

СПЕЦИФІКА ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ УКРАЇНСЬКИХ РАМЧАСТИХ КОРОПІВ ОКРЕМИХ РИБОГОСПОДАРСТВ УКРАЇНИ

О. В. Городна, Ю. М. Глушко, С. І. Тарасюк

Інститут рибного господарства НААН України

Досліджено поліморфізм двох генетико-біохімічних систем плазми крові у риб. Виявлено специфіку формування генетичної структури окремих груп рамчастого коропа відповідно до відокремлення внутрішньопородного типу за даними системами (естераза — EST: КФ 3.1.1.1. та білок плазми крові трансферин — TF). Розраховано частоти окремих алельних варіантів досліджуваних маркерів та рівень середньої наявної і очікуваної гетерозиготності по групах. На основі визначення індексу генетичної ідентичності розраховували генетичні відстані між досліджуваними групами та визначено специфіку формування генетичної структури малолускатих рамчастих коропів України.

Методами традиційної селекції на Україні створено породи коропа, які різняться такими характеристиками, як холодостійкість, високоспинність, здатність до швидкого росту, підвищена резистентність. У подальшому використанні порід можливе розщеплення генотипу, тому з породними групами постійно, шляхом відбіру і підбіру кращих особин, з метою отримання високоцінного репродуктивного стада риб постійно ведеться селекційна робота. Традиційно цей процес займає великий період часу і деколи є малоефективним. Для вирішення таких завдань використовують, в основному, контроль кількісних полігенних ознак, дані про походження тварин, багаторічну оцінку племінних тварин за нащадками.

Розвиток теоретичних досліджень в галузі популяційної генетики надає нового підходу до контролю консолідації порід і внутрішньопородних ліній. З метою покращення ефективності селекційної роботи застосовуються дослідження генетичної структури породи чи виду. В кінці п'ятдесятих — початку шістдесятих років було розроблено способи розділення ферментів та ізоалельних форм білків за допомогою електрофореза в крохмальному і поліакриламідному гелях [1–3]. Було показано, що у більшості тварин і рослин поліморфними в популяціях є 30–50 % і більше генів, які кодують білки, а середній рівень гетерозиготності (відносна кількість локусів у особини, що мають гетерозиготний стан) складає частіше за все 7–15 % [3, 4].

На сьогодні накопичено багато відомостей за генетичну мінливість білків риб. Мінливість мають глобулярні білки типу міогенів, гемоглобіни і білки сироватки крові, а також усі ферменти, які знаходяться в крові та в окремих органах риб в залежності від виду риби. З іншого боку, наявність мономорфізму локуса у окремих видів риб може бути з успіхом використана в роботі з систематики риб, в першу чергу для дослідження родинних зв'язків цих видів і родин риб в межах сімейств.

Загальний спектр сироваткових білків з успіхом використовується в роботах з внутрішньовидової систематики. У міжвидових гібридів риб зазвичай знаходять білки обох батьківських форм [5, 6].

Трансферини, які є у сироватці крові риб і транспортують необхідне для побудови гемоглобіну залізо, доволі мінливі. Поліморфізм трансферинів має в основному генетичний характер (хоча можливі і нестійкі конформаційні зміни). У риб кількість алелів в одній популяції частіше за все дорівнює три або чотири, але може доходити до восьми-десяти і навіть до п'ятнадцяти.

Поліморфізм трансферинів виявлено вже у більш ніж 30 видів риб, враховуючи і коропа. Більшою мірою успадкування кодомінантне і пов'язане з одним локусом. Співвідношення типів трансферину в популяціях риб зазвичай відповідає формулі Харді-

Вейнберга, хоча можливі і достовірні відхилення (надлишок або нестача гомозигот). Між популяціями існує достовірна різниця за частотами трансферинових алелів. Наприклад, у далекосхідного сазана спостерігається підвищена концентрація алелю TfD ($q = 0,64$), тоді як у європейських популяціях сазана і коропа цей алель зустрічається мало [7, 8].

Естерази поєднують декілька дуже різних за своїми функціями груп ферментів: відомі арил-, ацетил-, холін- та карбоксил естерази. Успадковуються естерази за кодомінантним типом, без утворення гібридних білків. Молекула естерази являє собою, як правило, гомополімер (скоріше, димер), тому кількість ізозимів для цього фермента обмежена. У декотрих риб вона може бути доволі значною [9].

Поліморфізм за генами естерази зустрічається вельми часто: його знайдено у багатьох родинах риб, враховуючи і коропових. За поширеністю і розмахом мінливості естерази схожі з трансферинами, часто в популяції знаходять по три, чотири і навіть по шість–сім алелів одного локуса. Одна й та ж естераза кодується часто декількома локусами. Випадкове успадкування генів можна перевірити шляхом співставлення самок з їхніми нащадками [10]. Чітке менделівське успадкування естераз знайдено і у коропа [11]. Популяційний аналіз показав, що за концентрацією алелів естеразних генів легко можна знайти відмінність між популяціями.

З метою вивчення генетичної структури та вирішення окремих селекційних завдань в Україні розпочаті дослідження пов'язані з визначенням рівня генетичної мінливості за використання різних типів молекулярно-генетичних маркерів.

Матеріали і методи. За двома генетико-біохімічними системами ми проаналізували групи рамчастого коропа трьох господарств: Львівської дослідної станції ІРГ ВАТ рибгосп «Великий Любін» (РГВЛ06) 10 особин (відбір зразків крові 2006 р), 35 особин (відбір зразків 2008 р) (РГВЛ08); Волинська область ВАТ рибгосп «Несвич» (РН) 35 особин; Черкаська область рибгосп «Гірський Тікич» (РГГТ) 36 особин.

Для дослідження брали кров у дволіток риб. В якості консерванту використовували гепарин. Відбрану 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 в поліакриламідному гелі і наступним специфічним для кожної генетико-біохімічної системи пофарбуванням виявляли поліморфізм локусу трансферину (TF) та естерази (EST) плазми крові з власними модифікаціями [12–14].

Основні популяційно-генетичні параметри груп тварин та достовірність результатів (метод χ^2 , t_s — критерій Стьюдента) розраховуються у відповідності методик [15, 16], а також за допомогою стандартних комп'ютерних програм «BIOSYS-1», «Statistica».

Результати та обговорення. Досліджували генетико-біохімічну систему трансферину у чотирьох груп рамчастого коропа з трьох господарств. Виявлено шість алельних варіантів за розподілом яких досліджувані групи риб різнилися одна від одної (табл.1). Відсутність алельного варіанту TfA у групи риб господарства РГВЛ06 можливо пояснюється замалою вибіркою, але у риб господарства РГГТ також не виявлено цього алелю. Найбільша частота спостерігається для алельного варіанту TfB для всіх груп рамчастого коропа, окрім групи особин господарства РВЛ06, де найбільша частота алелю TfC₁, а інші алелі мають відносну рівновагу частоти. У цьому ж господарстві при дослідженні іншої вибірки риб через певний проміжок часу бачимо суттєве зменшення алельного варіанту трансферинового гену TfC₂ та TfD. У популяції рамчастого коропа господарства РН найменша частота виявлена для алелю TfD (0,016) інші алелі TfA, TfC₁, TfC₂ знаходяться у відносній рівновазі.

Таблиця 1

Розподіл частот алельних варіантів гену трансферина у рамчатого коропа

Локус/го-во	РГВЛ06	РГН	РГВЛ08	РГГТ
TF n	10	32	34	36
A	-	0,141	0,318	-

B	0,250	0,547	0,439	0,500
C ₁	0,438	0,156	0,106	0,097
C ₂	0,125	0,141	0,045	0,097
D	0,188	0,016	0,091	0,292
F	-	-	-	0,014

Примітка: n — кількість досліджених особин

Розподіл алельних варіантів трансеринового локусу у риб господарства РГГТ має свою специфіку, окрім відсутності алелю TfA виявлено збільшення частоти алелю TfD, що притаманне, за літературними даними, особинам далекосхідного сазану. У цієї популяції риб також виявлено мало розповсюджений алельний варіант TfF. Тобто, за аналізом розподілу алельних частот поліморфного локусу гену трансферину маємо своєрідність генетичної структури українського малолускатого рамчастого коропа відповідно до господарств в яких утримуються внутрішньопородні типи цього коропа. Підрахунок гетерозиготності за локусом трансферину показав недостовірну перевагу наявної гетерозиготності над очікуваною для усіх досліджених груп риб(табл.2).

Таблиця 2

Значення гетерозиготності груп риб досліджених господарств

Гетерозиготність\го-во	РГВЛ06	РГН	РГВЛ08	РГГТ
H _n	0,750	0,719	0,758	0,667
H _o	0,742	0,647	0,695	0,655

Примітка: H_n — наявна гетерозиготність на локус, H_o — очікувана гетерозиготність на локус

Досліджено поліморфізм і розподіл частот алельних варіантів гену естерази. У всіх групах риб виявлено наявність обох алельних варіантів, які визначають за швидкістю руху в розподільчому гелі — швидкий EstF і повільний — EstS. За частотою цих алельних варіантів досліджувані групи риб різнились між собою (табл.3).

Для господарств «Великий Любін» і «Несвич» виявлено перевагу за частотою алельного варіанту EstS, найбільше значення якої складало 0,667. У господарстві «Гірський Тікич», навпаки, за частотою мав перевагу алельний варіант EstF — 0,750.

Розраховане значення наявної гетерозиготності за даним локусом у всіх групах рамчастого коропа перевищувало значення очікуваної гетерозиготності (табл. 3).

Таблиця 3

Розподіл частот алельних варіантів та гетерозиготність гену естерази у рамчастого коропа

Локус\го-во	РГВЛ06	РГН	РГВЛ08	РГГТ
EST n	10	35	35	36
F	0,333	0,414	0,371	0,750
S	0,667	0,586	0,629	0,250
H _n	0,667	0,657	0,743	0,389
H _o	0,471	0,492	0,474	0,380

Примітка: n — кількість досліджених особин, H_n — наявна гетерозиготність на локус, H_o — очікувана гетерозиготність на локус

У риб господарства РГГТ воно було найменшим — 0,389, а найбільше виявлено у риб господарства РГВЛ08 — 0,743. Однак, слід відмітити, що за значенням гетерозиготності популяція риб господарства РГГТ знаходилась в урівноваженому стані. Тобто, тиск як штучного так і природного відбору настільки врівноважено, що він не впливає на суттєве збільшення або зменшення кількості гомо- і гетерозигот у цій популяції.

Рівень середньої гетерозиготності, розрахований за двома поліморфними генетико-біохімічними системами трансферину і естерази плазми крові у груп риб українського

малолускатого рамчастого коропа знаходився в межах 0,528–0,750. Рівень середньої очікуваної гетерозиготності знаходився в межах 0,518–0,606.

На основі визначення індексу генетичної ідентичності розраховували генетичні відстані між досліджуваними групами малолускатих рамчастих коропів різних господарств (табл. 4).

Таблиця 4

Значення генетичної відстані між групами рамчастого коропа (поверх діагоналі) та генетичної ідентичності (під діагоналлю) різних господарств

	Господарство	1	2	3	4
1	РГВЛ06	***	0,142	0,169	0,343
2	РГН	0,868	***	0,038	0,194
3	РГВЛ08	0,845	0,963	***	0,269
4	РГГТ	0,709	0,824	0,764	***

Можемо бачити, що значення генетичної відстані коливаються між дослідженими групами риб в межах 0,038 — між рибами господарства РГН та РГВЛ08 до 0,343 — між рибами господарства РГГТ та РГВЛ06. Відповідно до цих значень популяції господарств і утворюють кластери на дендрограмі (рис. 1).

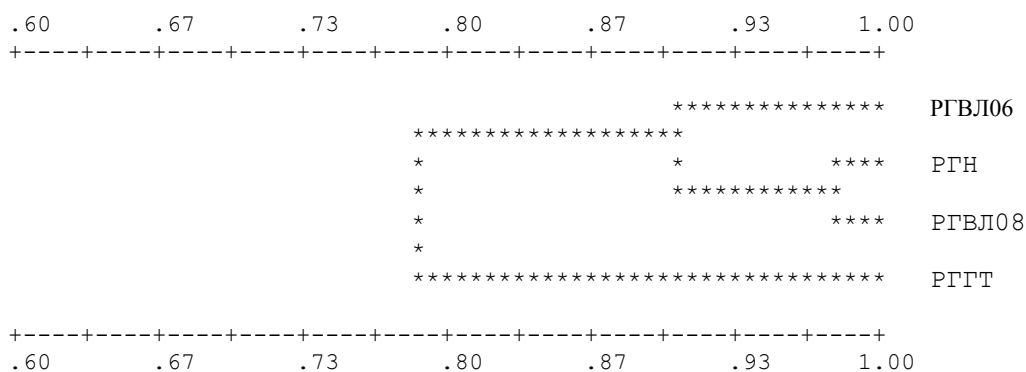


Рис. 1. Дендрограма генетичних взаємовідносин між групами рамчастого коропа, розрахована на основі індексу генетичної ідентичності Нея (Nei, 1972)

Більш споріднені між собою виявились генетичні структури, досліджені за використання генетико-біохімічних систем, у риб господарств «Великий Любінь» і «Несвич». Найбільш своєрідною і віддаленою від інших виявилась популяція рамчастого коропа, яка утримується в господарстві «Гірський Тікич».

Загалом, за даними поліморфізму генетико-біохімічних систем крові українського малолускатого коропа з досліджених господарств України можна зазначити певну специфіку генетичних взаємовідносин відповідно до сформованих внутрішньопородних типів розведення коропів. У структурі рамчастого коропа РГГТ не виявлено алельного варіанту Tf A. Проте, алель Tf D має значну частку, а також виявлено алель Tf F. Тоді, як для усіх досліджених груп коропів характерною є перевага частоти алельного варіанту Tf B, то для груп рамчастих коропів несвицького зонального типу характерна збільшена частка алелів трансферину Tf C1 і Tf C2, а у любінських коропів значну частку має алель Tf A. За генетико-біохімічною системою естераз плазми крові більш близькі між собою рамчасті коропи любінського і несвицького типу, хоча частота алельного варіанту естерази S більше у любінської групи, але не перевищує ступеня вірогідності. Коропи господарства «Гірський Тікич», навпаки, відрізняються збільшеною часткою алельного варіанту Est F. Від інших груп коропа вони також відрізняються низьким рівнем середньої гетерозиготності.

ВИСНОВКИ

Задля характеристики консолідованості групи риб, потрібно використовувати

генетико-біохімічні системи, які можуть слугувати внутрішньопородними маркерами.

Розпочато роботу над формуванням основи певної генетичної структури для породи українського малолускатого коропа, в якій задіяні генетико-біохімічні системи крові.

Група українського рамчастого коропа господарства РГГТ виявилася найбільш консолідованою і мабуть, певний проміжок часу була ізольованою та на даний час знаходиться у врівноваженому стані.

Малолускаті коропи любінського типу і несвіцького масиву генетично більш споріднені між собою, ніж з коропами господарства «Гірський Тікич», що надає можливості для внутрішньопородної селекції.

Перспективи подальших досліджень. Пошук додаткових інформативних генетико-біохімічних систем для висвітлення генетичної структури коропів найбільш розповсюджених в аквакультури України та формування певної базової структури породи і виду в цілому.

Можливо існують кореляційні зв'язки, які ще потребують продовження досліджень, між фенотипом, товарними показниками коропів та досліджуваними системами крові, що відображають формування своєрідної внутрішньопородної генетичної структури окремих типів українського малолускатого коропа.

SPECIFICS OF GENETIC STRUCTURE OF UKRAINIAN FRAME CARPS OF SEPARATE FISH HUSBANDRIES OF UKRAINE

O. V. Gorodna, Yu. M. Hlushko, S. I. Tarasiuk

S U M M A R Y

The polymorphism of two genetic-biochemical systems of plasma of blood of fishes was investigated. The formation specificity of genetic structure of particular groups frame carp, according to separation to intra-breed types as to systems (esterase — EST: КФ 3.1.1.1. and transferrin-TF — protein of plasma of blood) was received. The frequencies of particular allelic variants of investigated markers and level of average observable and expected heterozygosity in each group were counted. On the basis of determination of the index of genetic identity were counted genetic distances between investigated groups and determined similarity or specificity of formation of genetic structure few-scaled carps of Ukraine.

СПЕЦИФИКА ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ УКРАИНСКИХ РАМЧАТЫХ КАРПОВ ОТДЕЛЬНЫХ РЫБНЫХ ХОЗЯЙСТВ УКРАИНЫ

O. V. Gorodna, Yu. M. Глушко, С. I. Тарасюк

А Н Н О Т А Ц И Я

Исследовали полиморфизм двух генетико-биохимических систем плазмы крови у рыб. Выявили специфику формирования генетической структуры отдельных групп рамчатого карпа, в соответствии с разделением на внутривидовые типы по данным системам (эстераза — EST: КФ 3.1.1.1. и белок плазмы крови трансферрин — TF). Рассчитывали частоты отдельных аллельных вариантов исследуемых маркеров и уровень средней наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности по группам. На основании определения индекса генетической идентичности рассчитывали генетические расстояния между исследуемыми группами, определяя схожесть или специфику формирования генетической структуры малочешуйчатых карпов Украины.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. *Smithies O.* Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults / O. Smithies // *Biochem. J.* — 1955. — V. 61. — P. 629–641.
2. *Hunter R. L.* Histochemical demonstration of enzymes separated by zone electrophoresis in starch gels / R. L. Hunter, C. L. Markert // *Science.* — 1957. — V. 125. — P. 1294–1295.
3. *Hubby J. L.* A Molecular Approach to the Study of Genic Heterozygosity in Natural Populations. I. the Number of Alleles at Different Loci in *DROSOPHILA PSEUDOOBSCURA* / J. L. Hubby, R. C. Lewontin // *Genetics.* — 1966. — V. 54 (2). — P. 577–594.
4. *Кирпичников В. С.* Функциональные различия между изозимами (изоформами) и между аллельными формами белков у рыб : Сб.науч. трудов / В. С. Кирпичников. — Л. : Институт цитологии АН СССР, 1979. — С. 5–8.
5. *Nyman O. L.* Variations of proteins in hybrids and parental species of fishes / O. L. Nyman // *Rep. Swed. Salm. Res. Inst.* — 1965. — V. 13. — P. 1–11.
6. *Haen P. J.* Comparative electrophoretic studies of soluble eyelens proteins of some Irish freshwater fishes / P. J. Haen, F. J. O'Rourke // *Nature.* — 1969. — V. 68 (4). — P. 67–76.
7. *Creysse R.* Transferrin variants in carp serum / R. Creysse, G. B. Richard, P. Silberzahn // *Nature.* — 1966. — 17 ; 212 (5068) : 1362.
8. *Балахнин И. А.* Типы трансферрина *Cyprinus carpio* L. / И. А. Балахнин, Н. П. Галаган // *Гидробиол. журн.* — 1972. — Т. 8, № 6. — С. 108–110.
9. *Holmes R. S.* Developmental Genetics of the Esterase Isozymes of *Fundulus heteroclitus* / R. S. Holmes, G. S. Whitt // *Biochemical Genetics.* — 1970. — V. 4. — P. 471–480.
10. *Simonsen V.* Genetics of *Zoarcetes* populations II. Three loci determining esterase isozymes in eye and brain tissue / V. Simonsen, O. Frydenberg // *Hereditas.* — 1972. — V. 70 (2). — P. 235–242.
11. *Щербенюк Ю. И.* Связь полиморфных систем эстераз и трансферринов с хозяйственно важными признаками у карпа / Ю. И. Щербенюк // *Биохим. Генетика рыб.* — 1973. — С. 129–137.
12. *Harris H.* Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics / H. Harris, D. A. Hopkinson // Amsterdam : North-Holland Publ.Comp., 1976.
13. *Глазко В. И.* Генетика изоферментов сельскохозяйственных животных / В. И. Глазко // *ВИНИТИ. Итоги науки и техники.* — 1988. — Т. 10. — 212 с. — (Сер. Общая генетика).
14. *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, № 3. — P. 127–137.
15. *Плохнский Н. А.* Биометрия / Н. А. Плохнский. — Изд. Моск. ун-та, 1969. — 368 с.
16. *Животовский Л. А.* Популяционная биометрия / Л. А. Животовский. — М. : Наука, 1991. — 271 с.
17. *Nei M.* Genetic distance between populations / M. Nei // *Amer. Natur.* — 1972. — Vol. 106, № 4047. — P. 434–436.

Рецензент: кандидат біологічних наук, науковий співробітник лабораторії живлення ВРХ Г. М. Галяс.