

ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА НОВОГО МАЛОЧЕШУЙЧАТОГО ВНУТРИПОРОДНОГО ТИПА КАРПА НА ОСНОВАНИИ МИТОХОНДРИАЛЬНЫХ ДНК-МАРКЕРОВ

В.В. Бех

Материал трех заводских линий нового малочешуйчатого внутривидового типа украинской рамчатой породы карпа был исследован на митохондриальную изменчивость. Установлено, что генетические маркеры, которые были использованы в исследованиях, могут быть эффективно применены при определении помесей в случае внутривидовой гибридизации, или в случае значительных генетических расхождений.

GENETIC STRUCTURE OF THE NEW SCALELESS SUBBREED TYPE OF COMMON CARP ON THE BASIS OF THE MITOCHONDRIAL DNA-MARKERS

V. Bekh

The material of three plant lines of the new Scaleless Subbreed Type of the Ukrainian Frame Breed of common carp has been investigated for mitochondrial variability. It is established, that genetic markers which have been used in investigations, can be effectively applied for detection of the hybrids in case of intraspecific hybridization or significant genetic divergences.

УДК 639.3:575

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ОКРЕМИХ ВНУТРІШНЬОПОРІДНИХ ГРУП КОРОПІВ УКРАЇНСЬКОЇ СЕЛЕКЦІЇ

Т.А. Нагорнюк, І.А. Особа, С.І. Тарасюк

Інститут рибного господарства НААН України, м. Київ

Проаналізовано генетичну структуру популяцій рамчастого коропа любінського внутрішньопорідного типу, помісного рамчастого коропа, лускатих і рамчастих коропів несвицького зонального типу, амурських сазанів та їх гібридів з коропом за 4-ма генетико-біохімічними системами крові. Виявлено специфічні особливості будови генетичної структури за дослідженими локусами.

У коропівництві селекційно-племінна справа охоплює питання закріплення генетичного потенціалу існуючих порід та внутрішньопорідних типів українських коропів, збереження генофонду рідкісних і малопоширених масивів коропа, формування гетерогенного племінного матеріалу амурського сазана для потреб промислової гібридизації, створення нових типів високоспинних малолускатих коропів з поліпшеними господарськими характеристиками, втім числі з використанням генетичних ресурсів зарубіжної селекції. Тому необхідно: вивчити генетичну структуру наявного племінного матеріалу коропа різного генезису, проводити стабілізацію основних показників

продуктивності, виділити нові більш продуктивні господарсько-цінні генотипи, сформувати та впровадити у виробництво високопродуктивні стада [1].

На даний час необхідно створити всі умови для збереження генетичної чистоти вітчизняного генофонду українських порід коропа. У зв'язку з цим особливої актуальності набувають методи генетичного контролю популяцій за використанням молекулярно-генетичних маркерів, найбільш доступними з яких є вивчення біохімічного поліморфізму, який дає змогу контролювати селекційний процес, використовувати його при формуванні стад, враховуючи при цьому фактори штучного та природного добору [2].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

З метою вивчення генетичних особливостей генетичної структури популяцій українських коропів різного генезису та амурських сазанів проведено аналіз розподілу алелів і генотипів за електрофоретичними варіантами окремих генетико-біохімічних систем. Виконано порівняльний аналіз генетичних структур шести груп риб: українського рамчастого коропа любінського внутрішньопорідного типу (ЛРК), амурського сазана (АС), коропо-сазанового гібрида (КСГ), помісного рамчастого коропа (галицький короп × любінський короп) (ПРК), які були відібрані у дослідному господарстві “Великий Любін” Львівської області, а також українського рамчастого коропа несвицького зонального типу (НРК) та українського лускатого коропа несвицького зонального типу (НЛК), відібраних у рибгоспі “Несвич” Волинської області.

Як молекулярно-генетичні маркери для опису генетичної структури різноманітних груп тварин розглядали розподіл алельних і генотипних частот за локусами, що кодують деякі білки і ферменти крові риб: локус трансферину (TF), два локуси естерази (EST) (К.Ф.3.1.1.1), два локуси НАД-залежної малатдегідрогенази (MDH) (К.Ф.1.1.1.37), два локуси малик-ензиму (ME) (К.Ф. 1.1.1.40).

Електрофоретичний розподіл білків і ферментів виконували за допомогою горизонтального крохмального електрофорезу [3, 4], а також з використанням вертикального поліакриламідного гелелектрофорезу [5] з подальшим гістохімічним фарбуванням [6].

Математичну обробку даних виконували за допомогою комп'ютерної програми “BIOSYS-1” [7].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для включених у дослідження груп риб характерні локус-специфічні особливості будови генетичної структури. Всі досліджені генетико-біохімічні системи виявились поліморфними.

Трансферин (TF) — це маркірований білок з двома окремими ділянками, здатний зв'язувати один атом тривалентного заліза. Найбільш вивчена α -глобулінова фракція трансферину, який бере активну

участь у розподілі і регулюванні заліза в організмі.

При дослідженні локусу трансферину виявлено чотири алельні варіанти — А, В, С, D та поєднання їх генотипів. Найбільш рухливим виявився алельний варіант Tf А, його частота у любінських рамчастих коропів була найвищою і становила 0,300, порівняно з іншими групами риб. З усіх досліджених груп коропів Tf В найчастіше зустрічався у лускатого і рамчастого коропів несвицького зонального типу. Алельний варіант Tf С за локусом трансферину у коропо-сазанових гібридів та амурських сазанів зустрічався з найбільшою частотою (0,378 та 0,443 відповідно). Алель Tf D, притаманний амурському сазану, з найменшою частотою зустрічався у лускатого та рамчастого коропів несвицького зонального типу (0,114 і 0,043 відповідно), а також у любінського рамчастого коропа (0,129), порівняно з групою помісних коропів, у яких частота алелю D найвища (0,257) (табл. 1).

Малатдегідрогеназа є ферментом стадії циклу Кребса та бере участь в окисненні малату. У досліджених груп коропів виявились два алельні варіанти Mdh F та Mdh S.

Розподіл частот алельних варіантів за локусом MDH подано у табл. 1. Виявилось, що у всіх груп коропів частота швидкомігруючого алельного варіанта Mdh F значно переважала частоту, з якою зустрічався алель Mdh S.

У всіх груп коропів, включених у дослідження, локус малатдегідрогенази має неврівноважений стан, оскільки відмічається статистично достовірний надлишок гетерозигот.

Молекули ферменту малік-ензиму мають тетрамерну будову. У ссавців виявляють два аутосомних локуси — ME-s і ME-m, які кодують розчинну і мітохондріальну форми ферменту відповідно.

Частоти алельних варіантів за локусом ME наведено у табл. 1. У групі рамчастих коропів любінського внутрішньопорідного типу значно переважав повільний алель Me S (0,671) порівняно з Me F (0,329). А в обох групах несвицьких коропів, навпаки, вищою була частота швидкого алельного варіанта (0,678 та 0,629 у лускатого і рамчастого коропів

Таблиця 1. Розподіл генних частот за поліморфними локусами у популяції українських коропів

Локуси та алелі	Досліджені групи риб					
	АС	ЛРК	КСГ	ПРК	НЛК	НРК
<i>TF</i>	<i>n</i> =45	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35
A	0,156	0,300	0,186	0,229	0,171	0,129
B	0,289	0,414	0,214	0,300	0,457	0,500
C	0,378	0,157	0,443	0,214	0,257	0,329
D	0,178	0,129	0,157	0,257	0,114	0,043
<i>EST</i>	<i>n</i> =45	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35
F	0,533	0,371	0,514	0,371	0,300	0,414
S	0,467	0,629	0,486	0,629	0,700	0,586
<i>MDH</i>	<i>n</i> =45	<i>n</i> =31	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =32	<i>n</i> =35
F	0,689	0,629	0,671	0,671	0,641	0,671
S	0,311	0,371	0,329	0,329	0,359	0,329
<i>ME</i>	<i>n</i> =45	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =35	<i>n</i> =32	<i>n</i> =35
F	0,478	0,329	0,486	0,514	0,687	0,629
S	0,522	0,671	0,514	0,486	0,313	0,371

відповідно). Частота Me S у лускатих і рамчастих коропів несвицького зонального типу становила 0,313 і 0,371 відповідно. В інших груп коропів, включених у дослідження, помітних відмінностей за частотою обох алельних варіантів за локусом ME не відмічено.

За локусом ME в трьох із шести груп коропів спостерігається неврівноважений стан, тобто відмічається статистично достовірний надлишок гетерозигот у любінських рамчастих коропів ($\chi^2 = 7,957$, $P=0,005$) та лускатих і рамчастих коропів несвицького зонального типу ($\chi^2 = 6,226$, $P=0,013$ та $\chi^2 = 7,247$, $P=0,007$ відповідно).

Естераза плазми крові є ферментом, який каталізує реакції гідролізу і синтезу складних ефірів. Виявлено дві зони естерази: F — швидка форма, S — повільна. За локусом естерази плазми крові у несвицьких лускатих коропів, рамчастих коропів любінського внутрішньопорідного типу та помісних рамчастих коропів, відмічається значно більша частота алельного варіанта з низькою рухливістю Est S, порівняно із іншими дослідженими групами (табл. 1). У групі амурських сазанів алельний варіант з високою рухливістю за локусом естерази зустрічається найчастіше (0,533).

Всі досліджені групи, крім обох груп несвицьких коропів, мали неврівноважений стан за локусом естерази, оскільки відмічається статистично достовірний надлишок гетерозигот згідно із законом Харді-Вайнберга.

Серед досліджених груп українських коропів найбільший рівень середньої гетерозиготності спостерігався у рамчастих коропів любінського внутрішньопорідного типу (0,714), що свідчить про високий розмах генетичної мінливості цієї групи і потребу в її подальшій генетичній консолідації (табл. 2)

Аналіз генетичних відстаней показав міжгрупові відмінності у досліджених коропів (табл. 3). Незначними були відмінності між амурським сазаном та коропо-сазановим гібридом (0,002), а також між групами несвицьких лускатих і рамчастих коропів (0,006). Генетична подібність досліджених груп несвицького коропа зумовлена результатами селекційної роботи. Подальша селекційна робота повинна бути спрямована на консолідацію генетичної структури за дослідженими локусами.

Найбільші значення генетичних відстаней спостерігались між рамчастим коропом любінського внутрішньопорідного типу та двома групами несвицького

Таблиця 2. Рівень середньої гетерозиготності у досліджених коропів на локус (He) за чотирма поліморфними генетико-біохімічними системами

Група риб	He	S.E.
АС	0,656	0,035
ЛРК	0,714	0,020
КСГ	0,686	0,061
ПРК	0,614	0,041
НЛК	0,606	0,084
НРК	0,671	0,008

Примітка: He — рівень середньої гетерозиготності на локус; S.E. — стандартна помилка середньопопуляційних значень.

Таблиця 3. Генетичні відстані (вище діагоналі, М. Ней, 1972) та індекс ідентичності (нижче діагоналі, М. Ней, 1978), розраховані між групами коропів за поліморфними системами

	Досліджені групи риб					
	АС	ЛРК	КСГ	ПРК	НЛК	НРК
АС	****	0,024	0,002	0,012	0,031	0,018
ЛРК	0,017	****	0,029	0,014	0,037	0,033
КСГ	0,000	0,021	****	0,014	0,034	0,021
ПРК	0,005	0,006	0,006	****	0,015	0,017
НЛК	0,024	0,029	0,026	0,008	****	0,006
НРК	0,011	0,025	0,014	0,010	0,000	****

коропа — лускатим і рамчастим (0,037 та 0,033 відповідно) і несвицьким лускатим коропом та коропо-сазановим гібридом (0,034).

Відомо, що несвицький зональний тип коропа створено методом складного відтворювального схрещування дзеркальних галицьких коропів з українськими рамчастими та лускатими коропами антонінсько-зозуленецького внутрішньопорідного типу. У своїй спадковій основі вони мають 75% спадкових задатків дзеркальних галицьких та 25% — антонінсько-зозуленецьких лускатих коропів [8].

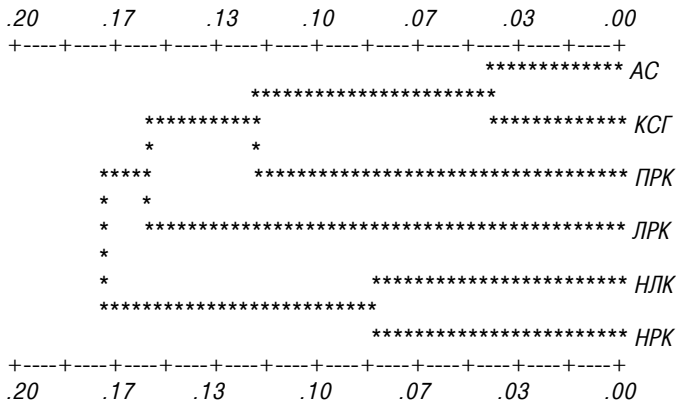
Любінський внутрішньопорідний тип створено шляхом складного відтворювального схрещування плідників городоцького племстада несвицького зонального типу з коропами ропшинської порідної групи. Спадкова основа коропів племінного стада має 51,56% спадкових задатків дзеркального галицького, 34,38% — антонінсько-

зозуленецьких лускатих коропів і 14,06% спадкових задатків амурського сазана [8]. У всіх груп коропів спільним предком є галицький короп, а відмінним те, що у несвицьких коропів у спадковій основі немає задатків амурського сазана.

Таким чином, можна припустити, що причиною помітних відмінностей за генетичними відстанями між ними є певні особливості їхнього походження та особливості селекційної роботи, яка проводиться у господарствах.

На основі індексу ідентичності побудовано дендрограму, яка дає змогу оцінити генетичну спорідненість досліджених коропів (рисунок).

При побудові дендрограми любінський рамчастий короп разом з помісним рамчастим утворює загальний кластер з групами коропо-сазанового гібрида та сазана (див. рисунок). За своєю генетичною структурою найбільша подіб-



Дендрограма генетичних взаємовідношень між популяціями українського коропа

ність виявлена між групами амурського сазана і коропо-сазанового гібрида та між групами несвицького коропа. Такий розподіл кластерів на дендрограмі,

ми наявні локус-специфічні особливості будови генетичної структури, зумовлені, в основному, факторами штучного добору.

ЛІТЕРАТУРА

1. Грициняк І.І. Пріоритетні напрями наукового забезпечення рибного господарства України / І.І. Грициняк, О.М. Третяк // Рибогосподарська наука України. — 2007. — № 1. — С. 5–20.
2. Генетическая компонента биоразнообразия крупного рогатого скота / [В.И. Глазко, М.В. Зубец, А.В. Кушнир, С.И. Тарасюк, Т.Т. Глазко]. — К.: КВИЦ, 2005. — 224 с.
3. Davis B.J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins / B.J. Davis // Ann. N. Y. Acad. Sci. — 1964. — V. 121. — P. 404–408.
4. Harris H. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics / H. Harris, D.A. Hopkinson. — Amsterdam: North-Holland Publ. Comp., 1976. — 680 p.
5. Gahne B. Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle / B. Gahne, R.K. Juneja, J. Grolmus // Anim. Blood Groups Biochem. Genet. — 1977. — V. 8. — P. 127–137.
6. Генетика изоферментов / [Корочкин Л.И., Серов О.Л., Пудовкин А.И. и др.]. — М.: Наука, 1977. — 275 с.
7. Swofford D.L. 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.
8. Фермерське рибництво / [Грициняк І.І., Гринжевський М.В., Третяк О.М. та ін.]. — К.: Герб, 2008. — 560 с.

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ НЕКОТОРЫХ ВНУТРИПОРОДНЫХ ГРУПП КАРПОВ УКРАИНСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Т.А. Нагорнюк, И.А. Особа, С.И. Тарасюк

Проанализировано генетическую структуру популяций рамчатого карпа любинского внутривидового типа, помесного рамчатого карпа, чешуйчатых и рамчатых карпов несвицкого зонального типа, амурских сазанов и их гибридов с карпом по 4-м генетико-биохимическим системам крови. Выявлены специфические особенности генетической структуры по исследованным локусам.

COMPARATIVE ANALYSIS OF GENETIC STRUCTURE OF SOME INTRABREEDING GROUPS OF CARPS OF UKRAINIAN SELECTION

T. Nagornyuk, I. Osoba, S. Tarasjuk

The were analysis of genetic structure of framed carp populations of Lyubin' intrabreeding type, breeders forms of framed carp, of scaled and framed carps of Nesvickiy zonal type, and their hybrids Amur sazan with a carp by 4 genetic-biochemical systems of blood. The were found specific particularities of genetic structure by studied loci.