

АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ОКРЕМИХ ТИПІВ УКРАЇНСЬКОГО ЛУСКАТОГО КОРОПА

А. Е. Маріуца, mariutsa@list.ru, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ
С. І. Тарасюк, tarasjuk@ukr.net, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ
І. І. Грициняк, hrytsyniak@if.org.ua, Інститут рибного господарства НААН, м. Київ

Мета. Вивчення специфіки генетичної структури, рівня внутрішньо- та міжпопуляційної генетичної мінливості стад українського лускатого коропа різних господарств України за використання ДНК-маркерів (ISSR-PCR).

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

Результати. На підставі виконаних досліджень за використання трьох мікросателітних локусів ДНК — (AGC)₆G, (ACC)₆G, (AGC)₆C — проведено аналіз генетичної структури українських лускатих коропів. Сумарно за всіма праймерами виявлено 55 ампліконів. При використанні праймеру (AGC)₆G виявлено 15, (ACC)₆G — 17, (AGC)₆C — 23 амплікони. Молекулярна маса на електрофореграмах була максимальною при використанні праймеру (ACC)₆G (500 п.н.—3500 п.н. у нивківського коропа). Виявлені специфічні особливості між досліджуваними популяціями лускатих коропів залежать від їх генетичного походження. Варіацій виявлених ампліконів достатньо, щоб відокремлювати особин, або, якщо робота проводиться з групою плідників, підбирати батьківські пари для підвищення генетичного розмаїття.

Наукова новизна. За використання ISSR-маркерів встановлено особливості генетичної структури, рівень генетичної мінливості українських лускатих коропів.

Вперше отримано нові дані про специфіку генетичної структури за використання методів ПЛР, які сприяють виявленню специфіки механізмів підтримки відносної стабільності генофонду українського лускатого коропа і дозволяють контролювати та зберігати специфічність його генетичної структури.

Практична значимість. Запропоновано метод генетичного контролю стад, який дає можливість за використання вказаних праймерів провести аналіз генетичної структури племінних стад і реалізувати генетичну інформацію на різних стадіях селекційного процесу.

Ключові слова: ISSR-PCR, ДНК-маркери, український лускатий короп, генотип, амплікон.

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ ТА АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Популяційно-генетичні дослідження у галузі сучасного рибництва набувають пріоритетного значення в процесі ведення племінної роботи в господарствах. Їх метою є вивчення структури та динаміки генофонду; процесів, які виникають у цих популяціях; генетичних наслідків різних типів схрещувань; впливу штучного відбору на спадкові ознаки організму; значення чинників довкілля для розвитку ознак тощо. Молекулярно-генетичні маркери відіграють провідну роль у сучасних дослідженнях, реально допомагаючи вирішувати багато важливих як актуальних теоретичних, так і практичних проблем селекції та генетики.

© А. Е. Маріуца, С. І. Тарасюк, І. І. Грициняк, 2016



У сучасних дослідженнях генетичної структури здебільшого використовують підходи ідентифікації поліморфізму на рівні ДНК [1–3]. В процесі ведення селекційно-плеємної роботи в рибництві для встановлення особливостей генетичної структури груп риб все частіше використовують високополіморфні молекулярно-генетичні маркерні системи на підставі ПЛР [4]. Популярність цих методів зумовлена, насамперед, можливістю проведення адекватного оцінювання як між-, так і внутрішньопопуляційної мінливості досліджуваних тварин. Саме застосування у дослідженнях значної кількості маркерів, за жорсткого відбору особин з унікальним поєднанням ознак, є основним шляхом для вивчення можливих взаємозв'язків між різними морфофізіологічними системами на рівні ДНК [5, 6].

Одним із методів, який дозволяє в певній мірі провести аналіз генетичної структури, оцінку генетичної різноманітності популяцій, ступеня їхньої інбредності та генетичних відстаней між лініями, породами і популяціями тварин, а також філогенетичних взаємовідносин між ними, є метод за використання ISSR-PCR-аналізу [7, 8].

За допомогою такого підходу можна ампліфікувати фрагменти ДНК, що знаходяться між двома близько розташованими послідовностями, які вважаються унікальними. В результаті одержують значну кількість видоспецифічних ПЛР-продуктів, представлених дискретними смугами на електрофореграмі. Враховуючи те, що ISSR-метод має високу відтворюваність, його можна з успіхом застосовувати для виявлення внутрішньовидової генетичної мінливості та ідентифікації популяцій чи ліній [9–11].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведений порівняльний аналіз генетиної структури коропа української лускатої породи: нивківського внутрішньопорідного типу — «Лебединська РМС», Сумська обл. (n=15); антонінсько-зозуленецького — ВАТ «Хмельницькрибгосп», Хмельницька обл. (n=15); несвицьких зональних типів — господарство «Несвич», Волинська обл. (n=15). Зразки крові відібрано з хвостової вени відповідно до методики з наступною консервацією.

ДНК виділяли з еритроцитів за використання набору реагентів «Diatom DNA Prep 100» згідно з рекомендаціями виробника. ПЛР проводили за використання набору для проведення полімеразної ланцюгової реакції «GenePak PCR Core». Для ПЛР використовували ампліфікатор «Mastercycler» (Eppendorf). У пробірці з ліофілізованою сумішшю, що містила 1 од. Taq-полімерази, 200 мкМ дезоксинуклеозидтрифосфатів, 2,5 мМ MgCl₂, вносили 20 нг геномної ДНК, 5 мкл 0,2 мМ праймеру, 10 мкл ПЛР-розчину. Ампліфікацію проводили в такому режимі: денатурація ДНК — 2 хв. за 95°C; наступні 35 циклів: денатурація — 30 с за 94°C; відпал — 30 с за 58°C, синтез — 2 хв. за 72°C, охолодження за 4°C. Продукти ПЛР аналізували методом електрофорезу 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 здійснювали за використання маркеру молекулярних мас 1-kb DNA Ladder (Gibco BRL) (Україна).



Для визначення алейних частот на підставі опрацьованих профілів вибірки створювали матрицю вихідних даних за відсутності (0) смуги або присутності (1) в стані профілю за результатами виконаних ампліфікацій для кожної проби ДНК.

Виконаний підрахунок алейних частот, обрахунок рівня гетерозиготності для всіх досліджуваних локусів окремо і середньої гетерозиготності на локус, генетичних дистанцій, проведено кластерний аналіз з використанням пакету комп'ютерної програми Gelstat та Nei [12, 13].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Породоспецифічні особливості генетичної структури українських лускатих коропів досліджували за використання ISSR-PCR-маркерів. У роботі використано праймери з тринуклеотидною короною частиною і якірною з одного нуклеотиду: (AGC)₆G, (ACC)₆G, (AGC)₆C.

Сумарно під час дослідження коропів української лускатої породи в трьох господарствах виявили доволі високий рівень генетичного поліморфізму. Так, сумарна кількість ідентифікованих алейних варіантів з обраними праймерами склала 55: за використання праймера (AGC)₆G — 15 ампліконів, (ACC)₆G — 17 ампліконів, (AGC)₆C — 23 амплікони. Молекулярна маса на електрофореграмах коливалася в значних межах і була максимальною за використання праймера (ACC)₆G, (500 п.н.–3500 п.н.) у нивківського лускатого коропа. За використання праймера (ACC)₆G молекулярна маса на електрофореграмах коливалася в значних межах (500 п.н.–1700 п.н.) у лускатого коропа антонінсько-зозуленецького зонального типу. При використанні праймера (ACC)₆G молекулярна маса на електрофореграмах коливалася в значних межах (700 п.н.–2000 п.н.) у коропів несвицького зонального типу.

У групі нивківського лускатого коропа за використання праймера (AGC)₆G сумарно виявлено 35 ампліконів (7 алейних варіантів), розмір яких знаходився у межах 450–2500 п.н. Частота алейних варіантів довжиною 450 п.н. і 2500 п.н. становила 11,4%. Частота алейних варіантів довжиною 500 п.н. та 2000 п.н. становила 5,7%.

За використання праймера (ACC)₆G у групі нивківського лускатого коропа сумарно виявлено 24 амплікони (9 алейних варіантів), розмір яких знаходився у межах 800–3500 п.н. Частота алейних варіантів довжиною 2000 п.н. і 3500 п.н. становила 4,17%; 800 п.н., 1600 п.н., 2500 п.н. та 3000 п.н. — становила 8,3%; 1300 п.н. та 1400 п.н. — 16,7%.

У групі нивківського лускатого коропа за використання праймера (AGC)₆C сумарно виявлено 43 амплікони (13 алейних варіантів), розмір яких знаходився у межах 300–2500 п.н. Індивідуальні спектри нараховували від одного до шести ампліконів. Частота алейних варіантів ампліконів довжиною 300 п.н., 450 п.н., 1000 п.н. і 2000 п.н. становила 9,3%; 1500 п.н. та 2500 п.н. — 6,9%; 550 п.н., 700 п.н. та 900 п.н. — 2,3%; 400 п.н. та 750 п.н. — 11,7%.

За генетичними відстанями [13] є відмінності у досліджуваних груп українського лускатого коропа. Найнижчі значення генетичних відстаней виявлено у коропів несвицького зонального типу (0,109) відповідно до коропів нивківського внутрішньопорідного типу, найвищий індекс ідентичності у



антонінсько-зозуленецького (0,325) відповідно до коропів несвицького зонального типу, тобто групи коропів розділилися за генетичним походженням (табл. 1).

Таблиця 1. Генетичні відстані (вище діагоналі) та індекс ідентичності (нижче діагоналі) між коропами різного походження, розраховані за ISSR-PCR-системою, за використання праймеру (AGC)₆G

Типи українського лускатого коропа	Показники		
	нивківський	антонінсько-зозуленецький	несвицький
нивківський	****	0,199	0,109
антонінсько-зозуленецький	0,208	****	0,291
несвицький	0,166	0,325	****

За використання праймеру (AGC)₆G сумарно виявлено 35 ампліконів, індивідуальні спектри нараховували вісім алейних варіантів, розмір яких знаходився у межах 450–1500 п.н. Частота алейних варіантів довжиною 1500 п.н. і 1200 п.н. становила 11,4%; 1000 п.н. та 800 п.н. — 17,1%; 1400 п.н. та 500 п.н. — 14,3%.

За використання праймера (ACC)₆G у групі антонінсько-зозуленецьких коропів сумарно в спектрі виявлено 30 ампліконів, індивідуальні спектри нараховували вісім алейних варіантів. Частота алейних варіантів довжиною 1200 п.н. і 500 п.н. становила 16,7%; 1700 п.н. й 800 п.н. — 10%.

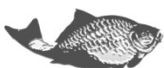
За використання праймера (AGC)₆C у групі антонінсько-зозуленецьких коропів сумарно виявлено в спектрі 46 ампліконів, індивідуальні спектри нараховували чотирнадцять алейних варіантів.

Частота алейних варіантів довжиною 1500 п.н., 900 п.н. та 600 п.н. становила 10,9%; 1400 п.н., 800 п.н. та 550 п.н. 6,5%; 1350 п.н., 400 п.н. і 200 п.н. — 4,3%.

Таблиця 2. Генетичні відстані (вище діагоналі) та індекс ідентичності (нижче діагоналі) між коропами різного походження, розраховані за ISSR-PCR-системою за використання праймеру (ACC)₆G

Типи українського лускатого коропа	Показники		
	нивківський	антонінсько-зозуленецький	несвицький
нивківський лускатий	****	0,433	0,027
антонінсько-зозуленецький	0,125	****	0,024
несвицький	0,159	0,409	****

Найвищі значення генетичних відстаней виявлено у антонінсько-зозуленецького коропа (0,433) по відношенню до нивківського, найнижчий індекс ідентичності виявлено у нивківського коропа (0,125) відносно антонінсько-зозуленецького (табл. 2).



У групі несвицького зонального типу українського лускатого коропа за використання праймеру (AGC)₆G сумарно виявлено 41 амплікон, розмір яких знаходився у межах від 750 до 1500 п.н. Індивідуальні спектри нараховували одинадцять алейних варіантів. Частота алейних варіантів довжиною 1400 п.н., 1300 п.н., 1000 п.н. та 800 п.н. становила 9,8%; 1200 п.н., і 700 п.н. — 12,1%.

За використання праймеру (ACC)₆G у групі несвицького коропа індивідуально виявлено шістнадцять алейних варіантів. Сумарна кількість ампліконів в спектрі становила 49, розмір яких знаходився у межах від 700 до 2000 п.н. Частота алейних варіантів довжиною 2000 п.н., 1800 п.н. та 800 п.н. становила 8,16%; 1600 п.н., 1400 п.н. та 1200 п.н. — 16,7%.

За використання праймеру (AGC)₆C у групі несвицького коропа індивідуально виявлено тринадцять алейних варіантів. Сумарна кількість ампліконів в спектрі становила 45, розмір яких перебував у межах від 450 до 2000 п.н. Частота алейних варіантів довжиною 2000 п.н., 1500 п.н. та 1000 п.н. становила 11,1%; 1600 п.н. і 700 п.н. — 8,9%.

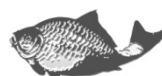
Таблиця 3. Генетичні відстані (вище діагоналі) та індекс ідентичності (нижче діагоналі) між коропами різного походження, розраховані за ISSR-PCR-системою за використання праймеру (AGC)₆G

Типи українського лускатого коропа	Показники		
	нивківський	антонінсько-зозуленецький	несвицький
нивківський	****	0,496	0,178
антонінсько-зозуленецький	0,214	****	0,200
несвицький	0,339	0,232	****

Між генетичними відстанями досліджених груп коропа [13] за праймером (AGC)₆C спостерігаються відмінності. Найвищі значення генетичних відстаней виявлено у антонінсько-зозуленецьких коропів (0,496) по відношенню до нивківських, найнижчий індекс ідентичності (0,214) серед досліджуваних груп виявлено у нивківського лускатого коропа відносно антонінсько-зозуленецького, що залежить від генетичного походження коропів.

На підставі індексу ідентичності побудовано дендрограму, яка дозволяє оцінити генетичну спорідненість досліджуваних груп коропів (рис. 1). Слід відзначити, що українські лускаті коропи різного походження розподілились за досліджуваними системами, утворюючи відповідні кластери. Кластерний аналіз, розрахунок якого ґрунтується на алейних частотах поліморфних локусів, дав змогу отримати два кластери — один сформували групи коропів нивківського внутрішньопорідного типу та несвицького зонального типу. Антонінсько-зозуленецький тип коропа займає автономне положення на дендрограмі, що, як видно, свідчить про її специфічну генетичну структуру.

На моделі порівняльного аналізу досліджуваних груп коропів чітко видно, що їх генетична структура за досліджуваними ISSR-маркерами залежить від генетичного походження риб.



АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ОКРЕМИХ ТИПІВ УКРАЇНСЬКОГО ЛУСКАТОГО КОРОПА

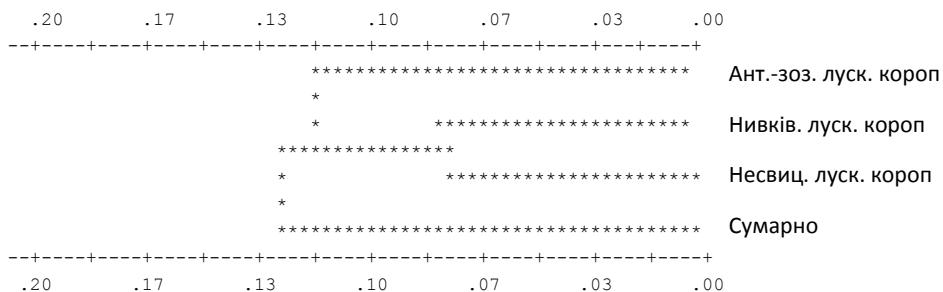


Рис. 1. Дендрограма генетичних взаємовідношень між окремими типами українського лускатого коропа

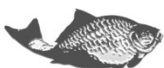
Таблиця 4. Показники генетичної мінливості у досліджуваних груп українського лускатого коропа за використання ДНК-маркерів (ISSR-PCR) (n=45)

Праймер	Ефективне число алелей	Нивківський лускатий короп (n=15)	Антонінсько-зозу-ленецький лускатий короп (n=15)	Несвицький лускатий короп (n=15)	Сумарна гетерозиготність
<i>Гетерозиготність</i>					
(AGC) ₆ G	1,560	0,557	0,674	0,693	0,641
(ACC) ₆ G	1,340	0,811	0,637	0,789	0,746
(AGC) ₆ C	1,305	0,801	0,763	0,765	0,776
Середнє	1,402	0,723	0,691	0,749	0,721

Ефективне число алелей у досліджуваних популяціях генотипів варіює від 1,305 (AGC)₆C до 1,560 (AGC)₆G. Середнє ефективне число алелей на локус склало 1,402. За розрахунками алейних частот визначені основні показники генетичної мінливості. Максимальний сумарний рівень гетерозиготності зафіксований за локусом (AGC)₆C — 0,721, низький — за локусом (AGC)₆G — 0,641. Для нивківського лускатого коропа рівень очікуваної гетерозиготності за ISSR-системою мав найвище значення показника за праймером (ACC)₆G — 0,811. Найнижчий рівень очікуваної гетерозиготності за праймером (AGC)₆G становив 0,557. Антонінсько-зозуленецький лускатий короп (0,763) та несвицький лускатий короп (0,765) за праймером (AGC)₆G займали проміжне значення даного показника.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШОГО РОЗВИТКУ

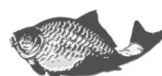
Результати проведених досліджень з використанням методики на підставі поліморфізму ДНК-маркерів показали, що для індивідуального генотипування необхідно підбирати високоспецифічні маркери, поліморфізм за якими можна виявляти на рівні особин. Даний метод придатний для аналізу популяцій коропа і доцільний для порідного маркування на рівні міжпорідних груп коропа. На підставі результатів досліджень можна стверджувати, що даний метод аналізу



часто повторюваних послідовностей ядерної ДНК цілком придатний для популяційного генотипування і аналізу філогенетичних відносин порід коропа. В цілому, результати аналізу з використанням ISSR-маркерів узгоджуються з даними проведеного дослідження із застосуванням генетико-біохімічних систем. Використання мікросателітної панелі ISSR-маркерів для генотипування коропів, а саме, виявлення міжпорідних відмінностей між лускатою та рамчастою породами надає додаткові можливості для проведення комплексної оцінки коропових риб, які вирощуються в рибницьких господарствах України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Wallace R. B. DNA recombinant technology / Wallace R. B. — Boca Raton (Fla.) : CRC press, 1983. — 212 p.
2. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase / R. K. Saiki, D. H. Gelfand, S. Stoffel [et al.] // Science. — 1988. — Vol. 239. — № 2. — P. 487—491.
3. ISSR-PCR маркеры и мобильные генетические элементы в геномах сельскохозяйственных видов млекопитающих / В. И. Глазко, Е. А. Гладырь, А. В. Феофилов [и др.] // Сельскохозяйственная биология. — 2013. — № 2. — С. 71—76.
4. Schlotterer C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA / C. Schlotterer // Chromosoma. — 2000. — Vol. 109. — P. 365—371.
5. Сулимова Г. И. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения / Г. И. Сулимова // Генетика. — 1995. — Т. 31, № 9. — С. 1294—1299.
6. Comparative Analysis of Using Isozyme and ISSR-PCR Markers for Population Differentiation of Cyprinid Fish / O. N. Zhigileva, O. G. Baranova, V. V. Pozhidaev [et al.] // Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. — 2013. — Vol. 13. — 159—168.
7. Genetic diversity and structure of natural *Dactylis glomerata* L. populations revealed by morphological and microsatellite-based (SSR/ISSR) markers / P. Madesis, E. M. Abraham, A. I. Kalivas [et al.] // Genet. Mol. Res. — 2014. — Vol. 13(2). — P. 4226—4240.
8. Тарасюк С. І. Молекулярно-генетичні методи в рибництві : монографія / С. І. Тарасюк, І. І. Грициняк. — К. : Аграр. наука, 2013. — 312 с.
9. Фермерське рибництво / [Грициняк І. І., Гринжевський М. В., Третяк О. М. та ін.]. — К. : Герб, 2008. — 560 с.
10. Шерман І. М. Розведення і селекція риб / Шерман І. М., Гринжевський М. В., Грициняк І. І. — К. : БМТ, 1999. — 238 с.
11. Rogstad S. Gelstat : a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data / S. Rogstad, S. Pelisan // Bio Techniques. — 1996. — Vol. 21, № 6. — P. 187—196.
12. Zietkiewicz E. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification / E. Zietkiewicz, A. Rafalski, D. Labuda // Genomics. — 1994. — Vol. 20, № 2. — P. 176—183.
13. Nei M. Estimatiuon of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individualus / M. Nei // Genetics. — 1978. — Vol. 89. — P. 583—590.



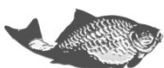
REFERENCES

- Wallace, R. B. (1983). *DNA recombinant technology*. Boca Raton (Fla.) : CRC press.
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., & Higuchi, R. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239, 2, 487-491.
- Glazko, V. I., Gladyr', E. A., Feofilov A. V., Bardukov, N. V., & Glazko, T. T. (2013). ISSR-PCR markery i mobil'nye geneticheskie jelementy v genomah sel's'kohozejstvennyh vidov mlekopitajushhjih. *Sel'skohozejstvennaja biologija*, 2, 71-76.
- Schlotterer, C. (2000). Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. *Chromosoma*, 109, 365-371.
- Sulimova, G. I. (1995). DNK-markery v geneticheskijh issledovanijah: tipy markerov, ih svojstva i oblasti primenenija. *Genetika*, 31, 9, 1294-1299.
- Zhigileva, O. N., Baranova, O. G., Pozhidaev, V. V., Broj, I. S., & Moiseenko, T. I. (2013). Comparative analysis of using isozyme and ISSR-PCR markers for population differentiation of cyprinid fish. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13, 159-168.
- Madesis, P., Abraham, E. M., & Kalivas, A. I. et al. (2014). Genetic diversity and structure of natural *Dactylis glomerata* L. populations revealed by morphological and microsatellite-based (SSR/ISSR) markers. *Genet. Mol. Res.*, 13(2), 4226-4240.
- Tarasiuk, S. I., & Hrytsyniak, I. I. (2013). *Molekuliarno-henetychni metody v rybnytstvi: monohrafiia*. Kyiv : Ahrar. nauka.
- Hrytsyniak, I. I., Hrynzhovskyi, M. V., Tretiak, O. M., Kiva, M. S., & Mruk, A. I. (2008). *Fermerske rybnytstvo*. Kyiv : Herb.
- Sherman, I. M., Hrynzhovskyi, M. V., & Hrytsyniak, I. I. (1999). *Rozvedennia i selektsiia ryb*. Kyiv : BMT.
- Rogstad, S., & Pelisan, S. (1996). Gelstat : a computer program for population genetics analyses using VNTR multilocus probe data. *Bio Techniques*, 21, 6, 187-196.
- Zietkiewicz, E., Rafalski, A., & Labuda, D. (1994). Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification. *Genomics*, 20, 2, 176-183.
- Nei, M. (1978). Estimatiuon of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individualus. *Genetics*, 89, 583-590.

**АНАЛИЗ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ
ОТДЕЛЬНЫХ ТИПОВ УКРАИНСКОГО ЧЕШУЙЧАТОГО КАРПА**

А. Э. Мариуца, mariutsa@list.ru, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев
С. И. Тарасюк, tarasjuk@ukr.net, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев
И. И. Грициняк, hrytsyniak@if.org.ua, Институт рыбного хозяйства НААН, г. Киев

Цель. Изучение специфики генетической структуры, уровня внутри- и межпопуляционной генетической изменчивости племенных стад украинского чешуйчатого карпа разных хозяйств Украины с использованием ДНК-маркеров (ISSR-PCR).



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

Результаты. На основе проведенных исследований был осуществлен анализ генетической структуры украинских чешуйчатых карпов с использованием трех микросателлитных локусов ДНК: (AGC)₆G, (ACC)₆G, (AGC)₆C. Суммарно по всем праймерам выявлено 55 ампликонов. При использовании праймера (AGC)₆G выявлено 15, (ACC)₆G — 17, (AGC)₆C — 23 ампликона. Молекулярная масса на электрофореграммах была максимальной при использовании праймера (ACC)₆G (500 п.н.–3500 п.н.) у нивчанского карпа. Обнаружены специфические отличия между исследованными популяциями чешуйчатых карпов, зависящие от их генетического происхождения. 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. При использовании ISSR-маркеров установлены особенности генетической структуры, уровень генетической изменчивости племенных стад украинских чешуйчатых карпов.

Впервые получены новые данные о специфике генетической структуры на основе использования ПЦР, способствующие выявлению специфических механизмов поддержания относительной стабильности генофонда стад украинских чешуйчатых карпов и позволяющие контролировать и сохранять специфичность их генетической структуры.

Практическая значимость. Предложен метод генетического контроля стад украинского чешуйчатого карпа на основе использования ПЦР, позволяющий провести анализ генетической структуры стад и реализовать генетическую информацию на ранних стадиях селекционного процесса.

Ключевые слова: ISSR-PCR, украинский чешуйчатый карп, ДНК-маркеры, генотип, генетическая структура, ПЦР, ампликон.

ANALYSIS OF THE GENETIC STRUCTURE OF CERTAIN TYPES OF SCALED CARP

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

S. Tarasjuk, tarasjuk@ukr.net, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

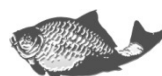
I. Hrytsyniak, hrytsyniak@if.org.ua, Institute of Fisheries NAAS, Kyiv

Purpose. Study of the genetic structure specificity, intra- and interpopulation genetic variation of the brood stocks of Ukrainian scaled carp from different fish farms of Ukraine using DNA markers (ISSR-PCR).

Methodology. A PCR (ISSR-PCR) method with appropriately selected primers has been used to investigate the genetic structure specificity.

Findings. The genetic structure analysis of Ukrainian scaled carp has been carried out using three microsatellite DNA loci: (AGC)₆G, (ACC)₆G, (AGC)₆C. In total, 55 amplicons were detected for all primers. Fifteen primers were detected when using (AGC)₆G primer, 17 for (ACC)₆G primer and 23 for (AGC)₆C primer. The molecular weight on electropherograms had maximum values when using (ACC)₆G primer (500 n.p. – 3500 n.p.) in Nyvky carp. The detected specific differences between the examined populations of scaled carp depend on their genetic origin. Variations of the detected amplicons are sufficient for separating individual fish or, if works are carried out with a group of broodfish, for selecting parental pairs for increasing genetic diversity.

Described changeability of genetic structure after a concrete area a genome and distributing of markers in herds testifies to the substantial level of genetic changeability which is subsoil for determination of level of their adjusted in the process of rogueing in the economies of different patterns of ownership.



Originality. *The use of ISSR-markers allowed detecting the peculiarities of the genetic structure, level of genetic variability of the brood stocks of Ukrainian scaled carp.*

For the first time, we obtained new data on the specificity of the genetic structure when using PCR techniques, which allow detecting specific mechanisms of the maintenance of the relative stability of the genetic material of Ukrainian scaled carps and allow controlling and preserving the specificity of their genetic structure.

Practical value. *Proposition of a method for the genetic control of Ukrainian scaled carp stocks based on the application of PCR techniques, which allows performing an analysis of the genetic structure of fish stocks and using the genetic information at early stages of breeding selection process.*

Keywords: *ISSR-PCR, Ukrainian scaled carp, DNA-loci, genotype, genetic structure, PCR, amplicon.*

