

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БЛОЦЕРКІВСЬКИЙ
НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ



Тези міжнародної науково-практичної конференції студентів
ЕКОЛОГІЗАЦІЯ ВИРОБНИЦТВА ТА ОХОРОНИ ПРИРОДИ
ЯК ОСНОВА ЗБАЛАНСОВАНОГО РОЗВИТКУ

15 квітня 2020 року

Біла Церква
2020

3. Інтенсивні технології в аквакультурі: навч. посіб. / [Р. В. Кононенко, П. Г. Шевченко, В. М. Кондратюк, І. С. Кононенко]. – К. : «Центр учбової літератури», 2016. – 410 с.

4. Нетрадиційні об'єкти рибництва в аквакультурі України [Текст] : монографія / М. В. Гринжевський, О. М. Третяк, С. І. Алимов та ін. - К. : "Світ", 2001. - 168 с.

5. Онученко О. В. Рибницько-біологічні основи відтворення веслоноса в умовах повносистемних ставових господарств України / Онученко О. В. // Автореферат дис. на здобуття наукового ступеня канд. с.-г. наук, 06.02.03 – рибництво. – Київ, 2003. – 23 с.

6. ПрАТ «Черкасирибгосп»: відставковоїриби до осетрового веслоноса [Електронний ресурс]: –

Режим доступу: <http://kraj.ck.ua/suspilstvo/aktualno/item/17587-prat-cherkasiribgosp-vid-stavkovoyi-ribi-do-osetrovogo-veslonosa#.Xo8eGMgzBIU>

УДК 639.5782.597

ЖАРЧИНСЬКА В.С., студентка 5 курсу

ДЕНИСЕНКО А.Є., студентка 2 курсу

Науковий керівник – **ГРИНЕВИЧ Н.Є.**, доктор вет. наук

Білоцерківський національний аграрний університет

gmatbc@ukr.net

ЗАСТОСУВАННЯ МЕТОДУ ПОЛІМЕРАЗНОЇ ЛАНЦЮГОВОЇ РЕАКЦІЇ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ГЕРПЕСВІРУСНОГО ЗАХВОРЮВАННЯ КОРОПА КОІ

Одним із основних факторів розвитку декоративної аквакультури на території України є контроль інфекційних захворювань. Герпесвірус коропових риб третього типу (CyHV-3) викликає висококонтагіозну емерджентну інфекцію декоративного коропа кої (*Cyprinus carpio koi*). Зважаючи на надзвичайно малі розміри вірусів, діагностика вірусних хвороб є набагато складнішою у порівнянні з мікозними, бактеріальними чи паразитарними хворобами. Розв'язання іхтіопатологічних проблем тісно пов'язане з використанням сучасних підходів та методів, основними з яких є полімеразна ланцюгова реакція.

Ключові слова: короп кої, герпесвірусне захворювання, ПЛР, ДНК, праймер, ампліфікація.

Спалахи герпесвірусної інфекції у коропів відбуваються навесні та восени при температурі води від 18 до 28°C. Загибель коропів починається через 5–6 діб після інфікування. До вірусу більш сприйнятливі мальки коропа (віком 1–3 місяці), ніж риби старших вікових груп. Клінічні ознаки захворювання виявляються вже через 3 доби. Інфіковані коропи втрачають координацію, плавають хаотично, знаходяться біля поверхні води, спостерігається некроз зябер, запалість очей, наявність на шкірі білих плям, що з часом обростають сапролегнією[5].

Використання ДНК-технологій, спрямоване на безпосереднє виявлення генетичного матеріалу збудників хвороб різної етіології, поступово витісняє трудомісткі та низькочутливі методи діагностики [1, 2, 6]. Перевагою методу ПЛР є простота виконання, можливість працювати з невеликою кількістю досліджуваного матеріалу, висока чутливість, специфічність, швидкість [3, 4, 8].

Для вдалої постановки ПЛР необхідний оптимальний підбір режимів ампліфікації за температурними показниками та тривалістю кожного з циклів, визначення складу реакційної суміші та концентрації відповідних реактивів. Ефективність ПЛР залежить від концентрації ДНК-матриці, концентрації Mg^{2+} та температури відпалу праймерів [7].

Метою нашої роботи було надати наукове обґрунтування застосування методу ПЛР для ідентифікації герпесвірусного захворювання коропа кої (*Cyprinus carpio koi*) в клінічному матеріалі.

Полімеразна ланцюгова реакція. Ампліфікацію проводили у термоциклері «ThermalCycler T100™» (Bio-Rad, США). До складу реакційної суміші входили наступні компоненти: H₂O (деіонізована) – 3,65 (29,2), PCR MasterMix 5 мкл (40), олігонуклеотидні праймери: S1 – 0,15 мкл (1,2), S2 – 0,15 мкл (1,2), probe – 0,05 мкл (0,4), DNA – 1 мкл.

Ампліфікація складалась з циклу попередньої денатурації за 94°C (3 хв) та 35 циклів денатурації за 94°C (30 сек), відпалу праймерів за градієнту температур 52 – 65°C (30 сек), синтезу за 72°C (1 хв). Після ПЛР продукти аналізували у 2%-му агарозному гелі в ТАЕ-буфері. Результати електрофорезу спостерігали під ультрафіолетовим транслюмінатором.

Виділення ДНК з гелю здійснювали за допомогою набору GeneMATRIX Agarose-Out DNA Purification Kit відповідно до інструкції виробника.

Отже, на основі ПЛР оцінка біологічних особливостей вірусних ізолятів коропа кої та вивчення геному герпесвірусу з метою вдосконалення наявних і розробки нових ефективних засобів діагностики, що є актуальним та перспективним в аквакультури.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Завьялова Е.А., Кандріна Н.Ю., Ломакіна Н.Ф. (2015). Индикация и идентификация некоторых особо опасных вирусов рыб методом ПЦР. *Рыбоводство и рыбное хозяйство*. № 3. С. 21–25.
2. Залоїло О.В., Рудь Ю.П., Залоїло І.А., Грициняк І.І. (2016). Сучасні методи молекулярної діагностики захворювань риб (огляд). *Рибогосподарська наука України*. № 2. С. 48–64.
3. Зорина В.В. Основы поли мера знойцепной реакции (ПЦР). Москва, 2012. 80 с.
4. Калачнюк М.С., Калачнюк Л.Г., Мельничук Д.О., Мельничук С.Д., Калачнюк Г.І. (2012). Умови проведення полімеразної ланцюгової реакції у лабораторній практиці (методичні аспекти). *Біологія тварин*. Т. 14. № 1–2. С. 660–667.
5. Микулич Е.А. Болезнирыб. Горки, 2010. 92 с.
6. Рудь Ю.П., Бучацький Л.П. (2016). Молекулярне визначення інфекційних захворювань риб. *Тваринництво України*. № 4 – 5. С. 28–31.
7. Стегній Б.Т., Герілович А.П., Лиманська О.Ю. Полімеразна ланцюгова реакція у практиці ветеринарної медицини та біологічних дослідженнях. Херсон, 2010. 227 с.
8. Davies P.L., Gauthier S.Y. (1992). “The application of PCR to aquaculture”. *Transgenic Fish*. Vol. 1. P. 288.