

УДК 639.371.52:[597-115+639.3.032]

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ УКРАЇНСЬКОЇ ЛУСКАТОЇ ПОРОДИ КОРОПА ВАТ "ПОЛТАВАРИБГОСП"

А.Е. Маріуца¹, О.В. Залоїло¹, С.І. Тарасюк¹, Ю.А. Смоленський²

¹ Інститут рибного господарства НААН України

² ВАТ "Полтаварибгосп"

Проведено порівняльний аналіз генетичної структури основного племядра плідників та групи ремонтного молодняку українського лускатого коропа у ВАТ "Полтаварибгосп" на основі дослідження розподілу частот алелів і генотипів за окремими поліморфними генетико-біохімічними системами.

Породам коропа, виведеним в Україні, притаманна низка позитивних ознак, які значно підвищують промислову та економічну цінність даного виду і роблять його основним об'єктом вітчизняного рибництва. Однак стабілізація репродуктивного стада із потрібними показниками потребує постійної селекційної роботи, яка у класичній формі становить комплекс тривалих і трудомістких методів. Тому пошук альтернативних шляхів у селекції є однією з найбільш актуальних проблем сучасного тваринництва [1].

Одними з ефективних селекційних підходів сьогодення вважаються методики, результатом яких є інформація про генетичну структуру популяції. Після відкриття електрофоретичного способу розділення ізоалельних форм білків було одержано значну кількість результатів про їх мінливість у риб на генетичному рівні. Поліморфізм притаманний зокрема білковим молекулам м'язів та крові, а також переважній більшості основних ферментів організму [2, 3].

За використання методів біохімічної генетики стала реальною можливість

кількісної оцінки електрофоретичної рухливості білків. Найвагомим аспектом таких підходів є відповідність гену, що кодує даний білок, та його продукт, який може бути ідентифікований електрофоретичним шляхом, тобто — відповідність фенотипу і генотипу. На принципі близькості гена й ознаки базуються головні генетичні положення популяційної динаміки, які дозволяють вирішувати численні практичні питання вітчизняного рибництва [4].

Мета роботи — проведення порівняльного аналізу генетичної структури основного племядра плідників та групи ремонтного молодняку українського лускатого коропа ВАТ "Полтаварибгосп" на основі аналізу розподілу частот алелів і генотипів за окремими поліморфними генетико-біохімічними системами.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Матеріалом для аналізу були еритроцити та плазма крові, яку отримували під час фракціонування крові, відібраної з хвостової вени коропів-плідників ($n = 28$, весна 2011 р.) та ремонтного мо-

лодняку ($n=30$, осінь 2011 р.) української лускатої породи ВАР "Полтаварибгосп" (с. Бугаївка, Полтавська обл.).

Аналіз поліморфізму та розподіл алельних варіантів білків виконували методом їх електрофоретичного поділу у крохмальному та поліакриламідному гелях із наступним гістохімічним фарбуванням [5, 6]. Вивчали такі генетико-біохімічні системи: група транспортних білків — трансферин, TF (К.Ф.1.10.3.2), альбумін, ALB (К.Ф.4.2.1.1), церулоплазмін, СР (К.Ф.1.10.3.2) та гемоглобін, НВ (К.Ф.1.10.3.2), група ферментів метаболізму екзогенних субстратів — естераза, EST (К.Ф.3.1.1.1) та група ферментів метаболізму глюкози — амілаза, АМ (К.Ф.3.2.1.1). Екстер'єр плідників оцінювали за показниками маси тіла — Р, промислової довжини риби — І, обхвату — О, висоти — Н, та коефіцієнта вгодованості (Кв) за формулою Фультона в модифікації ВНИИПРХ [7], індексів високоспинності (І/Н) та обхвату (І/О).

Математичну обробку отриманих даних виконували за використання комп'ютерної програми "BIOSYS-I" [8]. Відхилення фактичних частот від теоретично очікуваних із співвідношення Харді-Вайнберга здійснювали на основі критерію Пірсона [9]. Критичне значення χ^2 брали для 5% рівня значущості.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз генетичної структури за використання генетико-біохімічних систем дав змогу виявити окремі її особливості.

Трансферини — транспортні білки, їх мінливість досить висока і залежить від генетичних особливостей особини. Успадкування певної форми цього білка пов'язане з кодомінантністю одного локуса. Кількість алелів для особин у межах однієї популяції становить зазвичай 3–4, однак у літературі описано випадки наявності 15 трансферинових фракцій [10].

У наших дослідженнях виявлено чотири алельних варіанти за локусом трансферину: Tf В, Tf С₁, Tf С₂, Tf D (табл. 1). Частота алеля Tf С₁ є найвищою в особин плідників — 0,575. Найбільш поширеними генотипами є ті, які включають алелі трансферину С₁ та С₂. Порівняння фактичних та теоретичних частот генотипів

виявили наявність невеликого надлишку гетерозигот С₁С₂ за локусом трансферину (теоретично — 11, фактично — 7) в особин ремонтного молодняка. Аналіз генотипів трансферину показав, що із 15 можливих комбінацій наявні лише 12, серед яких домінував генотип С₁С₁. Характерною особливістю досліджених популяцій була відсутність алельного варіанта трансферину А.

За локусом альбуміну в обох групах українського лускатої коропа, як і в переважній більшості інших видів риб [11], виявлено два алелі А і В (див. табл. 1). За даним локусом у двох популяцій спостерігався надлишок гетерозигот (АВ) та дефіцит гомозигот відносно очікуваного згідно із законом Харді-Вайнберга ($\chi^2=9,219$ і 18, 576; $P=0,004$ і 0,002 відповідно).

Отже, аналіз поліморфізму за локусами транспортних білків дозволяє зробити висновок, що ця група білків суттєво залучена до процесу внутрішньопорідної диференціації у риб.

До естераз відносять 4 групи різнофункціональних ферментів. Як і трансферини, форми естераз успадковуються кодомінантно. Відмінності між популяціями можна продемонструвати шляхом порівняльного аналізу концентрації алелів естераз у крові контрольних груп особин. Для коропа ця кількість становить 3–4, однак може досягати 7 алелів. Успадкування форм естераз у риб має класичний розподіл за Менделем і легко встановлюється на практиці. Ми виявили дві зони естерази: F — швидко і S — повільно. У особин плідників за локусом EST переважала частота EST-F — 0,733 (див. табл. 1) порівняно із особинами ремонтно-маточного стада, де частота EST-F — 0,460. А частота EST-S, навпаки, виявилась вищою у риб ремонтно-маточного стада. Загалом спостерігався статистично достовірний дефіцит гетерозигот естерази відносно очікуваного відповідно до закону Харді-Вайнберга.

Важливим параметром при оцінці динаміки генетичного стану популяції є гетерозиготність (Н). Різні типи відбору, дрейф генів, мутаційний процес та інші фактори популяційної динаміки часто впливають на гетерозиготність популяції [12], тому її оцінка є необхідною

Таблиця 1. Розподіл алейних частот та очікуваних і фактичних генотипів у популяції українських лускатих коропів

Локус	Аель	Частота	Генотип	Кількість генотипів		χ^2	μ
				наявна	очікувана		
TF	<i>Плем'ядро (4+)</i>					1,56	6,0
	B	0,025	BC ₁	1	0,590		
			BC ₂	0	0,179		
	C ₁	0,575	BD	0	0,231		
			C ₁ C ₁	7	6,487		
	C ₂	0,175	C ₁ C ₂	3	4,128		
			C ₁ D	5	5,308		
	D	0,225	C ₂ C ₂	1	0,5381		
C ₂ D			2	1,615			
		DD	1	0,923			
			H₀=0,603	H_s=0,550			
TF	<i>Ремонтний молодняк (1,5 року)</i>					7,09	6,0
	B	0,184	BB	1	0,932		
			BC ₁	3	4,847		
			BC ₂	4	3,169		
	C ₁	0,433	BD	2	1,119		
			C ₁ C ₁	4	5,508		
	C ₂	0,283	C ₁ C ₂	11	7,492		
			C ₁ D	4	2,644		
D	0,100	C ₂ C ₂	1	2,305			
			H₀=0,700	H_s=0,800			
EST	<i>Плем'ядро (4+)</i>					7,82	1,0
	F	0,733	FF	19	16,034		
	S	0,267	FS	6	11,932		
			SS	5	2,034		
			H₀=0,507	H_s=0,360			
EST	<i>Ремонтний молодняк (1,5 року)</i>					9,22	1,0
	F	0,460	FF	7	5,163		
	S	0,540	FS	9	12,673		
			SS	9	7,163		
			H₀=0,398	H_s=0,200			
ALB	<i>Плем'ядро (4+)</i>					9,22	1,0
	A	0,525	AA	2	5,385		
			AB	17	10,231		
	B	0,475	BB	1	4,385		
			H₀=0,512	H_s=0,850			
ALB	<i>Ремонтний молодняк (1,5 року)</i>					18,58	1,0
	A	0,383	AB	23	11,305		
			BB	3	6,881		
	B	0,483		H₀=0,630	H_s=0,900		

Примітки: H₀ — фактична гетерозиготність; H_s — очікувана гетерозиготність; H_e — середня гетерозиготність на локус; S.E. — стандартна похибка середньопопуляційних значень; μ — середнє число варіацій.

умовою в популяційних дослідженнях. Найбільша різниця між фактичною гетерозиготністю і очікуваною виявлена у локусі Alb (див. табл. 1). Загальна середня гетерозиготність становить 0,633. Це вказує на високий потенціал генетичної мінливості популяції.

Для оцінки ступеня алейного різноманіття популяції зручним є врахування загального числа різних алейв даного локусу. Однак більш репрезентативним є їх число не в абсолютних значеннях, а з урахуванням частоти зустрічальності окремих алейв: чим менша частота алейя, тим менший вклад він несе в генетичну структуру популяції. З метою контролю внутрішньопопуляційного поліморфізму нами був вибраний показник μ — середнє число фенотипів [9], який достатньо часто використовують у роботах по фенотиповому аналізу структури популяцій тварин і який є характеристикою ступеня різноманіття популяції. Виходячи з результатів досліджень лише за локусом TF показник μ виявився вище за середній (6,0), що вказує на важливість цього локусу при збереженні генетичного біорізноманіття.

Церулоплазмін (СР) — білок плазми крові з оксидазною активністю кодується одним структурним геном та є монолокусною системою. З рівнем церулоплазміну в крові пов'язаний обмін міді в організмі, оскільки швидкість синтезу цього білка регулюється відповідно до вмісту міді в печінці і виділення її з організму. Амілаза (АМ) — фермент плазми крові, який розщеплює полісахариди до глюкози. Амілаза кодується кількома структурними генами. Церулоплазмін та

амілаза типуються одночасно, тому що електрофорез цих білків проводиться в одних і тих же буферних системах. У наших дослідженнях ці системи виявились мономорфними.

Гемоглобін (НВ) — білок, який кодується одним структурним геном. Кожна молекула гемоглобіну складається із чотирьох субодиниць, згрупованих по дві. Різні субодиниці кодуються різними генами. На сьогодні гемоглобін вивчено у більшості ссавців та риб. Генетичний поліморфізм гемоглобіну у риб, як і у багатьох ссавців, обмежений. Це, можливо, пов'язано з точною структурою молекул гемоглобіну, яка прив'язана до виконання своїх функцій. Рухливість гемоглобіну у риб значно нижча ніж у ссавців. Фореграми гемоглобінів видоспецифічні [13]. Загалом можна вважати гемоглобін у коропових значно менше мінливим ніж інші системи. У наших дослідженнях поліморфізму за локусом гемоглобіну не виявлено.

У ВАТ "Полтаварибгосп" племінне стадо українських лускатих коропів відтворюється без залучення додаткового матеріалу з інших господарств. За даними бонітування (табл. 2), маса коливалась від 3 до 7 кг (у середньому — 4017,857 кг), що за п'ятибальною системою оцінки самців плідників коропа відповідає 4 балам. Довжина тіла коливалась від 50 до 69 см, коефіцієнт вгодованості у середньому становив 2,23 одиниці, а індекс високоспинності — $2,721 \pm 0,04$ одиниці, що відповідає 4 балам. Отже, за всіма зазначеними ознаками українські лускаті коропи відповідали 1-му класу оцінки плідників [14].

Таблиця 2. Морфометрична характеристика плідників української лускатої породи коропа

№ з/п	Р, г	l, см	Н, см	О, см	Кв	l/Н	l/О
1	3000	54	20,8	41,6	1,91	2,6	1,3
2	3000	50,5	19,4	40,2	2,33	2,6	1,3
3	3000	50,0	19,2	36,6	2,4	2,6	1,4
4	4000	56,0	20,0	45,9	2,28	2,8	1,5
5	3000	50,0	19,2	37,4	2,4	2,6	1,3
6	3200	50,5	19,4	35,7	2,48	2,6	1,4

Закінчення таблиці 2

№ з/п	Р, г	l, см	Н, см	О, см	Кв	l/Н	l/О
7	4000	55,5	20,5	47,9	2,34	2,7	1,2
8	5100	62,0	22,9	51,0	2,13	2,7	1,2
9	6500	68,4	22,8	49,9	2,03	3,0	1,4
10	4000	59,0	22,7	48,9	1,95	2,6	1,2
11	3500	52,8	19,6	41,2	2,4	2,7	1,3
12	3500	51,5	19,8	41,0	2,56	2,6	1,3
13	3500	52,5	20,2	39,9	2,38	2,6	1,3
14	7000	64,8	22,3	52,6	2,57	2,9	1,2
15	5500	63,0	22,5	47,5	2,20	2,8	1,3
16	3100	51,4	19,03	38,8	2,28	2,7	1,3
17	2900	50,0	18,5	35,5	2,32	2,7	1,4
18	4000	57,6	19,8	43,9	2,09	2,9	1,3
19	6500	68,5	24,5	50,0	2,02	2,8	1,4
20	3200	55,0	20,3	39,3	1,92	2,7	1,4
21	3500	52,4	20,1	39,9	2,43	2,6	1,3
22	5000	62,3	20,1	45,9	2,07	3,1	1,4
23	3500	53,0	20,3	40,0	2,38	2,6	1,3
24	3000	50,6	18,7	35,2	2,26	2,7	1,4
25	3000	51,0	20,4	34,9	2,26	2,5	1,5
26	3000	50,0	19,2	34,3	2,4	2,6	1,5
27	5500	63,0	21,7	47,1	2,20	2,9	1,3
28	4500	64,5	22,2	48,0	1,68	2,9	1,3
Σ	112500		486,8	1190,1	62,67	76,2	38,3
σ	1217,18	6,19	2,45	5,59	0,21	0,14	0,08
$M \pm m$	4017,86 ± 239	57,6 ± 1,2	17,4 ± 0,46	42,5 ± 1,06	2,23 ± 0,05	2,721 ± 0,04	1,34 ± 0,02

Примітки: Р — маса тіла; l — промислова довжина тіла; О — обхват тіла; Н — висота тіла; Кв — коефіцієнт вгодованості; l/Н — індекс високоспинності; l/О — індекс обхвату.

ВИСНОВКИ

Порівняльний аналіз генетичної структури українських лускатих коропів встановив певні її особливості. Виявлена відсутність аельного варіанта трансферину А. Відносно низька аельна та генотипна різноманітність генетичної структури, надлишок гетерозигот за окремими локусами досліджених групи, може бути обумовлена результатами проведеної з ними селекційної роботи.

За результатами бонітування проведено фенотипічну оцінку племінного матеріалу коропа української лускатої породи.

Таким чином, обрані генетико-біохімічні системи у поєднанні із фенотиповними ознаками дадуть змогу оцінити надалі рівень генетичної мінливості, генотипний склад, ступінь внутрішньо- і міжпопуляційної диференціації, які є обов'язковими при проведенні селекційно-племінної роботи в коропівництві.

ЛІТЕРАТУРА

1. Базалій В.В., Шерман І.М., Пилипенко Ю.В. Основи рибогосподарської генетики: навч. посібник. — Херсон: Олди-плюс, 2007. — 279 с.
2. Андрияшева М.А. Исследование полиморфизма белковых локусов и количественных признаков у рыб // Генетика в аквакультуре. — Л.: Наука, 1989. — С. 29–46.
3. Корниченко Г.Г., Бойко Н.Е., Бугаев Л.А. и др. Физиолого-биохимические и генетические исследования ихтиофауны Азово-Черноморского бассейна: метод. руководство. — Ростов-на-Дону: Эверест, 2005. — 100 с.
4. Демкина Н.В., Шарт Л.А., Баранова Н.А. Использование биохимических маркеров для оценки генетического разнообразия стад карпа // Сборник науч.-технол. и метод. документации по аквакультуре. — М.: Изд-во ВНИРО, 2001. — С. 117–131.
5. Глазко В.И. Биохимическая генетика овец. — Новосибирск, 1985.
6. 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 Groups Biochem. Genet.*, 1977, 8(3): 127–37.
7. Лебедько Е.Я. Определение живой массы сельскохозяйственных животных по промерам. — М.: Аквариум, 2006. — 48 с.
8. Swofford D.L., Selander R.B. BIOSYS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics // *J. Heredity*, 1981. — V. 72. — P. 281–283.
9. Животовський Л.А. Популяційна біометрія. — М.: Наука, 1991. — 271 с.
10. Кирпичников В.С. Генетика и селекция рыб. — Л.: Наука, 1987. — 520 с.
11. Костенко С.Г. Полиморфизм белков украинского карпа и амурского сазана // Материалы II Всесоюз. совещ. по генет. селекц. и гибридизации рыб. — Ростов-на-Дону, 1981. — С. 148–149.
12. Аллендорф Ф.У., Риман Н., Аттер Ф.М. Генетика и управление рыбным хозяйством // Популяционная генетика и управление рыбным хозяйством / Ред. Н. Риман, Ф. Аттер. — М.: Агропромиздат, 1991. — С. 15–36.
13. Алтухов Ю.П., Рычков Ю.Г. Популяционные системы и их структурные компоненты. Генетическая стабильность и изменчивость // *Общая биология*. — 1970. — Т. 31. — С. 507–526.
14. Бех В.В., Грициняк І.І. Інструкція з бонітування українських порід коропа та амурського сазана. — К.: Інститут рибного господарства УААН, 2009. — 28 с.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ УКРАИНСКОЙ ЧЕШУЙЧАТОЙ ПОРОДЫ КАРПА ВАТ “ПОЛТАВАРЫБХОЗ”

А.Э. Мариуца, О.В. Залоило, С.И. Тарасюк, Ю.А. Смоленский

Проведен сравнительный анализ генетической структуры племенного стада и группы ремонтного молодняка украинской чешуйчатой породы карпа ВАТ “Полтаварыбхоз” на основе исследования распределения частот аллелей и генотипов по отдельным полиморфным генетико-биохимическим системам.

COMPARATIVE ANALYSE GENETIC STRUCTURE OF THE UKRAINIAN SCALED BREEDS OF CARP FROM FISHERIES “POLTAVARYBGOSP”

A. Mariutsa, O. Zaloilo, S. Tarasjuk, Y. Smolenskiy

It has been analyze genetic structure of the Ukrainian scaled breads of carps from “Poltavarybgosp” to distribution of alleles and genotypes of electrophoretik variants of particular locuses.