

УДК 575.1;639.371.5; 577.121.7

Городна О.В., кандидат біологічних наук, (algor@gala.net) ©
Інститут рибного господарства НААНУ, м.Київ

ОСОБЛИВОСТІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ТА БІОХІМІЧНИХ ПРОЦЕСІВ УКРАЇНСЬКОГО ЛУСКАТОГО КОРОПА ЛЮБІНСЬКОГО ВНУТРІШНЬОПОРОДНОГО ТИПУ

Виявлено особливості формування генетичної структури української лускатої породи коропа любінського внутрішньопородного типу за поліморфними системами карові та активністю ключових ферментів системи антиоксидантного захисту.

Ключові слова: поліморфізм, алейні варіанти, генетична структура, активність ферментів, система антиоксидантного захисту, українська луската порода коропа.

Вступ. Отримання значної кількості білка в харчуванні людини забезпечується за рахунок тваринницької продукції. Вагому частку становить коропівництво – одна з основних галузей отримання продукції рибництва в усьому світі. Короп був отриманий шляхом селекції дикого виду сазана. До Європи domestикований вид коропа потрапив з Далекого Сходу. На теренах СНД короп є найбільш розповсюдженим видом. Селекція у коропівництві України ведеться в напрямку отримання порід, внутрішньопородних типів і зональних масивів. Порода створюється для певної технології розведення і вирощування. Для промислового вирощування в Україні використовують гідриди першої генерації коропа з сазаном. В Західних областях України, на базі дослідного господарства Великий Любінь Інституту рибного господарства, виведено любінський внутрішньопородний тип, який характеризується певними господарськими та біологічними особливостями, пристосований до умов утримання регіону [1].

Формування окремої біологічної одиниці як генетично збалансованої системи, відбувається під впливом факторів природного і штучного відбору, тому нашим завданням є дослідження генетичної структури для закріплення потенціалу внутрішньопородного типу українського коропа та вивчення стану окремих ланок системи антиоксидантного захисту.

Матеріали і методи. Для дослідження було відібрано зразки крові у дволіток групи риб українського лускато коропа (*Syrpinus carpio* L.) господарства Львівської дослідної станції ІРГ НААНУ - 43 особини. В якості консерванту використовували гепарин. Відібрану кров фракціонували центрифугуванням впродовж 10 хвилин та 3,5 тис.об/хв. Отримані фракції плазми крові, лейкоцитів та еритроцитів фасували по епендорфам заморожували і зберігали за температури -18°C .

Методом електрофорезу, з власними модифікаціями, в поліакриламідному гелі і наступним специфічним для кожної генетико-біохімічної системи пофарбуванням виявляли поліморфізм локусу трансферину (TF) та естерази (EST) плазми крові [2; 3; 4].

Активність супероксиддисмутази (СОД) визначали за методом Костюк В.А., Потапович А.И., Ковалева Ж.И. (1990) [5], активність каталази (КАТ) – методом Королюка М.А., Иванова Л.И., Майорова (1988) [6], глутатіонпероксидази (ГП) – за методикою В.М.Моїна (1986) [7]. При цьому враховували здатність ферментів системи антиоксидантного захисту (АОЗ) утворювати специфічні забарвлені сполуки з певними хімічними елементами у відповідності до кількості даного ферменту, його активності у досліджуваній тканині.

Отримані дані опрацьовано методом варіаційної статистики з обчисленням середніх величин і похибок ($M \pm m$), основні популяційно-генетичні параметри груп тварин та достовірність результатів (метод χ^2 , t_s - критерій Стьюдента) розраховували відповідно з методиками [8; 9], а також за допомогою стандартних комп'ютерних програм "BIOSYS-1", "Statistica".

Результати дослідження. Як молекулярно-генетичні маркери для опису генетичної структури групи українського лускатого коропа розглядали розподіл алельних і генотипових частот, обраховували рівень гетерозиготності за локусами TF та EST, що кодують білки плазми крові риб.

При дослідженні локусу трансферину нами виявлено п'ять алелів: TfA, TfB, TfC₁, TfC₂, TfD. Дані алельні варіанти мали специфічний розподіл та поєднання у різні генотипи для досліджених коропів (табл.1).

Таблиця 1

Розподіл частот алельних варіантів та генотипів локусу трансферину у коропа

Алелі трансферину				
A	B	C ₁	C ₂	D
0,151	0,372	0,151	0,186	0,140
Розподіл генотипів, %				
AA	AB	AC ₁	AC ₂	AD
2,3	20,9	4,7	-	-
BB	BC ₁	BC ₂	BD	C ₁ C ₁
16,3	-	9,3	11,6	4,7
C ₁ C ₂	C ₁ D	C ₂ C ₂	C ₂ D	DD
11,6	4,7	4,7	7,0	2,3

Усі алельні варіанти були представлені майже в однаковій кількості окрім алелю B, частота якого була найбільшою - 0,372. Якщо подивитись на розподіл генотипів, то з алелем трансферину B виявлено тільки три з чотирьох можливих, але висока частота гомозиготи TF BB – 16,3%. Найбільше виявлено гетерозигот генотипу TF AB – 20,9% і не виявлено зовсім гетерозигот з генотипами AC₂, AD, BC₁. В найменшій кількості були генотипи TF AA та TF DD – 2,3% від загальної кількості досліджених особин. Окрім того, специфікою

даної групи українського лускатого коропа є й висока частка алельного варіанту Tf D, який, за даними літератури, більш притаманний дикому виду коропа-сазану амурському (табл.1).

Досліджено також поліморфізм за локусом естерази плазми. У коропа знайдено чітке менделівське успадкування естераз і за використання популяційного аналізу показано, що за концентрацією алелів естеразних генів легко можна знайти відмінність між популяціями [10].

Нами виявлено два алельні варіанти цього локусу, які різняться рухливістю за електрофорезу в поліакриламідному гелі. Більш швидкий варіант Est F, повільніший варіант - Est S, який мав вищу частоту 0,593 (табл.2).

Таблиця 2

Розподіл частот алельних варіантів та генотипів гену естерази плазми у коропа

Алелі естерази		Розподіл генотипів, %	
EST, n	43	FF	7,0
F	0,407	FS	67,4
S	0,593	SS	25,6

У дослідженій групі коропів виявлено усі три можливі генотипи естеразного локусу. Найменша кількість гомозигот FF у найбільшій кількості представлені гетерозиготні генотипи FS – 67,4%.

Отримані значення гетерозиготності за локусами естерази та трансферину у лускатих коропів дещо відрізнялись від теоретично розрахованої очікуваної гетерозиготності (табл.3).

Таблиця 3.

Значення гетерозиготності локусу трансферину й естерази плазми у досліджених коропів

Локуси	H_n	H_o
TF	0,698	0,771
EST	0,674	0,488
\bar{H}_n / \bar{H}_o	0,686	0,630

H_n – значення середньої наявної гетерозиготності

H_o – значення середньої очікуваної гетерозиготності

Значення наявної гетерозиготності були більші, ніж очікуваної за локусом естерази плазми, а за трансфериним локусом виявлена гетерозиготність була меншою від значення очікуваної гетерозиготності. Розрахунок середньої наявної та очікуваної гетерозиготності за двома поліморфними генетико-біохімічними системами плазми крові виявив підвищене значення наявної гетерозиготності – 0,686 від значення очікуваної – 0,630.

У групи українського лускатого коропа також досліджували функціональний стан системи АОЗ у тканині гепатопанкреасу, міокарда і крові на основі аналізу змін у значеннях показників активності ключових ферментів

цієї системи: супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази. Наші дослідження показують, що активність даних ферментів різниться і у ГП має тканинспецифічний характер. Так, у печінці її активність 74,93 мкмоль GSH хв-1мг-білка, а в крові $4,98 \pm 0,39$ мкмоль GSH хв-1мг-білка (табл.4). Потрібно зазначити, що ефективність роботи ГП, утилізація H_2O_2 у клітині суттєво залежить від наявності глюкози і цілого ряду інших чинників, які впливають на вміст в клітині GSH (відновлений глутатіон) і НАДФ (відновлений нікотинамід аденіндинуклеотидфосфат).

Таблиця 4

Активність ферментів АОЗ у трьох тканинах коропа

Тканина/ Фермент системи АОЗ	Печінка	Міокард	Кров
Супероксиддисмутаза M ± m	2418 ± 144,0	1597,3 ± 155,4	1627 ± 242,2
Каталаза M ± m	0,00336±0,00009	0,00183±0,00034	0,00459±0,00107
Глутатіонпероксидаза M ± m	74,93 ± 4,03	27,9 ± 4,95	4,98 ± 0,39

СОД (од. акт. хв-1мг-1 білка); КАТ (мкмоль H_2O_2 хв-1 мг-1 білка); ГП (мкмоль GSH хв-1мг-1 білка).

Як у ГП, так і у СОД активність найвища у печінці, тоді як для каталази виявлено найвищу активність у крові 0,00459, і, навпаки, ГП у крові має найнижчу активність (табл.4).

Доведено, що токсичний ефект дії O_2^- на клітину посилюється при високій активності СОД і низькій чи нормальній активності інших ферментів системи АОЗ. Вирішальне значення при цьому має наявність балансу між активністю цього ферменту та активністю каталази і глутатіонпероксидази, які метаболізують H_2O_2 у клітині. Надлишок СОД може шляхом оберненої регуляції інгібувати синтез антиоксидантних ферментів, при цьому роблячи клітину менш захищеною перед окисними процесами [11]. Відповідно, вирішальне значення для забезпечення ефективного антиоксидантного захисту клітини має не висока ферментативна активність якогось одного з антиоксидантних ферментів, а їх взаємоузгоджена і збалансована робота з нейтралізації активних форм кисню.

Висновки. Таким чином, нами виявлено, що за локусом трансферину особини українського лускатого коропа мають вирівняну частоту алельних варіантів і вагому частку амурського сазана у генотипі. Локус естерази плазми має високий рівень гетерозиготності, що забезпечує внутрішньопородний запас мінливості дослідженої групи. Перевага середньої наявної гетерозиготності над розрахованою очікуваною свідчить про наявність стабілізаційних процесів генетичної структури любінського внутрішньопородного типу лускатого коропа і необхідність контролю за її змінами. Порода українського лускатого коропа любінського внутрішньопородного типу характеризується високим рівнем

активності супероксиддисмутази, каталази, глутатіонпероксидази – ферментів системи антиоксидантного захисту, які забезпечують адекватність відповіді на зміни навколишнього середовища.

Література

1. І.І. Грициняк, М.В. Гринжевський, О.М. Третяк, М.С. Ківа, А.І. Мрук Фермерське рибництво. Київ, 2008. – 560 с.
2. Harris H., Hopkinson D.A. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics.// Amsterdam: North-Holland Publ.Comp.-1976.
3. Gahne B, Juneja RK, 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.-V.8,№3.-P.127-37
4. Глазко В.И. Генетика изоферментов сельскохозяйственных животных / В.И. Глазко // ВИНТИ. Сер. Общая генетика / Итоги науки и техники. -1988. - Т.10. -212с.
5. В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.И. Ковалева. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутази, основанный на реакции окисления кверцетина // Вопр. мед. химии. 1990. № 2. С. 88–91.
6. М.А. Королук, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. — 1988. — № 1. — С. 16–18.
7. В.М. Моин. Простой и специфический метод определения активности глутатіонпероксидази в эритроцитах // Лаб. дело. — 1986. № 12. - С. 724–727.
8. Плохинский Н.А. Биометрия.-Изд.Моск.ун-та,-1969.-368с.
9. Животовский Л.А. Популяционная биометрия. -М.: Наука. -1991. - 271с.
10. Щербенок Ю.И. Связь полиморфных систем эстераз и трансферринов с хозяйственно важными признаками у карпа // -Л. -Биохим. Генетика рыб. -1973.-С.129-137.
11. Дубинина Е.Е. Антиоксидантная система плазмы крови // Укр. биохим. журн. – 1992. – Т64. № 2. – С. 3 – 15.

Summary

Gorodna A.V.

Fishing Institute NAAS of Ukraine

SPECIFICITY OF GENETIC STRUCTURE AND BIOCHEMICAL PROCESSES OF THE UKRAINIAN SCALY CARP OF LJUBINSKY INTRASPECIES TYPE

It is investigated specificity of formation of genetic structure of the Ukrainian scaly carp of ljubinsky intraspecies type on two polymorphic systems of blood and activity of key enzymes of system antioxidant protection.

Key words: *polymorphism, allelik type, genetic structure, activity of enzymes, system of antioxidant protection, Ukrainian scaly carp.*

Стаття надійшла до редакції 20.09.2010