



# Генетика, селекція біотехнологія

УДК 639.3:597 – 115

© 2023

## АНАЛІЗ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ УКРАЇНСЬКИХ ПОРІД КОРОПІВ ЗА ВИКОРИСТАННЯ БІЛКОВИХ МАРКЕРІВ

А.Е. Маріуца<sup>1</sup>, Н.О. Борисенко<sup>2</sup>, Б.О. Ганкевич<sup>3</sup>, О.Ю. Белікова<sup>4</sup>

<sup>1–3</sup>кандидати сільськогосподарських наук

<sup>4</sup>доктор філософії

Інститут рибного господарства НААН

вул. Обухівська, 135, м. Київ, 03164, Україна

e-mail: <sup>1</sup>mariutsa16@ukr.net, <sup>2</sup>b\_natalia@i.ua, <sup>3</sup>veslonos-a@ukr.net, <sup>4</sup>belikova.e.y@gmail.com.

ORCID: <sup>1</sup>0000-0001-5678-2260, <sup>2</sup>0000-0001-5031-5682, <sup>4</sup>0000-0003-1020-7331

Надійшла 03.03.2023

**Мета.** Охарактеризувати особливості генетичної структури лускатих та рамчастих коропів антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу за білковими та ферментними системами. **Методи.** Лабораторні дослідження, комп'ютерний статистичний аналіз. **Результати.** Досліджено генетичну структуру антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу лускатого та рамчастого коропа за білковими маркерами. Виявлено видоспецифічні особливості генетичної структури за досліджуваними локусами. Розраховано рівень наявної та очікуваної гетерозиготності. Встановлено, що збільшена алейна і генотипова різноманітність генетичної структури може бути зумовлена дещо підвищеною інтенсивністю проведеної селекційної роботи. Виявлений надлишок гетерозигот за окремими локусами свідчить про наявність стабілізаційних процесів генетичної структури. **Висновки.** Виявлені породоспецифічні особливості будови генетичної структури антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу лускатої та рамчастої порід коропа. Спостерігалися певна генетична диференціація за окремими білковими маркерами, а також переважання фактичного рівня середньої гетерозиготності за всіма локусами над очікуваним. Установлено, що локуси *TF*, *ALB*, *EST* належать до поліморфних систем, а локуси *CP*, *AM-I*, *PN*, *NB* — до мономорфних.

**Ключові слова:** генетичний поліморфізм, структура популяції, лускатий короп, рамчастий короп, ферментні системи, генотип, популяційна генетика риб.

DOI: <https://doi.org/10.31073/agrovisnyk202304-07>

**Аналіз останніх досліджень і публікацій.** Наявність відомостей про генетичну структуру популяції риб дає можливість проводити дослідження генетичного

поліморфізму на різних рівнях мінливості, а також біохімічний і молекулярно-генетичний аналіз племінного матеріалу з метою збереження кращих генетичних ресурсів [1].

На підставі даних про молекулярно-генетичний поліморфізм білкових маркерів можна вирішувати питання накопичення у популяціях гетерозиготності та зміни консолідації окремих груп чи порід. Маркери дають можливість проводити моніторинг під час селекційних робіт із новими типами та лініями, направлених на покращення товарних показників у тварин, а також можливість контролювати селекційний процес, використовувати його для формування стад, враховуючи при цьому вплив факторів штучного та природного відбору [2].

Дослідження в галузі популяційної генетики — це новий підхід до контролю консолідації порід та внутрішньопородних ліній. З метою покращення ефективності селекційної роботи досліджують генетичну структуру породи або виду. В середині ХХ ст. було розроблено способи ідентифікації у білків та ферментів ізоалельних форм за допомогою електрофорезу у крохмальних та поліакриламідних гелях [3]. Доведено, що у більшості тварин поліморфними в популяціях є 20–50% і навіть більше генів, які кодують білки, а середній рівень гетерозиготності (відносна кількість локусів у особини, що мають гетерозиготний стан) зазвичай становить 6–15%.

Породам коропа, виведеним в Україні, властива низка ознак, що значно підвищують промислову та економічну цінність цього виду та роблять його основним об'єктом вітчизняного рибництва. Однак стабілізація репродуктивного стада певними показниками потребує постійної селекційної роботи, що полягає насамперед у проведенні комплексу довготривалих і трудомістких досліджень. Однією з найбільш актуальних проблем сучасного тваринництва є пошук альтернативних методів у селекції [4, 5].

Створення племінного стада антонінсько-зозуленецьких коропів стало початковим кроком у створенні української лускатої та рамчастої порід коропа, які продемонстрували свої великі можливості в умовах інтенсивного виробництва і дали змогу господарствам досягти високих економічних показників [6, 7]. Завдяки селекційно-племінній роботі було створено прогресивну гетерогенну структуру українських порід коропа та здійснюються її подальший розвиток і генетичне збагачення. Високі продуктивні

якості українських коропів сприяли їх широкому поширенню у країнах як далекого, так і ближнього зарубіжжя.

Генетика білків риб спрямована насамперед на вивчення природного поліморфізму популяцій. У природі впродовж багатьох років нівелювались алелі, які знижували життєздатність своїх носіїв. Як білкові маркери різних видів риб використовують електрофоретичні варіанти білків, ферментів крові та інших тканин і органів. Застосування білкових маркерів дає змогу оцінити генетичне різноманіття окремих стад коропа, прослідкувати за його змінами в процесі розведення та селекції, перевірити чистоту походження окремих стад. Слід створювати умови для збереження генетичної чистоти та захисту від фізичного знищення існуючого генофонду коропа українських порід. Виконання цих робіт неможливе без визначення генетичної структури популяцій.

**Мета досліджень** — охарактеризувати особливості генетичної структури антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу лускатої та рамчастої порід коропа із застосуванням білкових і ферментних систем.

**Матеріали та методи досліджень.** Відібрані зразки крові із хвостової вени у антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу лускатої та рамчастої порід коропа, що вирощуються в господарствах «Меджибіж» та «Антоніни» Хмельницької обл.

Електрофоретичне розділення білків і ферментів крові проводили за допомогою горизонтального крохмального та вертикального поліакриламідного електрофорезу [8] з наступним гістохімічним фарбуванням та генотипуванням за алельними варіантами досліджуваних локусів генетико-біохімічних систем [9].

Математичну обробку отриманих даних виконували із використанням комп'ютерної програми BIOSYS-I [10]. Відхилення фактичних алельних частот від теоретично очікуваних, співвідношення Харді—Вайнберга оцінювали на основі критерію Пірсона. Критичне значення критерію Стюдента  $\chi^2$  брали для 5%-го рівня значимості [11].

Дослідження проведено за 7 білковими маркерами, як-от трансферин (Tf), гемоглобін (Hb), пуриннуклеозидфосфорилаза

(PN), церулоплазмін (CP), амілаза (AM), естераза (EST), альбумін (ALB).

**Результати досліджень та їх обговорення.** Серед  $\beta$ -глобулінів сироватки крові важливу роль відіграють трансферини (TF), що переносять залізо, необхідне для побудови молекули гемоглобіну. Комплекс трансферину із залізом розглядається як атоксичне циркулююче депо заліза. За хімічним складом трансферин належить до групи речовин глікопротеїнової природи. Поліморфізм трансферину виявлено у багатьох видів савців [12]. У досліджених груп коропів антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу трансферин представлений п'ятьма алейними варіантами: Tf A, Tf B, Tf C<sub>1</sub>, Tf C<sub>2</sub> і Tf D. Розподіл алейних частот за локусом трансферину подано в табл. 1. У досліджених групах коропів частіше трапляється алейний варіант Tf C<sub>1</sub> (0,200 — у лускатих і 0,300 — у рамчастих). Найменшу частоту трапляння у лускатих коропів мав алей Tf B (0,067).

Зростання частоти трапляння одних алей і зниження частоти трапляння інших, на думку деяких дослідників [13], можливі у разі проведення штучного відбору за будь-якими рибогосподарськими ознаками і залежать від умов утримання риб.

Під час наших досліджень у популяції виявлено підвищену кількість гомозигот CC за локусом TF (87,5%) порівняно з іншими можливими варіантами гомозигот.

Також слід зазначити, що окремі автори трактують підвищену наявність гомозигот TF CC у коропів як фактор, що впливає на їхню зимостійкість [14]. Інші автори пов'язують наявність окремих алейних варіантів локусу трансферину у коропів зі стійкістю до кисневого голодування та деяких захворювань. Але такі асоціації біохімічних маркерів пов'язані з господарсько-цінними ознаками, здебільшого характерними лише

для конкретних господарств [15].

Альбуміни (Al) — це неферментні поліфункціональні білки. Вони беруть участь у неспецифічній адсорбції та перенесенні жирних кислот, аніонів і ліпідів, підтримують онкотичний тиск крові і слугують амінокислотним резервом під час синтезу білкових статевих продуктів на початкових етапах дозрівання. Генетичні варіації за альбуміном виявлені у багатьох видів риб [16].

У досліджених групах лускатих і рамчастих коропів антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу альбумін представлений двома алейними варіантами — Alb A і Alb B. У лускатих коропів частота алей з низькою рухливістю Alb B була невисокою — лише 0,400, у той час як у швидкого алей Alb A вона становила 0,600. У рамчастих коропів частота алей з низькою рухливістю Alb B майже не відрізнялась від частоти алей Alb A (табл. 1).

Естераза (EST) (К.Ф.3.1.1.1) — це фермент метаболізму екзогенних субстратів. Під цією назвою поєднують кілька дуже різних за своїми функціями груп ферментів: арил-, ацетил-, холін- і карбоксилестерази [9]. Естераза плазми крові належить до ферментів, які каталізують реакції гідролізу і синтез складних ефірів. Успадковуються естерази за кододомінантним типом без утворення гібридних молекул. Поліморфізм за локусом сироваткових естераз трапляється досить часто. Естерази у риб високополіморфні. Поліморфізм естерази був одночасно виявлений у плазмі крові і в м'язах. В еритроцитах наявні чотири зони естераз, дві з яких поліморфні.

Також було виявлено алейні варіанти за локусом естерази F (висока рухливість) і S (низька рухливість), які за частотою трапляння в обох групах коропів майже не відрізнялися (табл. 1).

**1. Розподіл частот алейних варіантів за поліморфними локусами у антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу лускатої та рамчатої порід коропа (господарство «Меджибіж»)**

Група риб	TF					ALB		EST	
	A	B	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	D	A	B	F	S
Лускатий короп	0,267	0,067	0,200	0,133	0,333	0,600	0,400	0,567	0,433
Рамчастий короп	0,100	0,350	0,300	0,050	0,200	0,550	0,450	0,650	0,350

Церулоплазмін (CP) (К.Ф.1.10.3.2) — малопротейіновий білок із оксидазною активністю. З рівнем церулоплазміну в плазмі крові пов'язаний обмін міді в організмі. Швидкість синтезу цього білка регулюється вмістом міді в печінці та інтенсивністю її виділення з організму [9, 17]. Найбільш пластичні в екологічному й еволюційному плані види (короп, райдужна форель) є найбільш мінливими в генетичному відношенні, що свідчить про зв'язок екології виду з його генетичною структурою. В наших дослідженнях локус CP у лускатих та рамчастих коропів є мономорфним.

Амілаза (AM) (К.Ф.3.2.1.1) є ферментом плазми крові, який розкладає полісахариди до глюкози. Амілази — це ключові ферменти вуглеводного обміну. Церулоплазмін і амілаза типуються на електрофореграмах разом, в одних і тих самих буферних системах. Амілаза кодується кількома структурними генами. Поліморфізму за локусом амілази в наших дослідженнях не виявлено [9, 17].

Гемоглобін (HB) — основний компонент еритроцитів крові, який постачає кисень від легень до тканин, а вуглекислоту — від тканин у легені [16]. У більшості видів риби, як і в людини, гемоглобіни представлені кількома формами. Поліморфізму за даним локусом не виявлено [17].

Пуриннуклеозидфосфорилаза (PN) — один із найважливіших ферментів метаболізму пуринів, що сприяє утилізації їхніх основ. Нині актуальними є пошук ефективних інгібіторів цього ферменту, створення селективного Т-клітинного імунодефіцитного рівня організму у разі трансплантації органів і тканин, а також у разі хіміотерапії низки патологій [9].

Для успішного практичного застосування пуриннуклеозидфосфорилази необхідне глибоке всебічне вивчення самого ферменту, його структури, механізму реакцій, виконуваних ним функцій. У роботі [9] підсумовано нові

дані щодо структури пуриннуклеозидфосфорилази, проведено аналіз фізіологічної ролі, розглянуто основні механізми реакції та дії цього ферменту, викладено результати робіт із дослідження його фізико-хімічних, кінетичних та каталітичних властивостей.

Порівняльний аналіз генетичної структури українських коропів антонінсько-зозуленецького масиву Хмельницької обл., вирощених в господарстві «Антоніни», за білковими маркерами дав змогу виявити породоспецифічні особливості за частотою алелей досліджених локусів (табл. 2).

За локусом TF виявлено п'ять алельних варіантів: A, B, C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub>, D. Найвищою частотою трапляння характеризується алельний варіант Tf C<sub>1</sub>, в якому відзначалася найбільша кількість генотипів C<sub>1</sub>C<sub>1</sub>, що є притаманним українським породам коропів. Високу частоту в господарстві «Антоніни» мав алель Tf A — 0,411, а істотно меншу — 0,029 — алелі Tf C<sub>2</sub> (табл. 2). Збільшення частоти одних алелів і зниження частоти інших можливе під час проведення штучного відбору за будь-якими рибогосподарськими ознаками і залежить від умов розведення риби.

Алельні варіанти з високою та низькою молекулярною масою у рамчастих коропів антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу за локусом ALB траплялися з частотою від 0,482 до 0,518, а за локусом EST — від 0,446 до 0,554.

Коропи антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу були генетично невривноважені за локусом ALB через наявність статистично достовірною надлишку гетерозигот (P<0,002–0,05 у лускатих коропів і P<0,001–0,005 — у рамчастих). Поширене таке явище, як збалансований поліморфізм, зумовлений перевагами гетерозигот. Гетерозиготи іноді переважають відповідні типи гомозигот за загальною кількістю,

## 2. Розподіл частот алельних варіантів за поліморфними локусами у антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу лускатої та рамчатої порід коропа (господарство «Антоніни»)

Група риби	TF					ALB		EST	
	A	B	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	D	A	B	F	S
Лускатий короп	0,235	0,294	0,235	0,029	0,206	0,529	0,471	0,500	0,500
Рамчастий короп	0,411	0,161	0,250	0,125	0,054	0,518	0,482	0,446	0,554

здатністю до конкуренції або за стійкістю до захворювань. Гетерозиготні особини переважають або за одиничними генами, або за їхніми блоками.

У разі, коли гетерозигота має селективну перевагу в порівнянні з однією або обома гомозиготами, відбір сприяє збереженню в популяції обох алелів.

У зоні альбуміну виявлено два алельні варіанти — зі швидкою та повільною рухливістю. У лускатого коропа обидва алельні варіанти траплялися з частотою від 0,529 до 0,471 і несуттєво відрізнялися між собою. Алельні варіанти F і S локусу EST траплялися з однаковою частотою — 0,500 (табл. 2).

Співвідношення частот алелів TF у популяції риб зазвичай відповідає формулі Харді–Вайнберга, але бувають і відхилення: в окремих вибірках не вистачає гетерозигот, іноді спостерігається їх надлишок.

За білковими маркерами ALB, TF і EST у лускатих коропів антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу спостерігався неврівноважений стан через достовірний надлишок гетерозигот, що може свідчити про процеси генетичної консолідації цих популяцій.

Однією з найважливіших генетичних характеристик популяції, за якою визначають

рівень генетичної консолідації, генетичної варіабельності та ступінь селекційного впливу, є рівень гетерозиготності. Зростання показника гетерозиготності очікується у разі підвищеної пристосованості риб до певного середовища. Зниження гетерозиготності, як і її надмірне збільшення, є несприятливим для нормального функціонування популяції [17].

За всіма білковими маркерами у лускатих коропів антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу високий рівень гетерозиготності спостерігався за локусом TF (0,782). Найменша гетерозиготність відзначалася за локусом ALB (0,497). У рамчастих найвищий рівень гетерозиготності за локусом TF (0,774), а найнижчий — за локусом EST (0,479) [18].

Середня гетерозиготність за всіма дослідженими локусами була вищою від очікуваної (0,591) і у рамчастих коропів вона становила 0,733 (господарство «Меджибіж»).

За дослідженими білковими маркерами антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу лускатої та рамчатої порід коропа високий рівень гетерозиготності спостерігали за локусом TF (0,893), а середній рівень гетерозиготності за всіма локусами становив 0,821 (господарство «Антоніни»).

## Висновки

Таким чином, використання 7 білкових маркерів дало змогу виявити породоспецифічні особливості будови генетичної структури антонінсько-зозуленецького внутрішньопородного типу лускатої та рамчатої порід коропа. Спостерігалася певна генетична диференціація за окремими маркерами та переважання фактичного рівня середньої гетерозиготності за всіма локусами.

Особливості розподілу алельних частот за дослідженими локусами свідчать про значний вплив факторів штучного відбору на формування специфічних характеристик українських коропів. Подальшу селекційну роботу у господарствах бажано проводити в напрямі підвищення рівня гетерозиготності у риб за дослідженими локусами — це має сприяти підвищенню рівня генетичної мінливості.

Mariutsa A.<sup>1</sup>, Borysenko N.<sup>2</sup>, Hankevych B.<sup>3</sup>, Belikova O.<sup>4</sup>

Institute of Fisheries of NAS of Ukraine; 135 Obukhivska Str., Kyiv, 03164, Ukraine; e-mail: <sup>1</sup>mariutsa16@ukr.net, <sup>2</sup>b\_natalia@i.ua, <sup>3</sup>veslonos-a@ukr.net, <sup>4</sup>belikova.e.y@gmail.com; ORCID: <sup>1</sup>0000-0001-5678-2260, <sup>2</sup>0000-0001-5031-5682, <sup>4</sup>0000-0003-1020-7331

**Analysis of the genetic structure of Ukrainian carp breeds using protein markers**

**Goal.** To characterize the features of the genetic structure of scaly and frame carps of the Antoninskyi-Zozulenetskyi intrabreed type according to protein and enzyme systems. **Methods.** Laboratory studies, computer statistical analysis. **Results.** The genetic structure of the Antoninskyi-Zozulenetskyi intrabreed

type of scaly and frame carp was studied by protein markers. Species-specific features of the genetic structure of the studied loci were revealed. The level of available and expected heterosis readiness was calculated. It was established that the increased allelic and genotypic diversity of the genetic structure can be caused by a slightly increased intensity of the selection work. The detected excess of heterozygotes at individual loci indicated the presence of stabilization processes of the genetic structure. **Conclusions.** Breed-specific features of the genetic structure of the Antoninskyi-Zozulenetskyi

inbred type of scaly and frame carp breeds were revealed. A certain genetic differentiation was observed for individual protein markers, as well as a predominance of the actual level of average heterozygosity for all loci over the expected one. It was established that the TF, ALB, and EST loci belonged to polymorphic systems, and the SR, AMI, PN, and HB loci belonged to monomorphic systems.

**Key words:** genetic polymorphism, population structure, scaly carp, frame carp, enzyme systems, genotype, population genetics of fish.

**DOI:** <https://doi.org/10.31073/agrovysnyk202304-07>

## Бібліографія

1. Грициняк І.І., Тарасюк С.І. Актуальні завдання генетичних досліджень у рибному господарстві. Оптимальне використання, збереження і відтворення водних живих ресурсів — нагальні завдання товаровиробників рибопродукції та наукових установ рибної галузі: матеріали наук.-практ. семінару, проведеного 12 червня 2009 р. під час виставки «Fish Expo-2009». Київ: КТУУ «КПІ», 2010. С. 96–108.
2. Тарасюк С.І., Грициняк І.І. Молекулярно-генетичні дослідження в рибистві: монографія. Київ: Аграрна наука, 2013. 312 с.
3. Shaw C.R., Prasad R. Starch gel electrophoresis of enzymes—A compilation of recipes. *Biochem Genet* 4. 1970. P. 297–320. doi: 10.1007/BF00485780
4. Марценюк В.П., Гуцол А.В. Породи та породні групи малолускатих коропів. *Зб. наук. пр. ВНАУ*. 2013. Вип. 3(73). С. 95–102.
5. Грициняк І.І., Нагорнюк Т.А., Тарасюк С.І. Генетична структура порід і породних груп коропів за окремими генетико-біохімічними системами. *Рибогосподарська наука України*. 2008. № 1. С. 29–33.
6. Оборський В.П., Грициняк І.І., Осіпенко М.І. та ін. Роль антонінсько-зозуленецького коропа в селекційно-племінній справі України. *Рибогосподарська наука України*. 2022. № 3. С. 31–52. doi: 10.15407/fsu2022.03.031
7. Тарасюк С.І., Маріуца А.Е., Нагорнюк Т.А. Динаміка генетичної структури лускатих і рамчастих коропів антонінсько-зозуленецького типу. *Вісник аграрної науки*. 2012. № 2. С. 41–46.
8. Davis B.J. Disc electrophoresis. II Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1964. V. 121. P. 404–408.
9. Грициняк І.І., Маріуца А.Е., Борисенко Н.О., Тушницька Н.Й. Застосування молекулярно-генетичних маркерів в рибистві. Міністерство освіти і науки України. Херсонський державний аграрно-економічний університет. «Формування нової парадигми розвитку агропромислового сектору в ХХІ столітті»: колективна монографія. Херсон, 2021. С. 509–537.
10. Swofford D.L., Selander R.B. BIOSYS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Heredity*. 1981. V. 72. P. 281–283.
11. Kumar S. et al. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 2018. V. 35. Iss. 6. P. 1547–1549. doi: 10.1093/molbev/msy096
12. Нагорнюк Т.А., Тарасюк С.І. Особливості поліморфізму генетико-біохімічних систем коропа різного генезу. *Рибогосподарська наука України*. 2010. № 3. С. 32–39.
13. Грициняк І.І., Нагорнюк Т.А., Тарасюк С.І. Генетична структура порід і порідних груп коропів за окремими генетико-біохімічними системами. *Рибогосподарська наука України*. 2008. № 1. С. 29–33.
14. Крась С.І., Тарасюк С.І. Інформативність окремих ізоферментів генетико-біохімічних систем популяції амурського сазана. *Рибогосподарська наука України*. 2011. № 2. С. 99–103.
15. Грицієнко Ю.В., Гиль М.І., Косенко М.С. Поліморфізм генетико-біохімічних систем сучасних українських порід великої рогатої худоби молочного напрямку продуктивності. *Вісник аграрної науки Причорномор'я*. 2019. Вип. 4. С. 94–99. doi: 10.31521/2313-092X/2019-4(104)
16. Ross C. Hardison. Evolution of Hemoglobin and Its Genes Cold Spring Harb Perspect Med. 2012 Dec; 2(12): a011627. doi: 10.1101/cshperspect.a011627
17. Tarasyuk S.I., Byelikova O.Yu., Kolisnyk S.O. Aktualynisty molekulyarno-henetychnykh doslidzheny v akvakulyturi [Actuality of molecular genetic research in aquaculture]. *Problemy ekolohichnoyi biotekhnologiyi — Problems of environmental biotechnology*. 2018. № 1. 12 с.
18. Грициняк І.І., Нагорнюк Т.А., Тарасюк С.І. Генетична структура порід і порідних груп коропів за окремими генетико-біохімічними системами. *Рибогосподарська наука України*. 2008. № 1. С. 29–33.