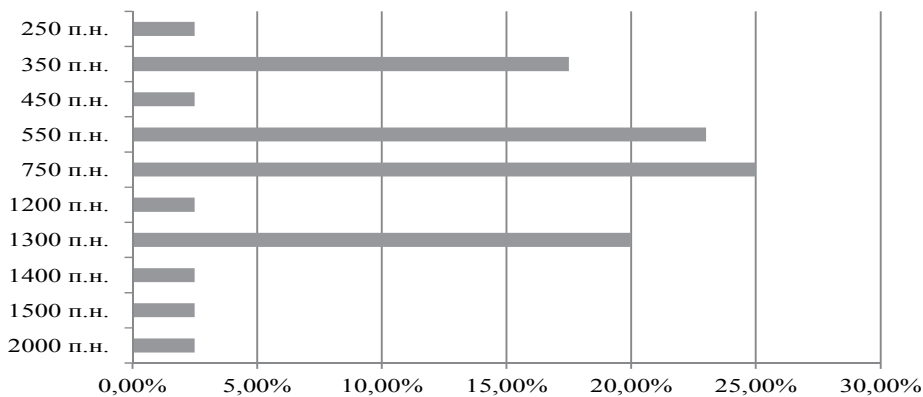


Рис. 5. Відсоткове співвідношення алелів за праймером (AGC)₆G у строкатого товстолобика ДП «Галицький»

В господарстві «Донрибокомбінат» за локусом (AGC)₆G виявлено одинадцять алелів. Виявлені алельні варіанти довжиною 400 п.н., 1300 п.н., 1400 п.н., 2000 п.н. з однаковим відсотковим співвідношенням становили 2%; 600 п.н., 800 п.н. — 16%; 450 п.н., 500 п.н. — 9%. Найбільша кількість ампліконів була довжиною 300 п.н. і становила 20% (рис. 6).

Досліджувані популяції накопичують резерв генотипової мінливості у різних ділянках мікросателітних локусів. Виявлені специфічні особливості між дослідженими племінними стадами строкатого товстолобика можуть характеризувати напрям селекційно-племінної роботи, яка ведеться в даних господарствах. Варіацій виявлених ампліконів достатньо, щоб відокремлювати



особин, або, якщо робота проводиться з групою плідників, підбирати батьківські пари для підвищення генетичного розмаїття.

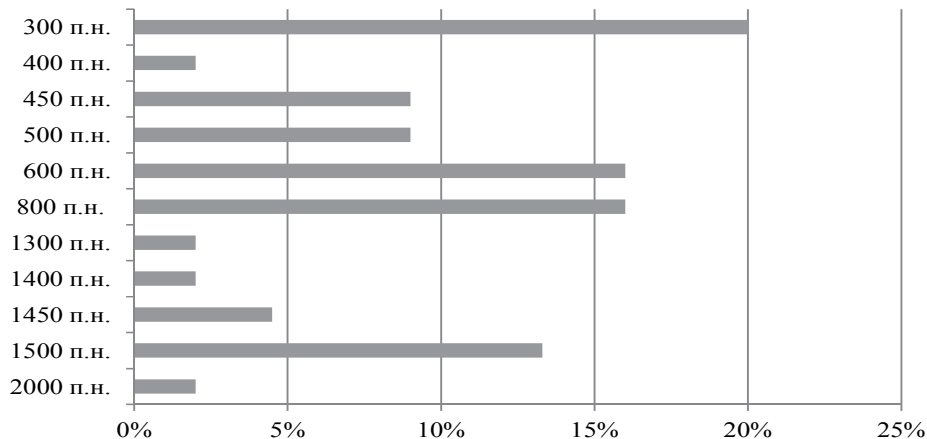


Рис. 6. Відсоткове співвідношення алейних варіантів за використання праймеру (AGC)₆G у строкатого товстолобика «Донрибокомбінат»

Описана мінливість генетичної структури за конкретною ділянкою геному і розподіл маркерів у стадах свідчить про суттєвий рівень генетичної мінливості, що є підґрунтям для визначення рівня їх пристосованості в процесі штучного добору у господарствах різних форм власності.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

Досліджені за використання ДНК-маркерів племінні стада строкатого товстолобика (*Hypophthalmichthys nobilis*) з різних зон відтворення, характеризуються специфічними особливостями їх генетичної структури. Мікросателітні локуси ДНК, обрані для вивчення поліморфізму різних груп строкатого товстолобика, мають різний рівень поліморфізму, який характеризується кількістю алейв.

Проведений ISSR-аналіз з використанням молекулярно-генетичних маркерів дозволив вивчити окремі аспекти генетичної мінливості строкатого товстолобика на популяційному рівні і рекомендувати їх для використання в селекційному процесі.

Проведення, в подальшому, коригування генетичної структури товстолобиків із застосуванням молекулярно-генетичних маркерів, використаних у даній роботі, дозволить консолідувати племінні стада за рівнем гетерозиготності, що в кінцевому результаті, дасть можливість підвищити рівень селекційно-племінної роботи.

ЛІТЕРАТУРА

1. Виноградов В. К. Опыт гибридизации белого и пестрого толстолобиков / В. К. Виноградов, Л. В. Ерохина // Рыбхоззяйственное освоение растительных рыб: статьи. — М., 1966. — С. 5—66.
2. Балтаджи Р. А. Результаты работ по акклиматизации растительных рыб на Украине / Р. А. Балтаджи, Л. И. Лупачева, О. М. Тарасова // Рыбное хозяйство. — 1980. — Вып. 31. — С. 38—44.



3. Вовк П. С. Биология дальневосточных растительноядных рыб и их хозяйственное использование в водоемах Украины / Вовк П. С. — К., 1976. — С. 248.
4. Ставовє рибництво / [за ред. П. Т. Галасуна]. — К. : Урожай, 1974. — 192 с.
5. Алтухов Ю. П. Полиморфизм ДНК в пуляционной генетике / Ю. П. Алтухов, Е. А. Салменкова // Генетика. — 2002. — Т. 38. — № 9. — С. 1173—1195.
6. Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review / L. You-Chun, B. Korol, Abrahaml, T. Fahima [et al.] // Molecular Ecology. — 2002. — Vol. 11. — P. 2453—2465.
7. Тарасюк С. І. Молекулярно-генетичні дослідження в рибництві // С. І. Тарасюк, І. І. Грициняк. — К. : Аграрна наука, 2013. — 310 с.
8. Формування гетерогенних популяцій білого і строкатого товстолобиків ДП рибгоспу «Галицький» / В. М. Бочков, Т. А. Нагорнюк, Н. О. Борисенко [та ін.] // Науковий вісник Національного університету біоресурсів і природокористування України. — 2014. — Вип. 202. — С. 38—44. — (Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва).
9. Борисенко Н. О. Інформативність мікросателітних локусів для аналізу генетичної структури білого та строкатого товстолобиків / Н. О. Борисенко, І. І. Грициняк, С. І. Тарасюк // Рибогосподарська наука України. — 2013. — № 3. — С. 55—61.
10. Microsatellite Markers for Parentage Identification of Crossbreeding Carp (*Cyprinus carpio*) in a Selective Breeding Programme / Wu Yao, Jia ZhiYing, Li ChiTao [et al.] // Journal of Agricultural Biotechnology. — 2012. — Vol. 20, № 5. — P. 549—559.
11. Залоїло О. В. Молекулярно-генетичні методи в рибництві / О. В. Залоїло, А. Е. Маріуца, С. І. Тарасюк // Основні завдання рибогосподарської науки щодо вирішення нагальних проблем розвитку рибного господарства України : наук.-практ. семінар, проведений 5 червня 2014 року під час виставки «FishExpo-2014» : мат. — К. : НТУУ «КПІ», 2014. — С. 56—62.
12. Использование микросателлитных ДНК-маркеров для генетической идентификации популяций белого толстолоба (*Hypophthalmichthys molitrix*) / И. С. Резникова-Галашевич, В. Г. Спиридонов, А. В. Шелёв [и др.] // Фактори експериментальної еволюції організмів. — 2011. — Т. 10. — С. 301—305.
13. Маріуца А. Е. Аналіз генетичної структури популяцій білого товстолобика окремих підприємств / А. Е. Маріуца, Н. О. Борисенко // Збірник наукових праць Вінницького аграрного університету. — 2014. — Вип. 2/86. — С. 63—68.
14. TotalLab, Phoretix and Same Spots [Електронний ресурс]. — Режим доступу: <http://www.totallab.com>.

REFERENCES

1. Vinogradov, V. K., & Erohina, L. V. (1966). Opyt gibridizacii belogo i pestrogo tolstolobikov. *Rybohozjajstvennoe osvoenie rastitel'nojadnyh ryb : stat'i*. Moskva, 5-66.
2. Baltadzhi, R. A., Lupacheva, L. I., & Tarasova, O. M. (1980). Rezul'taty rabot po akklimatizacii rastitel'nojadnyh ryb na Ukraine. *Rybnoe hozjajstvo*, 31, 38-44.
3. Vovk, P. S. (1976). *Biologija dal'nevostochnyh rastitel'nojadnyh ryb i ih hozjajstvennoe ispol'zovanie vvodoemah Ukrainy*. Kiev.
4. Halasun, P. T. (Ed.) (1974). *Stavove rybnystvo*. Kyiv: Urozhay.



5. Altuhov, Ju. P., & Salmenkova, E. A. (2002). Polimorfizm DNK v puljacionnoj genetike. *Genetika*, 38, 9, 1173-1195.
6. You-Chun, L., Korol, B., Abrahaml, T. Fahima et al. (2002). Microsatellites: genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: a review. *Molecular Ecology*, 11, 2453-2465.
7. Tarasyuk, S. I., & Hrytsynyak, I. I. (2013). *Molekulyarno-henetychni doslidzhennya v rybnytstvi*. Kyiv: Ahrarna nauka.
8. Bochkov, V. M., Nahornyuk, T. A., Borysenko, N. O., & Tarasyuk, S. I. (2014). Formuvannya heterohennykh populyatsiy biloho i strokatoho товстолобиків ДР рыбоспу «Halyts'kyu». *Naukovyy visnyk Natsional'noho universytetu bioresursiv i pryrodokorystuvannya Ukrainy. Seriya: Tekhnolohiya vyrobnytstva i pererobky produktsiyi tvarynnytstva*, 202, 38-44.
9. Borysenko, N. O., Hrytsynyak, I. I., & Tarasyuk, S. I. (2013). Informatyvnysh' mikrosatelitnykh lokusiv dlya analizu henetychnoyi struktury biloho ta strokatoho товстолобиків. *Rybohospodars'ka nauka Ukrainy*, 3, 55-61.
10. Yao, Wu, ZhiYing, Jia, Li, ChiTao, [et al.] (2012). Microsatellite Markers for Parentage Identification of Crossbreeding Carp (*Cyprinus carpio*) in a Selective Breeding Programme. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 20, 5, 549-559.
11. Zaloyilo, O. V., Mariutsa, A. E., & Tarasyuk, S. I. (2014). Molekulyarno-henetychni metody v rybnytstvi. *Osnovni zavdannya rybohospodars'koyi nauky shchodo vyrishennya nahal'nykh problem rozvytku rybnoho hospodarstva Ukrainy: materialy naukovo-praktychnoho seminaru, provedenoho 5 chervnya 2014 roku pid chas vystavky «FishExpo-2014»*. Kyiv: NTUU «KPI», 56-62.
12. Reznikova-Galashovich, I. S., Spiridonov, V. G., & Sheljov, A. V. et al. (2011). Ispol'zovanie mikrosatelitnykh DNK-markerov dlja geneticheskoy identifikatsii populatsiy belogo tolstoloba (*Hypophthalmichthys molitrix*). *Faktory eksperymentalnoi evoliutsii organizmiv*, 10, 301-305.
13. Mariutsa, A. E., & Borysenko, N. O. (2014). Analiz henetychnoyi struktury populyatsiy biloho товстолобика окремих підприємств. *Zbirnyk naukovykh prats' Vinnyts'koho ahrarnoho universytetu*, 2/86, 63-68.
14. TotalLab, Phoretix and Same Spots. *totallab.com*. Retrieved from <http://www.totallab.com>.

**ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА ОТДЕЛЬНЫХ ГРУПП ПЕСТРОГО ТОЛСТОЛОБИКА
(*HYPOPHTHALMICHTHYS NOBILIS*)**

И. И. Грициняк, info@ifr.com.ua, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

А. Э. Мариуца, mariutsa@list.ru, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

С. И. Тарасюк, tarasjuk@ukr.net, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

Цель. Изучение специфики генетической структуры, уровня внутренней и межпопуляционной генетической изменчивости племенных стад пестрого толстолобика разных зон ведения рыбоводства с использованием ДНК-маркеров (ISSR-PCR).

Методика. Для изучения специфики генетической структуры на основе ПЦР использовали ISSR-PCR-методику с соответственно подобранными праймерами.

Результаты. В результате исследований племенных стад пестрого толстолобика был проведен анализ генетической структуры с использованием трех микросателитных локусов ДНК: (CTC)₆C, (GAG)₆C, (AGC)₆G. Исследованные популяции накапливают резерв генотипической изменчивости в различных участках микросателитных локусов. Обнаруженные специфические особенности между исследованными популяциями пестрого



толстолобика могут характеризовать степень гетерозиготности стад, которые выращиваются в данных хозяйствах. Вариаций выявленных ампликонов достаточно, чтобы отделять особей племенных стад, или, если работа проводится с группой производителей, подбирать родительские пары для повышения генетического разнообразия.

Научная новизна. Установлены особенности генетической структуры, уровень генетической изменчивости племенных стад пестрого толстолобика различных зон ведения рыбоводства при использовании ДНК-маркеров.

Впервые получены новые данные об особенностях генетической структуры на основе использования ПЦР, способствующие выявлению специфических механизмов поддержания относительной стабильности генофонда толстолобиков и позволяют контролировать и сохранять специфичность их генетической структуры.

Практическая значимость. Практическая значимость исследований заключается в предложенном методе генетического контроля популяций пестрого толстолобика на основе использования ПЦР, позволяющем провести анализ генетической структуры стад и реализовать генетическую информацию на ранних стадиях селекционного процесса.

Ключевые слова: молекулярно-генетические методы, ДНК-маркеры, пестрый толстолобик, генетическая структура, ПЦР.

THE GENETIC STRUCTURE OF INDIVIDUAL GROUPS OF BIGHEAD CARP (*HYPOPHTALMICHTHYS NOBILIS*)

I. Hrytsyniak, info@ifr.com.ua, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

A. Mariutsa, mariutsa@list.ru, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

S. Tarasyuk, tarasyuk@ukr.net, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

Purpose. To investigate the specificity of the genetic structure, intra- and interpopulation genetic variability of the pedigree stocks of bighead carp in different fish farming zones using DNA markers (ISSR-PCR).

Methodology. To investigate the specificity of the genetic structure we used a PCR (ISSR-PCR) method with appropriately selected primers.

Findings. As a result of the study of the pedigree stocks of bighead carp, we carried out an analysis of the genetic structure by using three microsatellite DNA loci $(CTC)_6C$, $(GAG)_6C$, $(AGC)_6G$. The investigated populations accumulated a reserve of the genotypic variability in different parts of microsatellite loci. The identified specific properties among the investigated bighead carp populations can characterize the heterozygosity degree of the stocks reared in these fish farms. The variations in the detected amplicons are sufficient for separating the individuals of breeding stocks, or, if the work is carried out with a group of brood fish, to select parent pairs for increasing the genetic diversity.

The described variability of the genetic structure by specific gene sites and distribution of markers in fish stocks indicate on significant level of genetic variability that is a basis for determining the level of their adaptability in the process of artificial selection in fish farms of different forms of ownership.

Originality. We detected the peculiarities of the genetic structure, the level of genetic variation of the pedigree stocks of bighead carp in different fish farming zones with the use of DNA.

For the first time we obtained new data on the specificity of the genetic structure based on PCR, which contribute to the detection of the specific mechanisms of maintaining the relative stability of bighead carp genetic pool and allow controlling the specificity of their genetic structure.

Practical value. The practical value of the study is to propose a method of the genetic control of bighead carp populations by applying a PCR that allows performing an analysis of the genetic structure of the stocks and realizing the genetic information on early stages of the breeding process.

Key words: molecular genetic methods, DNA markers, bighead carp, genetic structure, PCR.

