

ДОСЛІДЖЕННЯ СПЕЦИФІКИ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ ЗА ВИКОРИСТАННЯ ДНК МАРКЕРІВ (ISSR-PCR) У ЛУСКАТОЇ ПОРОДИ КОРОПА

А. Е. Маріуца, кандидат сільськогосподарських наук

Інститут рибного господарства НААН
вул. Обухівська, 135, м. Київ, Україна
e-mail: mariutsa16@ukr.net

Основним об'єктом риборозведення в Україні був і залишається короп. Породам коропа, виведеним в Україні, притаманний ряд позитивних ознак, які значно підвищують промислову та економічну цінність даного виду і роблять його основним об'єктом вітчизняного рибництва. Однак, стабілізація репродуктивного стада з потрібними показниками потребує постійної селекційної роботи, яка у класичній формі представляє собою комплекс тривалих і трудомістких методів. Тому пошук альтернативних шляхів у селекції є однією з найбільш актуальних проблем сучасного тваринництва.

У сучасних дослідженнях генетичної структури здебільшого використовують підходи ідентифікації поліморфізму на рівні ДНК. В селекційно-племенній галузі рибництва для встановлення особливостей генетичної структури груп риб все частіше використовують високополіморфні молекулярно-генетичні маркерні системи за використання ПЛР. Популярність цих методів обумовлена, насамперед, можливістю оцінювання як міжпородної, так і внутрішньопородної мінливості досліджуваних тварин. Саме застосування у дослідженнях значної кількості маркерів, при жорсткому відборі особин з унікальним поєднанням ознак, є основним шляхом для вивчення можливих взаємозв'язків між різними морфофізіологічними системами на рівні ДНК.

За використання ISSR-PCR-маркерів був проведений порівняльний аналіз генетиної структури української лускатої породи коропа: нивківського внутрішньопорідного типу — «Лебединська РМС», антонінсько-зозуленецького — ВАТ «Хмельницькрибгосп», несвицький зональний тип — господарство «Несвич».

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. Виявлено сумарно 348 ампліконів, кількість ідентифікованих алельних варіантів з обраними праймерами склала 99: за використання праймера (AGC)₆G — 26 ампліконів, (ACC)₆G — 33 амплікони, (AGC)₆C — 40 ампліконів.

Молекулярна маса на електрофореграмах коливалася в значних межах і була максимальною за використання праймера (ACC)₆G, (500 п.н.—3500 п.н.) у нивківського лускатої коропа.

За використання праймера (ACC)₆G молекулярна маса на електрофореграмах коливалася в значних межах (500 п.н.—1700 п.н.) у лускатої 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 внутрішньопорідного типу лускатої коропа за використання праймера (AGC)₆G сумарно виявлено 35 ампліконів (7 алельних варіантів), розмір яких знаходився у межах 450–2500 п.н. Частота алельних варіантів довжиною 450 п.н. і 2500 п.н. становила 11,4%. Частота алельних варіантів довжиною 500 п.н. та 2000 п.н. становила 6%.

За використання праймера (ACC)₆G у групі нивківського лускатої коропа сумарно виявлено 24 амплікони (9 алельних варіантів), розмір яких знаходився у межах 800–3500 п.н. Частота алельних 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. — 17%. У групі нивківського лускатої коропа за використання праймера (AGC)₆C сумарно виявлено 43 амплікони (13 алельних варіантів), розмір яких знаходився у межах 300–2500 п.н. Індивідуальні спектри нараховували від одного до шести ампліконів. Частота алельних 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. — 12%.

У досліджуваних груп українського лускатої коропа за генетичними відстанями є відмінності. 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.

За використання праймеру (AGC)₆G сумарно виявлено 35

ампліконів, індивідуальні спектри нараховували 8 алельних варіантів, розмір яких знаходився у межах 450–1500 п.н. Частота алельних 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 короїв сумарно в спектрі виявлено 30 ампліконів, індивідуальні спектри нараховували 8 алельних варіантів. Частота алельних варіантів довжиною 1200 п.н. і 500 п.н. становила —17%, 1700 п.н., 800 п.н. — 10%.

За використання праймера (AGC)₆C у групі антонінсько-зозуленецьких короїв сумарно виявлено в спектрі 46 ампліконів, індивідуальні спектри нараховували 14 алельних варіантів. Частота алельних варіантів довжиною 1500 п.н., 900 п.н. та 600 п.н. становила —12%; 1400 п.н., 800 п.н. та 550 п.н. — 6,5%; 1350 п.н., 400 п.н. і 200 п.н. — 4,3%.

Найвищі значення генетичних відстаней виявлено у антонінськозозуленецького коропа (0,433) по відношенню до нивківського, найнижчий індекс ідентичності виявлено у нивківського коропа (0,125) відносно антонінськозозуленецького.

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 алельних варіантів. Частота алельних варіантів довжиною 1400 п.н., 1300 п.н., 1000 п.н. та 800 п.н. становила 10%; 1200 п.н., і 700 п.н. — 12,%. За використання праймеру (ACC)₆G у групі несвицького коропа індивідуально виявлено 16 алельних варіантів. Сумарна кількість ампліконів в спектрі становила 49, розмір яких знаходився у межах від 700 до 2000 п.н. Частота алельних 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. — 17%.

За використання праймеру (AGC)₆C у групі несвицького коропа індивідуально виявлено 13 алельних варіантів. Сумарна кількість ампліконів в спектрі становила 45, розмір яких перебував у межах від 450 до 2000 п.н. Частота алельних варіантів довжиною 2000 п.н., 1500 п.н. та 1000 п.н. становила 11,1%; 1600 п.н. і 700 п.н. — 9%.

Між генетичними відстанями досліджених груп коропа [13] за праймером (AGC) C спостерігаються відмінності. Найвищі значення генетичних відстаней виявлено у антонінсько-зозуленецьких короїв (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. Слід відзначити, що українські лускаті коропа різного походження розподілились за досліджуваними системами, утворюючи відповідні кластери. Кластерний аналіз, розрахунок якого ґрунтується на алельних частотах поліморфних локусів, дав змогу отримати два кластери — один сформували групи коропів нивківського внутрішньопорідного типу та несвицького зонального типу. Антонінськозозуленецький 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.

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.