

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І КУЛЬТУРИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
БІОЛОГО-ТЕХНОЛОГІЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра генетики, розведення та селекції тварин

ГЕНЕТИКА РИБ

МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ

до виконання самостійних робіт та індивідуального науково-дослідного завдання для студентів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 207 “Водні біоресурси та аквакультура”

Біла Церква

2022

УДК 639.3.575.

Рекомендовано до друку
методичною комісією БНАУ
(протокол № 3 від 28.11.2022 р.)

Укладачі: Старостенко І.С. канд. с.-г. наук, доцент;
Ставецька Р.В., д-р с.-г. наук, доцент;
Бабенко О.І., канд. с.-г. наук, доцент;
Клопенко Н.І. канд. с.-г. наук, доцент

Генетика риб: методичні вказівки до виконання самостійних робіт та індивідуального науково-дослідного завдання для студентів першого (бакалаврського) рівня вищої освіти спеціальності 207 «Водні біоресурси та аквакультура»/ І.С. Старостенко, Р. В. Ставецька, О.І. Бабенко, Н.І. Клопенко - Біла Церква, 2022. - 24 с.

Рецензенти: Хом'як О.А., доцент кафедри іхтіології та зоології, канд. с.-г. наук

Зміст

Вступ	5
1. Сучасний стан та розвиток рибного господарства в Україні.	6
2. Цитологічні дослідження риб.	7
3. Біологічна і генетична суть мейозу.	9
4. Генетичний код та його властивості.	10
5. Пенетрантність і експресивність генів. Генний баланс і генотипове середовище.	11
6. Мінливість зовнішніх дискретних ознак у риб природних водоймищ.	12
7. Фенодевіанти у риб.	13
8. Позахромосомні мутації.	13
9. Індукований мутагенез.	16
10. Індукований гіногенез.	18
11. Методичні засади виявлення генетичної мінливості.	21
12. Зв'язок поліморфізму генетико-біохімічних систем з ознаками коропа.	23
13. Література	25

ВСТУП

Методичні вказівки до самостійних робіт з дисципліни «Генетика риб» включають розділи, які передбачені робочою програмою курсу. Головною метою самостійних робіт є закріплення, поглиблення та узагальнення отриманих знань та навичок, які студенти отримали на лекціях і практичних заняттях. При виконанні самостійної роботи студенти вивчають рекомендовану навчальну та наукову літературу. Результати засвоєння матеріалів за самостійною роботою спочатку проходять самоперевірку студента за наведеними у даному посібнику контрольними запитаннями, у подальшому вони оцінюються викладачем шляхом проведення контрольних опитувань та написання студентами контрольних робіт.

ОЧІКУВАНІ РЕЗУЛЬТАТИ НАВЧАННЯ

Програмний результат навчання відповідно до Стандарту вищої освіти спеціальності «Водні біоресурси та аквакультура»	Результати навчання з дисципліни
ПРН -5. Знати та розуміти основи рибництва в генетиці аквакультури природних та штучних водойм на відповідному рівні для основних видів професійної діяльності.	РП 1. Знати основні закономірності спадковості і мінливості ознак, теоретичні положення для вирішення практичних завдань у водних біоресурсах та аквакультури. РП 2. Вміти застосовувати етапи розвитку та сучасний стан генетики, еволюційні вчення з використанням новітніх технологій у практиці генетичних досліджень, здійснювати ефективний аналіз щодо експериментальних досліджень та виконання виробничих процесів
ПРН-13. Знати та розуміти елементи генетики.	РН 13. 1 Знати біометричні методи вивчення мінливості і спадковості ознак у популяції. РН. 13.2 Знати генетичні параметри кількісних і якісних ознак у популяції: мінливість, коефіцієнт успадкованості, кореляцію, повторювальність, пластичність, стабільність. РН.13. 3. Вміти здійснювати ефективний аналіз щодо експериментальних досліджень та виконання виробничих процесів.
ПРН-16. Мати передові знання та навички в напрямку генетики риб.	РН 16.1. Знати класифікацію мутацій, причини їх виникнення та можливості їх виявлення і запобігання. РН.16. 2. Генетичні основи селекції.

Самостійна робота 1.

Сучасний стан та розвиток рибного господарства в Україні.

Мета: Ознайомитись із сучасним станом та стратегією розвитку галузі рибного господарства.

Теоретична частина

Рибне господарство – це частина продовольчого сектора України, яка повинна забезпечувати населення продуктами харчування білкового походження (у середньому в рибі міститься 8–27% білків). Окрім харчових властивостей, продукцію рибництва та рибальства використовують і в інших суміжних галузях, зокрема в медицині, косметології, тваринництві тощо. Останніми роками підприємства, що займаються рибництвом і рибальством, змушені припинити свою діяльність через низку негативних факторів, що відбуваються в країні. В Україні розроблено безліч концепцій і стратегій розвитку галузей економіки країни, схвалено концепції та розроблено плани заходів щодо їх реалізації, проте, на жаль, досі не прийнята Стратегія розвитку галузі рибного господарства на період до 2023 року, яка є ключовою в надії на покращення стану рибного господарства та визначає вектори розвитку галузі та діяльності підприємств. Тільки стабільна та налагоджена робота підприємств створює потужність кожної окремої галузі та визначає її вагу в розвитку економіки України.

Реалії, проблеми та перспективи розвитку рибного господарства – це питання, що досліджуються багатьма відомими вченими, зокрема: Алимовим С. І., Гринжевським М. В., Грициняком І. І., Муріною В. О., Стасишеним М. С., Вдовенко Н. М., Квашею С. М., Величко О. В. У працях зазначених науковців розглянуто стан виробництва рибної продукції, ефективність діяльності рибного господарства та перспективи розвитку рибних підприємств. Проте огляд наукової літератури і реальний стан функціонування рибогосподарського комплексу країни свідчить про необхідність подальших досліджень у цій сфері.

Важливим показником економічного розвитку країни є наявність дрібних і потужних підприємств, які створюють основу для економічної стабільності та зростання країни і населення. На жаль, дуже важко виокремити рибогосподарські підприємства з даних, опублікованих Державною службою статистики за 2018 р., адже рибне господарство в статистичних матеріалах об'єднане під загальним розділом «Сільське, лісове та рибне господарство». Кількість суб'єктів господарювання за видами економічної діяльності, що займаються сільським, лісовим і рибним господарством, складають 14,2% підприємств від загального обсягу по країні, та 1,7% фізичних – осіб підприємців, які займаються в даних галузях. Це досить великий відсоток серед інших галузей, однак скільки саме підприємств у рибництві та рибальстві на рівні країни – невідомо. Динаміка зростання, звичайно ж, є. Так, якщо говорити про економічні показники роботи підприємств Рівненської області, то вони зросли майже у два рази – з 11444,3 тис. грн. у 2015 р. до 22598,5 тис. грн. у 2017 р.

Основним показником, який характеризує рибне господарство, є

показник виловленої риби. Аналіз динаміки добування водних ресурсів протягом останніх десяти років свідчать про суттєве зменшення виловів у цілому майже в три рази. Проте, слід враховувати зміни, які відбулися в країні та продовжують відбуватися (Антитерористична операція на сході України, окупація Криму, нестабільність гривні), що суттєво вплинули на рибне господарство. Особливо на рибальство, яке зосереджувалося в Чорному морі та інших акваторіях. Для стимулювання розвитку рибного господарства та налагодженої роботи підприємств з боку держави необхідно врегулювати нормативно-законодавчу базу та питання податкової та кредитної політики щодо рибогосподарських підприємств, які мають свої особливості в господарській діяльності, відмінні від сільськогосподарських підприємств. Україна більш ніж на 70% у частині споживання риби та рибної продукції є імпортозалежною державою та потребує нарощування власного виробництва рибної продукції з метою гарантування продовольчої безпеки держави.

Протягом останніх років спостерігається нарощення обсягів експортованої продукції в грошовому еквіваленті. Що стосується рибництва, то стійкої динаміки немає: звичайно, експорт зріс, але показників обсягів експортованої риби та ракоподібних у грошовому еквіваленті не досягнуто. Падіння експорту в грошовому еквіваленті перш за все пов'язане з меншими обсягами виловленої риби та ракоподібних в Україні. В основному експорт водних біоресурсів здійснювався до таких країн, як Молдова, Данія, Німеччина, Грузія та Білорусь.

Питання для самоперевірки:

1. В яких суміжних галузях, окрім харчової, використовують продукцію рибництва та рибальства?
2. Яких ви можете назвати українських відомими вчених, які досліджують перспективи розвитку рибного господарства?
3. Назвіть основний показник, який характеризує розвиток рибного господарства.

Самостійна робота 2.

Цитологічні дослідження риб.

Мета роботи. Ознайомитись із причинами виникнення порушень хромосомних наборів риб.

Теоретична частина

Цитогенетичний аналіз проводять у клітинах, які одержують з різних органів риб. Для одержання препаратів хромосом широко використовують покривний і зяберний епітелій ембріонів, лімфоїдну тканину в міжхребцевому просторі, клітини сім'яників на першій стадії метафази, а також зародкові клітини на стадії бластули.

Хромосомні набори у риб дуже різноманітні, диплоїдні числа варіюють у межах 12–250 хромосом. Значну роль в еволюції риб відіграла поліплоїдія. Поліплоїди виникали в трьох родинях *Cyprinidae*, *Cobitidae* і

Catostomidae. Короп, звичайний карась і двостатева форма сріблястого карася мають подвоєні набори хромосом ($2n$ - 98-104). Не зважаючи на традиційне уявлення про число хромосом у коропа - 98-104, в літературі зустрічаються дані про диплоїдне число хромосом від 98 до 150.

Подвоєння каріотипу відбулося ймовірно 20-50 млн. років тому. диплоїдні і триплоїдні форми співіснують серед кількох підвидів сріблястого карася в Японії. В еволюції деяких родин коропових спостерігається тенденція до зменшення кількості хромосом у каріотипах. Так, у родині лебіасових (*Lebiosinidae*) число хромосом у деяких видів зменшено до 22–30. Отже, в ряді коропових еволюція каріотипу відбувалася з різною швидкістю і в різних напрямках, і це призвело до великої дивергенції хромосомних наборів. У диплоїдних видів риб можуть виникати особини зі зменшеним вдвічі гаплоїдним каріотипом (n) і навпаки, із збільшеними наборами: триплоїдним ($3n$), тетраплоїдним ($4n$) та іншими, а також зі збільшеним або зменшеним числом окремих хромосом (анеуплоїдія).

Гаплоїди у риб нежиттєздатні. Найчастіше виникають триплоїди. Ймовірно у всіх риб з відносно високою частотою утворюються диплоїдні гамети. Основною причиною їхнього прояву у самок є злиття ядер яйцеклітини і другого направляючого тільця, редукції числа материнських хромосом при цьому не виникає. Злиття такої яйцеклітини з нормальним спермієм (а також проникнення в нормальну яйцеклітину диплоїдного спермія або двох сперміїв одночасно - поліспермія) веде до виникнення триплоїдів. Вони можуть бути життєздатними. Тетраплоїди також з'являються внаслідок злиття диплоїдних гамет.

У риб широко розповсюджений хромосомний поліморфізм - внутрішньо-індивідуальна (мозаїцизм), внутрішньо-популяційна і між-популяційна мінливість за числом хромосом. В основі хромосомного поліморфізму можуть бути три головних механізми: 1) робертсонівські транслокації - злиття акроцентричних хромосом в одну метацентричну або, навпаки, розділення метацентрика на два акроцентричних елементи, 2) нерозходження, яке супроводжується елімінацією дрібних хромосом, а також можливо інверсіями і транслокаціями, 3) зміна плоїдності внаслідок утворення диплоїдних гамет. У літературі зустрічаються дані, що у риб порівняно з ссавцями знижена здатність клітин кілерів знаходити і знищувати клітини з хромосомними порушеннями. Тому існують види, у яких майже 30% клітин мають анеуплоїдний набір хромосом.

Хромосомні маніпуляції (так званий хромосомний інжиниринг) використовують для зміни генома риб і дають змогу розв'язувати ряд завдань практичної селекції. Для декоративної акваріумістики, одержання гапло-триплоїдних мозаїків призводить до появи варіантів з незвичайною пігментацією у риб. Завдяки цим хромосомним маніпуляціям, можна одержувати особин з додатковими наборами хромосом, які наявні у триплоїдів або тетраплоїдів, проводити дуплікацію хромосом у деяких індивідуумів, проводити або гіногенез з материнським успадкуванням, або андрогенез з батьківським успадкуванням.

За індукованого диплоїдного гіногенезу інактивація хромосом самців досягається обробкою сперми високими дозами мутагенів. Для цієї мети використовують УФ-опромінення, біологічно активні сполуки, температурні або

механічні впливи. Опромінений спермій, який проникає в яйцеклітину, перетворюється на чоловічий пронуклеус, але в подальшому хромосоми самця елімінуються (мейотичний гіногенез), при цьому розвиток зародка проходить за рахунок хромосом самки. Використовують також блокування першого мітотичного поділу в ікринках (мітотичний гіногенез). Іонізуюче і УФ-опромінення гамет риб значно підвищує генетичну мінливість, за допомогою чого можна збільшити гетерогенність порід і підвищити ефективність добору. Штучний гіногенез успішно використовується для багатьох видів риб, наприклад, для одержання триплоїдного окуня.

Всі ці маніпуляції супроводжуються виникненням аномалій у нащадків. Наприклад, при опроміненні УФ-світлом спермійів коропа запліднювальна здатність не знижується, однак при підвищенні дози збільшується кількість аберантних анафаз у личинок. Серед нащадків райдужної форелі, одержаних при інактивації сперми, зустрічається 1,1% гаплоїдів, 1,8 триплоїдів і 0,4% тетраплоїдів. Слід мати на увазі, що при індукції в гаметах пошкоджень структури і функції мітотичного апарата, в клітинах спостерігається нестача хромосом на різних стадіях онтогенезу, багато ембріонів виявляються анеуплоїдними.

Ці пошкодження ведуть до зниження плодючості, а іноді і до повної стерильності. Наприклад, за термічної (холодом) обробки заплідненої ікри коропа всі гаплоїдні ембріони гинуть. Серед морфологічно нормальних личинок, більшість триплоїдних особин були стерильними. До того ж у гіногенетичних нащадків спостерігаються знижена живучість, уповільнений темп росту, наявність морфологічних дефектів, порушення розвитку відтворювальної системи.

Питання для самоперевірки:

1. З яких органів риб одержують клітини для проведення цитогенетичного аналізу?
2. Які властивості характерні гаплоїдам риб?
3. З якою метою застосовують хромосомний інжиниринг у риб?

Самостійна робота 3.

Біологічна і генетична суть мейозу.

Мета: Ознайомитись із процесами мейозу та результатами його порушення.

Теоретична частина

Біологічна і генетична суть мейозу полягає у підтриманні сталості числа хромосом всіх поколіннях організмів, що розмножуються статевим шляхом. В результаті мейозу утворюються чотири дочірні клітини, кожна з яких містить половинне число хромосом у порівнянні з батьківською клітиною. Якби не було мейозу, то гамети містили б диплоїдний набір хромосом, а в зиготі наступного покоління це число збільшувалось би в 2 рази. У всіх організмів із статевим розмноженням це запобігається завдяки особливому клітинному

поділу, що відбувається на якій-небудь стадії життєвого циклу, при якому диплоїдне число хромосом (2n) зменшується до гаплоїдного (n).

Генетична мінливість Крім того, завдяки мейозу, під час його послідовних поділів відбувається перекомбінація генетичного потенціалу між утворюваними гаметами, що підвищує різноманітність комбінацій спадкових ознак в наступних поколіннях.

Механізми мейозу, що беруть участь в створенні цієї мінливості, зводяться до наступного:

1. Зменшення числа хромосом від диплоїдного до гаплоїдного супроводжується розбіжністю (розділенням) алелей, так що кожна гамета несе тільки один алель за даним локусом.
2. Розташування бівалентів у екваторіальній пластинці веретена в метафазі I і хромосом в метафазі II визначається випадковим чином. Подальше їх розділення в анафазах I і II відповідно створює нові комбінації алелей у гаметах. Цей процес, званий незалежним поділом, приводить до випадкового поділу материнських і батьківських хромосом між дочірніми ядрами. Він лежить в основі другого закону Менделя.
3. У результаті утворення хізм між гомологічними хромосомами в профазі I часто відбувається кросинговер, який веде до виникнення нових комбінацій алелей у хромосомах статевих клітин. При цьому розпадаються існуючі раніше групи зчеплення і виникають нові.

Генетичний код та його особливості.

Питання для самоперевірки:

1. Дайте визначення мейозу.
2. В чому полягає генетична суть мейозу?
3. В чому полягає суть генетичної мінливості?

Самостійна робота 4.

Генетичний код та його властивості.

Мета: вивчити матеріальні основи спадковості на молекулярному рівні, та визначити властивості генетичного коду.

Теоретична частина

Механізм збирання (утворення) молекули білка відбувається згідно з генетичним кодом (додаток).

Генетичний код – це послідовність нуклеотидів молекули ДНК, яка забезпечує порядок включення амінокислот в молекулу білка.

Генетичний код був розшифрований в 1964 р. вченими Маттей, Крік, Очоа, Ніренберг.

Одиницею генетичного коду є *триплет* або *кодон* – це три нуклеотиди молекули нуклеїнової кислоти, що несуть інформацію про порядок включення однієї амінокислоти в молекулу білка.

Оскільки різних форм нуклеотидів лише 4, а основних амінокислот – 20, то має місце явище триплетності, коли включення однієї амінокислоти кодує

певне розміщення 3-нуклеотидів. Варіантів комбінацій $4^3=64$, тобто є амінокислоти, які кодуються декількома триплетами (max – 6).

Генетичний код характеризується такими особливостями:

1. Універсальність – генетичний код абсолютно однаковий для всіх живих організмів (за виключенням декількох триплетів у мітохондрії).

2. Триплетність – одну АМК кодує 3 нуклеотиди.

3. Виродженість – одна й та сама АМК може кодуватись не одним, а декількома кодуючими триплетами.

4. Безперервність – між окремими нуклеотидами та триплетами не має структур, які б їх відокремлювали один від одного.

5. Колінеарність – послідовність АМК визначає лінійна послідовність нуклеотидів (триплетів), тобто будова гена відповідає будові молекули білка.

Питання для самоперевірки:

1. Дайте визначення генетичному коду.
2. В якому році був розшифрований генетичний код?
3. Визначте властивості генетичного коду.

Самостійна робота 5.

Пенетрантність і експресивність генів. Генний баланс і генотипове середовище.

Мета: Ознайомитись із властивістю генів.

Теоретична частина

Частота і ступінь прояву генів залежить не тільки від умов середовища та різних типів взаємодії, а й від так званих генів-модифікаторів. Вони самі не дають фенотипового ефекту, а послаблюють чи посилюють дію “основних генів”.

Пенетрантність – це частота прояву гена, визначена за числом особин, у яких виявляється ознака, що контролюється певним геном. Вона залежить від умов середовища, в яких розвивається організм і від типу взаємодії генів у генотипі. Існують гени з повною пенетрантністю (гени груп крові) і неповною (гени-модифікатори). Пенетрантність має пристосувальне значення і тому підтримується природним добром.

Експресивність – це ступінь прояву ознаки, який визначається геном і змінюється залежно від генотипу, в який входить ген, та умов середовища. Визначається у відсотках і може коливатись від 100 до 0%.

Генний баланс – це співвідношення і взаємодія всіх генів, що впливають тою чи іншою мірою на розвиток ознаки.

Генотипове середовище або генетичний фон – це сукупність генів, які впливають на прояв у фенотипі конкретного гена або генів. Фенотиповий прояв кожної ознаки – це результат взаємодії різних алельних і неалельних генів (повне і неповне домінування, плейотропія, компліментарність, епістаз, полімерія, гени-модифікатори тощо), оскільки організми існують і розвиваються на основі взаємозв'язаних біохімічних процесів, етапи яких контролюються окремими генами. Отже, генотипове середовище – це весь

генотип, і кожен ген діє по-різному, залежно від того, в якому генотиповому середовищі він знаходиться.

Питання для самоперевірки:

1. Дайте визначення пенетрантності і експресивності генів.
2. Яке значення має пенетрантність генів?
3. Що означає генний баланс?

Самостійна робота 6.

Мінливість зовнішніх дискретних ознак у риб природних водоймищ.

Мета: Ознайомитись із проявами різних мутацій у риб природних водоймищ.

Теоретична частина

У риб в природних водоймищах часто зустрічаються особи, які відрізняються від інших за фенотипом. В багатьох випадках поява таких риб обумовлена спадковими змінами – мутаціями. Такі мутанти стали вихідним матеріалом для закріплення різних ознак у товарному і акваріумному рибистві.

У багатьох видів природних водоймищ були описані кольорові особи (хромісти), риби із дзеркальною лускою, видовженими плавцями. Як правило такі мутанти поступаються диким особинам життєздатністю і елімуються природним добором.

Стійке існування в популяціях форм, які відрізняються за дискретними ознаками, називають поліморфізмом. Підтримка поліморфізму здійснюється різними напрямками відбору, перевагою гетерозигот над гомозиготами та ін.

За даними Зюганова у трьох гілкової колючки спостерігається поліморфізм за числом і розташуванням кісткових пластин. Ця ознака визначається дією двох основних генів. Є 3 форми – *trachurus*, *semiarmatus* і *leiurus*, які також відрізняються за здатністю до досолу. У морській воді існує одна форма, у прісному водоймищі – два інших.

Іншим прикладом поліморфізму у риб може бути різноманітне забарвлення у самців, які мешкають у природних водоймах. У цього виду виявлено велику кількість генів кольору, яка викликає наявність у самців різнокольорових плям, пігментація всього тіла. Поліморфізм самців за кольором підтримується спрямованим відбором.

Статевий відбір сприяє посиленню пігментації, так як самки вибирають в якості партнерів найбільш кольорових самців. Альтернативні (протилежні) дискретні варіації ознак отримали назву – фенів. Ознаки, які виділяються у фени можуть бути різними. У атлантичного лосося кількість плям на зябровій кришці і впродовж бокової лінії, у харіуса – особливості малюнка спинного плавця. За складом фена частоті появи можна визначити генетичну структуру популяції, виявити динаміку її мінливості.

Питання для самоперевірки:

1. Яке явище називають поліморфізмом?

2. Що є причиною виникнення різних фенотипів у риб?
3. Які приклади поліморфізму у риб ви знаєте?

Самостійна робота 7. Фенодевіанти у риб.

Мета: Ознайомитись із причиною виникнення фенодевіантів у риб.

Теоретична частина

В останні десятиріччя у світі, в тому числі і в Україні, відбувається посилення антропогенна модифікація водоймищ. Більшість великих річок зарегульована, багато водоймищ забруднені токсикантами. До деяких озер, водосховищ і морських акваторій надходять підігріті води з теплових та атомних електростанцій. Для окремих видів риб навіть незначні коливання гідрологічного та гідрохімічного режиму є критичними, що призводить до появи різних порушень у будові тіла риб.

Серед риб зустрічаються особини, які мають ті або інші відхилення від норми (виродки). Найбільш часто спостерігаються порушення в будові кісток черепа, редукції зябрової кришки, викривлення хребта. В багатьох випадках виродки є спадково обумовленими, але їх прояв в більшості залежить від умов зовнішнього середовища.

Такі зміни морфологічної будови риб отримали назву фенодевіантів.

Успадкування фенодевіантів не піддається чіткому генетичному аналізу. При вивченні таких ознак мова йде лише про спадкову передумовленість до потворства. Потворні особини часто відрізняються від нормальних риб гіршими темпами росту і зниженою виживаністю.

Часто фенодевіантів у вирощуваних штучних умовах риб значно більше, ніж у природних водоймищах, що пов'язано із зменшеною напругою природного добору.

Отже, частота і характер прояву фенодевіантів у більшій мірі залежить від умов зовнішнього середовища. При вирощуванні одного і того ж потомства в сприятливих і несприятливих умовах відсоток потвор може дуже варіювати.

Частоту фенодевіантів можна розглядати як своєрідний показник загального генетичного стану селекційного матеріалу. Збільшення кількості фенодевіантів може бути наслідком дуже жорсткого одностороннього відбору, інбридингу та ін.

Питання для самоперевірки:

1. Що є причиною виникнення фенодевіантів у риб?
2. Від чого залежить частота і характер прояву фенодевіантів?

Самостійна робота 8. Позахромосомні мутації.

Мета: Поглибити знання у формах прояву мутацій і ознайомитись із цитоплазматичною спадковістю.

Теоретична частина

Переважна кількість генетичної інформації знаходиться у ядрі клітини, у його структурах — хромосомах, а конкретніше — у генах. Проте відомо, що незначна кількість генетичної інформації знаходиться у деяких структурах цитоплазми (мітохондріях, центріолях, пластидах рослинної клітини) у вигляді так званих плазмогенів. Тому поряд з поняттям ядерна спадковість існує поняття цитоплазматична спадковість, яка майже повністю передається (успадковується) за материнською лінією. Як уже зазначалося, вивчено два приклади цитоплазматичної спадковості у рослин:

- пластидна спадковість
- цитоплазматична стерильність.

Прикладом позахромосомних ситуацій є поява поряд з нормальними зеленого кольору листками рьбих або зовсім білих. Це результат мутації плазмогена, що контролює наявність хлорфілу у пластидах рослинних клітин. Явищ цитоплазматичної спадковості у тварин поки що не виявлено, тому і невідомі мутації, пов'язані з цим. Відомо, що клітина розглядається як єдине ціле і формування фенотипу, тобто прояв ядерної спадковості неможливий без цитоплазми. Від неї залежать експресивність і пенетрантність генів. Існують (і треба їх відрізнити) різні за своїм походженням поняття: материнська спадковість — синонім цитоплазматичної спадковості і материнський ефект — вплив материнського організму на розвиток майбутнього потомка.

Соматичні мутації

Мутації, які виникають у соматичних клітинах, називаються соматичними. У тварин вони не успадковуються, а в рослин завдяки вегетативному розмноженню передаються наступним поколінням, тобто успадковуються.

Як у рослин, так і в тварин соматичні мутації можуть викликати різні аномалії і хвороби.

Мозаїцизм — явище присутності у тканинах рослин, тварин або людини клітин з різною спадковою структурою. Мозаїки виникають в результаті перерозподілу (рекомбінації) генів, мутацій або неправильного розходження хромосом під час мітотичного поділу клітин. Якщо мозаїчність стосується статевих хромосом, то особини з такою аномалією називаються інтерсексами, тобто мають проміжний характер ознак або статей.

Якщо порушення нормального мітотичного поділу клітин відбувається на ранньому етапі розвитку зародка, наприклад при гастрюляції, то можуть утворитись дві або три лінії клітин із різною кількістю статевих хромосом. Наприклад, при порушенні поділу нормальних клітин зародка майбутньої жіночої статі з двома (XX) статевими хромосомами можуть утворитись аномальні клітини з однією (X) або нормальні клітини з двома (XX) статевими хромосомами (X/XX). Кожна лінія цих клітин, розмножуючись, створює мозаїцизм і, як результат, інтерсексуальність організму. За цим принципом може відбуватися утворення аномальних клітин з однією (X) статевою хромосомою і нормальних клітин з двома (XY) статевими хромосомами у зародка майбутньої чоловічої статі (X/XY). Крім того, можуть утворюватись мозаїчність клітини типу XXX і XXY .

Ступінь інтерсексуальності майбутніх потомків залежатиме від того, на якій стадії розвитку зародка відбувся аномальний поділ клітин і яке співвідношення цих клітин в організмі.

Різновидністю мозаїцизму є гінандроморфізм – наявність в одного організму групи клітин, тканин або органів з набором хромосом, характерним для різних статей. Розрізняють передньозадній, латеральний і мозаїчний гінандроморфізм. Причиною виникнення гінандроморфів є втрата однієї із статевих хромосом особин гомогаметичної статі, утворення в яйцеклітині двох жіночих пронуклеосів, запліднення їх різними за статтю хромосомами (X і Y) сперматозоїдами і подальший розвиток потомка із двоядерної зиготи. Гінандроморфів треба відрізняти від гермафродитів, у яких, як відомо, відсутній мозаїцизм клітин організму, а всі клітини мають однаковий набір хромосом.

Гермафродитизм — наявність в одного організму чоловічих і жіночих статевих органів. Наприклад, один сім'яник і один яєчник, наявність чоловічих і жіночих недорозвинених зовнішніх статевих органів, присутність у паренхімі сім'яника паренхіми яєчника і, навпаки. Проте причиною гермафродитизму є не химеризм клітин, тому що у таких особин клітини тіла відносно статевих хромосом нормальні. У них є тільки клітини з XX-хромосомами або тільки з XY-хромосомами.

Відомо, що гени чоловічої статі знаходяться в Y-хромосомі, а гени жіночої статі — в X-хромосомі. Однак виявляється, що в невеликій кількості гени чоловічої статі є в X-хромосомі і навіть в аутосомах, водночас гени жіночої статі є в чоловіків. У нормі диференціація статі у людини зумовлюється статевими гормонами ендокринних залоз і зародкової гонади. Рівень гормональної секреції контролюється балансом генів. Переважання генів чоловічої статі (XY) призводить до підвищення секреції чоловічих статевих гормонів — андрогенів і формування чоловічої статі, а переважання генів жіночої статі (XX) — до підвищення секреції жіночих статевих гормонів — естрогенів і формування жіночої статі. Однак трапляються випадки, коли під час ембріонального розвитку у зародковій гонаді з генотипом XX або XY починає посилено діяти відповідна меншість генів чоловічої статі або меншість генів жіночої статі, тобто відбувається зміна активності гормональної секреції. Це і призводить до розвитку гермафродитних форм.

Гермафродитизм буває природний у безхребетних тварин і аномальний (вади розвитку), що зустрічається в людей і тварин. Частота виникнення гермафродитів у домашніх тварин найбільша у свиней і кіз — до 1,5%.

Химеризм — існування організмів, які складаються із спадково різних клітин. Утворюються вони внаслідок обміну стовбурними клітинами крізь анастомози кровоносних судин, плаценту при багатоплідній вагітності (фримартинізм) або при злитті бластоцитів (зиготний химеризм). Химери можна одержати штучно у тварин і людини при пересадженні тканин і при щепленнях у рослин. У телиць, що народились у парі з бичком (різностатеві, різнояйцеві близнюки), спостерігається недорозвиненість статевих органів (недорозвиненість яєчників, їх переродженість у сім'яники й опускання у рудиментарну мошонку, яка розміщується за вим'ям, статеві губи сильно розвернуті, піхва коротка (4-5 см замість 12-15 см у 15-денної нормальної телиці) або зовсім атрофована. Такі телиці називають фримартинками, а явище, характерне

для таких самок,— фримартинізмом. При цьому як у телиць, так і в бичків спостерігається мозаїцизм серед лейкоцитів, клітин кісткового мозку і фібробластів - суміш клітин з набором XX- і XY-хромосом. Це є результатом анастомозів (з'єднань) між кровоносними судинами плацент обох плодів. По суті кровоносна система бичка і телички з'єднана. Проте бички, як правило, народжуються у таких випадках без порушень у статевій сфері.

При більш високому рівні химеризму у бичків спостерігались різко виражені аномалії — крипторхізм та вкорочення пеніса. Утворення химер описано у коней, овець і свиней. Можливі також химери, або мозаїки, з анеуплоїдними геномами у свиней, у великої рогатої худоби і кіз. Доведено, що крім багатьох причин виникнення химеризму, інтерсексуальності, гермафродитизму велике значення має вік тварин. Встановлена позитивна кореляція між віком і втратою хромосом.

Питання для самоперевірки:

1. Що таке цитоплазматична спадковість як вона передається?
2. Яке явище називається гермафродитизмом?
3. Яке явище називається химеризмом, як утворюються такі організми?

Самостійна робота 9.

Індукований мутагенез.

Мета: Ознайомитись із явищем індукованим мутагенезом та природою його виникнення.

Теоретична частина

Під індукованим (штучно викликуваним) мутагенезом розуміють виникнення спадкових змін в результаті впливу на організм особливими агентами-мутагенами. В залежності від природи мутагену розрізняють радіаційний і хімічний мутагенез. Як відомо, частота природних мутацій невелика і складає приблизно 10⁻⁵ (в розрахунку на 1 ген за одне покоління). Індукований мутагенез дозволяє значно підвищити частоту мутацій. Таким чином, за допомогою даного методу вдається забезпечити одне з найбільш важливих умов успішної селекції - підвищення спадкової мінливості селекційного матеріалу.

Відкриття явища індукованого мутагенезу в 20-30-х роках нашого століття пов'язано з іменами великих радянських і зарубіжних вчених: Г.А. Надсона, Г.С. Філіппова, В.В. Сахарова, М.Є. Лобашева, І.А. Раппопорта (СРСР), Г. Меллера, Л. Стадлера (США) і Ш. Ауербах (Англія). Пізніше, як в області теоретичних досягнень, так і практичного застосування даного методу на культурних рослинах і мікроорганізмах, були досягнуті значні успіхи. **Основною метою** застосування індукованого мутагенезу в селекції риб, є збільшення генетичної мінливості за рахунок нових (індукованих) в тому числі і корисних мутацій. Мова йде в першу чергу про мутації генів, що впливають на прояв ознак продуктивності: росту, виживання, стійкості до захворювань та ін.

При цьому не виключається можливість виникнення якихось якісних мутацій, що веде до появи особин з новими, котрі представляють інтерес для селекціонера властивостями.

На рибах вже використовується метод *хімічного індукованого мутагенезу*. Розробка цього методу була почата в СРСР у середині 60-х років з ініціативи В.С. Кирпичникова, а в подальшому успішно продовжена Р.М. Цоєм. Основні відомості, що стосуються закономірностей хімічного мутагенезу у риб, отримані в роботах по селекції казахстанського коропа; об'єктами досліджень були також пелядь, райдужна форель, білий амур, білий товстолобик, буффало. У роботах з рибами в якості мутагенів були використані різні алкілюючі сполуки з високою біологічною активністю (супермутагени); етиленімін (*ЕІ*), нітрузо етил сечовина (*Нем*), диметилсульфат (*ДМС*) та ін. Ці сполуки, вибірково впливаючи на ДНК хромосом, пошкоджують її, що може призвести до виникнення мутацій.

Для отримання індукованих мутацій зазвичай обробляють статеві клітини (ікру, сперму) або ранні зародки риб. Генетичний ефект тим вище, чим доступніше ядро клітини дії мутагену. З цієї точки зору більш ефективна обробка мутагеном зрілих спермій. При обробці спермій знижується також імовірність накопичення мутагену в цитоплазмі статевої клітини і його подальшого впливу на розвивається зародок.

Мутагенний ефект алкілюючих сполук доведений на прикладі генів лускатого покриву у коропа. Так, при обробці сперми коропа *Нем* виявлені мутації алелі $n > N$ і алелі $S > s$; при обробці сперми коропа *ДМС* ці дві мутації виявлені одночасно. Середня частота виникнення домінантною мутації N серед нащадків, отриманих з використанням *Нем* і *ДМС*, склала $1,1 \times 10^{-3}$ (45 мутантних іоВстановлена певна специфічність мутагенів за характером мутацій, що викликаються ними. Так, наприклад, при обробці сперми коропа *Нем* частіше виникають точкові (генні) мутації, а при обробці сперми *ДМС* - хромосомні перебудови. Непрямим підтвердженням мутагенної дії хімічних сполук є збільшення фенотипової мінливості різних ознак.

У різних видів риб чутливість до одного і того ж мутагену може бути різною. При однакових дозах впливу *Нем* на спермін (концентрація мутагену 0,0025-0,02%) виживання ембріонів в мутагенного потомства склала (у% від контролю): 36,5-0,0 (білий товстолобик), 63,8-0, 0 (білий амур) та 111,3-26,1 (короп). Ці дані свідчать про меншу чутливості до мутагенів у поліплоїдних видів (короп), ніж у диплоїдних (білий амур і білий товстолобик).

Багато мутагенів активні в широкому діапазоні концентрацій, але найбільш ефективними є концентрації мутагену, що близькі до напівлетальних. Мутагенні потомства першого покоління характеризуються зниженим виживанням і підвищеним числом потворних особин, що є наслідком індукованих шкідливих, у тому числі летальних домінантних мутацій. Основна загибель особин - носіїв таких мутацій - відбувається в ембріогенезі, починаючи з пізньої бластули; значна частина нащадків гине в період вилуплення. Серед життєздатної частини потомства зустрічаються різноманітні вродки. Наприклад, в мутагенного потомства коропа виявлено 23 типи каліцтв. Різні мутагени індукують різний спектр аномалій. Найбільш частими порушеннями (зустрічаються при використанні практично всіх мутагенів)

виявилися викривлення хребта, каліцтва голови та рота. При високих дозах мутагенів виродки можуть становити в потомстві 20-30%.

Як показали роботи з казахстанським коропом, в мутагенному потомстві першого покоління спостерігається підвищена фенотипова мінливість за багатьма кількісними ознаками, в тому числі і по найважливішому показнику продуктивності - масі тіла. В окремих потомствах коефіцієнт варіації маси тіла зростає в два-три рази в порівнянні з контролем, а серед нащадків з'являлися особини, що перевищують по темпу росту кращих контрольних риб більш ніж у два рази.

Отримання другого і наступних поколінь селекції здійснюють звичайно без застосування мутагенезу. Найважливішим завданням є елімінація індукованих шкідливих мутацій в селекціонуємому матеріалі. У відношенні домінантних мутацій це досягається інтенсивним відбором.

Набагато складніше йде справа з шкідливими рецесивними мутаціями, які при звичайному розведенні залишаються в прихованому стані. Таким чином, використання індукованого гіногенеза дозволяє різко прискорити мутагенну селекцію. У цьому зв'язку індукований гіногенез був включений в програму селекції казахстанського коропа.

Порівняно недавно на рибах були розпочаті дослідження з радіаційного мутагенезу з використанням в якості мутагену ультрафіолету. Застосування індукованого мутагенезу особливо доцільно при сильному виснаженні генетичної мінливості в стадії, в якому проводилася інтенсивна селекція, коли звичайні методи селекції стають неефективними.

Питання для самоперевірки:

1. В якому році відбулося відкриття явища індукованого мутагенезу?
2. Хто є авторами індукованого мутагенезу?
3. Які особливості мутагенних потомства першого покоління?
4. В яких випадках є доцільно застосування індукованого мутагенезу у риб?

Самостійна робота 10.

Індукований гіногенез.

Мета: Вивчити шляхи отримання та визначення областей застосування гіногенетичного потомства у різних видів риб

Під індукованим гіногенезом розуміють отримання гіногенетичних потомств у видів риб, що розмножуються звичайним статевим шляхом.

Принципова можливість вирішення такого завдання була показана ще в 1913 р. німецьким дослідником К. Опперманом в дослідах з райдужною фореллю. Систематичні дослідження з індукованим гіногенезом як методом селекції риб були розпочаті в кінці 50-х і початку 60-х років під керівництвом К.А. Головінської і Д.Д. Ромашова. До теперішнього часу гіногенетичні потомства отримані і досліджені у багатьох видів риб: коропа, білого амура, білого товстолобика, райдужної форелі, декількох видів камбал, тилапія, двох видів індійських коропів і інших риб.

Для отримання геногенетичного потомства у видів, що розмножуються звичайним статевим шляхом, необхідно вирішити два головних завдання. Перше полягає у здійсненні генетичної інактивації спермій, що порівняно просто досягається шляхом обробки сперми високими (інактивує) дозами мутагенів. В якості мутагену при отриманні геногенетичного потомства використовують зазвичай високі дози радіації (радіаційний геногенез).

Опромінення сперми іонізуючою радіацією в дозах близько 100-200 кр. або ультрафіолетом в дозах порядку 300 Дж/м² викликає руйнування хромосом. При цьому завдяки відносно низькій радіочутливості цитоплазматичних компонентів клітини опромінені спермій зберігають здатність активно рухатися у воді, проникати в яйцеклітину і спонукати її до розвитку. Осіменіння ікри генетично інактивованою спермою призводить до утворення гаплоїдних зародків, що розвиваються під контролем одинарного жіночого набору хромосом. Такі нащадки гинуть в період вилуплення.

Для отримання повноцінних (диплоїдних) геногенетичних нащадків необхідно вирішити друге, більш складне завдання: домогтися подвоєння хромосомного набору яйцеклітини, що буде компенсувати відсутні чоловічі хромосоми. Розроблено кілька способів діплоїдизації жіночого хромосомного набору. Найчастіше для цієї мети використовують так звані "температурні шоки" - вплив сублетальних (низькими чи високими) температурами на незапліднену (стадія метафази II) або запліднену (стадія анафази II) ікру.

У результаті такого впливу два материнських хромосомних набори (продукти другого поділу мейозу) залишаються в яйцеклітині і формують диплоїдне ядро геногенетичного зародка. Рідше температурний шок застосовують на стадії першого поділу дроблення. В останньому випадку диплоїдних відновлюється в результаті об'єднання двох гаплоїдних наборів, що утворилися в мітозі. Ефективність температурного шоку підтверджена багаторазово на різних видах риб, в окремих випадках вихід геногенетичних диплоїдних нащадків вдавалося підняти до 62% (в'юн), 56% (короп), 93% (різні види камбал), 25% (форель), 23% (білий амур), що на 2-3 порядки вище частоти спонтанної діплоїдизації жіночих хромосом.

Відновлення диплоїдного по материнському комплексу у другому поділі мейозу призводить до підвищеної гомозиготизації. Імовірність переходу гена в гомозиготний стан залежить від частоти мейотичного перехреста на ділянці хромосоми між геном і центромірою і в зв'язку з цим різна для різних генів.

Як показали дослідження на коропа і форелі, частота гетерозигот в першому поколінні індукованого геногенеза коливається по окремих генах від 0,05 до 0,99 (короп) і від 0,02 до 1 (форель). Імовірність же переходу гена в гомозиготний стан становить за одне покоління індукованого геногенеза в середньому 0,4 (форель) і 0,6 (короп).

У перших поколіннях індукованого геногенеза швидкість гомозиготизації виявляється, таким чином, вище, ніж при тісному інбридингу (схрещування типу брат x сестра). Однак у наступних геногенетичних поколіннях (у райдужної форелі, наприклад, після четвертого покоління) вона гальмується генами (по яких стійко підтримується гетерозиготність) і стає нижче, ніж при схрещуванні сибсів.

Великий інтерес представляє метод диплоїдизації жіночих хромосом на стадії першого поділу дроблення зародка, який дозволяє отримувати повністю гомозиготних нащадків за одне покоління індукованого геногенеза. При жіночої гомогаметості ($\text{♀} \text{♀} \text{XX}$) усі геногенетичні нащадки є самками. Одностатеві-жіночі геногенетичні потомства отримані у коропа, райдужної форелі і білого амура.

Високий ступінь гомозиготизації при індукованому геногенезі негативно впливає на багато ознак. Це питання найбільш повно вивчені на коропі. У геногенетичних коропів спостерігається зниження життєздатності (особливо на першому та другому роках життя), поява каліцтв, підвищена сприйнятливість до захворювань і порушення в розвитку яєчників. Індукований геногенез може знайти застосування в багатьох селекційно-генетичних роботах з рибами. Одна з найбільш важливих областей застосування індукованого геногенеза в практичній селекції - прискорене отримання за допомогою даного методу високо інбредних (високогомозиготних) сімейств (ліній).

Висока швидкість гомозигот при індукованому геногенезу веде до генетичної однорідності індивідуальних геногенетичних потомств. Методом трансплантації тканин, зокрема, показано, що четверте послідовне геногенетичні покоління коропа являє собою фактично ізогенних групу (лінію). Геногенетичні лінії можна використовувати в промислових схрещуваннях. Досвід такого використання індукованого геногенеза мається в угорських селекціонерів, які повідомляють, що промислові гібриди, отримані за участю деяких геногенетичних ліній, на 10% перевершували по продуктивності кращий крос угорського коропа.

Отриманню геногенетичних ліній для промислових схрещувань повинні передувати звичайна селекція і виявлення племінних груп з високою комбінаційною здатністю. Таким чином, використання індукованого геногенеза потрібно розглядати як частину загальної селекційної програми. Застосування індукованого геногенеза дозволяє вирішувати і ряд інших важливих завдань.

За допомогою геногенеза можна виявляти рідкісні рецесивні гени і при звичайній селекції. Індукований геногенез представляє інтерес як спосіб отримання одностатеве-жіноче потомство, вирощування яких у багатьох випадках більш вигідно, ніж звичайних двостатевих. Дослідження геногенетичних потомств дає селекціонерів важливі відомості про особливості прояву інбредних депресії у різних видів риб при різного ступеня інбридингу.

Генетично однорідні лінії можуть служити зручним матеріалом для вивчення впливу модифікаційних чинників на мінливість ознаки. У спеціальних генетичних роботах за допомогою індукованого геногенеза можна визначити локалізацію генів у хромосомі.

В області практичного використання даного методу найбільші успіхи досягнуті на коропі. Розроблено технологію одержання геногенетичного потомства коропа в промислових масштабах, за допомогою якої отримано десятки тисяч диплоїдних геногенетичних коропів. Як згадувалося вище, даний метод застосовується в селекції казахстанського коропа, його використання передбачене програмою селекції середньоросійського коропа. Найбільш просунуто використання геногенеза в селекції угорського коропа; тут від різних селекційних груп коропа отримані геногенетичні лінії (включаючи четверте

послідовне покоління індукованого гіногенеза) і проведено промислові схрещування з їх участю.

Розпочато використання індукованого гіногенеза в селекції пеляді. У роботах з фореллю і іншими видами риб індукований гіногенез успішно застосовується для регуляції статі та отримання одностатевого-жіночого потомства.

Питання для самоперевірки:

1. Які умови отримання гіногенетичного потомства у риб?
2. Що називається мутагенами?
3. Що таке індукований гіногенез?
4. Назвіть та охарактеризуйте головні завдання отримання гіногенетичного потомства.

Самостійна робота 11.

Методичні засади виявлення генетичної мінливості.

Мета: Вивчити методи виявлення генетичної мінливості.

Теоретична частина

Генетичну мінливість певної групи організмів визначають за наявністю поліморфізму генетико-біохімічних систем різних біологічних тканин. Відібрані зразки зберігають у поліетиленових ампулах або пробірках в замороженому стані без консервантів при низьких температурах. Зразки можуть заморожуватися і відтавати декілька разів без особливого пошкодження. Але низка ферментів, такі як лактатдегідрогеназа, лейцинамінопептидаза, діафораза довготривало не зберігаються їх треба аналізувати відразу після отримання матеріалу. Більшість ферментів зберігає активність приблизно протягом декількох місяців. Білки, такі як гемоглобін, трансферин, альбумін можуть зберігатися роками. Якщо відібрана тканина крові, то її перед зберіганням фракціонують.

Різні тканини риб, окрім фракцій крові, перед розподіленням гомогенізують з рівним об'ємом охолодженого дистилату і центрифугують до отримання прозорого супернатанту.

Розподілення білкових молекул ґрунтується на здатності суміші молекул під впливом електричного поля розподілятися на низку фракцій, в залежності від заряду, молекулярної ваги чи розміру білків. Вперше це показав і 30-х роках ХХ ст. А.Тизеліус у роботах по розділенню на фракції глобулінів сироватки крові. Поміж аналітичних і препаративних методів досліджень сучасної біохімії електрофорез займає чільне місце. Електрофоретичні методи аналізу білків унікальні за чутливістю і специфічністю, мають велику розподільну здатність. За аналітичного електрофорезу здійснюють якісну і кількісну ідентифікацію компонентів суміші.

Принцип електрофорезу побудовано на здатності біологічних молекул мати у розчині певний заряд (+) у катіонів (-) у аніонів, окрім того за однакового заряду молекули можуть різнитись за молекулярною вагою і відношенням заряду до маси. Для білкової молекули головним постачальником

заряду є амінокислоти, що мають лужні останки, або, навпаки, здатні віддавати протон. Тобто, електрофоретична рухливість молекул зразку залежить від заряду (значення заряду від рН, тому, що амінокислоти мають як лужні, так і кислотні властивості); від розміру молекул (більші за розміром мають меншу рухливість – підвищується тертя і взаємодія з носієм) та їхньої форми; від типу і розміру носія (ефект молекулярного решета – великі молекули у носії рухаються повільніше, за менших розмірів шпаринок, які визначаються кількістю поперекових зшивок) та іонною силою буферу.

Збільшення іонної сили буферу призводить до збільшення сумарного струму, і, відповідно, кількості продукованої теплоти. За використання буферних систем з низькою іонною силою загальна сила струму і виділення теплоти зменшуються, але збільшується дифузія (розмив зразку). Тому використовують проміжні концентрації в межах 0,01 до 0,3М.

Важливо враховувати і рН буферу, бо в залежності від рН змінюється значення заряду і напрямок руху сполук. Також розчини характеризує буферна ємність, більша або менша здатність нейтралізувати продукти електролізу, які утворюються за перебігу електрофорезу.

Розподілення білків та ферментів здійснюють у пористих носіях – агаровому, крохмально-агаровому, крохмальному або поліакриламідному гелях.

Зафарбування – головний метод для цитологічного, гістологічного і електрофоретичного аналізу. Білки мають у своїй будові біля 20 амінокислот, частина з яких несе функціональні групи, теоретично здатні нуклеофільно приєднувати або заміщати інші речовини. Умови пофарбування і використаний барвник визначають частку груп, які прореагували з барвником. Для пофарбування фореграм на загальний білок використовують такі барвники як амідо-чорний, бром феноловий синій, кумасі, проціоновий яскраво-блакитний RS, жовтий 4RS. За взаємодії барвника з макромолекулами бажано утворення стійких комплексів і обов'язково зафарбовані зони мають бути нерозчинними.

Для виявлення ферментів в складній суміші білків після електрофорезу використовують реакції, які каталізують ці ферменти. Специфічні реакції, за перебігу яких утворюються зафарбовані продукти в зонах відповідних ферментів. Частіше використовують метод пофарбування з участю водорозчинних солей тетразолію (в окисній формі вони безбарвні), які під впливом відновних сполук перетворюються у нерозчинний, сильно зафарбований формазан.

Швидкий розвиток техніки зафарбування ферментів, враховуючи перебіг складних – доповнення трьох та більше допоміжних ферментативних реакцій до головної, зробило доступним електрофоретичний аналіз усіх класів ферментів. Заправило, інкубацію гелю у відповідному розчині проводять за температури 37 °С і у темряві.

Питання для самоперевірки:

1. Які методи досліджень сучасної біохімії, щодо виявлення поліморфізму генетико-біохімічних систем ви знаєте?
2. В чому полягає принцип електрофорезу?
3. Який метод є головним для цитологічного, гістологічного і електрофоретичного аналізу?

Самостійна робота 12.

Зв'язок поліморфізму генетико-біохімічних систем з ознаками коропа.

Мета: Ознайомитись із поліморфними генетико-біохімічними системами і ознаками, на які вони мають вплив у коропа.

Теоретична частина

Фенотип біологічного об'єкта формується на основі його генотипу. Формування і прояв господарсько-цінних ознак у сільськогосподарських тварин залежить від роботи комплексу генів, тобто маса тіла, швидкість приросту живої маси, ріст і швидкість росту, кількісне співвідношення фракцій у молоці, білковий склад м'язової тканини та інші ознаки називають полігенними. Але у геномі виділяють деякі гени, які мають ключовий вплив на формування певної ознаки. Такі гени називають маркерними. Головна прикладна задача науки знайти у вида ці гени і ті ознаки на які вони впливають. Гени, які у популяції особин продукують ізозоми, є поліморфними. Саме на такі поліморфні гени, продукти яких відіграють ключову роль у біохімічних ланцюгах метаболізму клітини, спрямована пошукова робота генетиків.

У рибництві одним з найпоширеніших промислових видів є короц, тому пошук поліморфних генетико-біохімічних систем і ознак, на які вони мають вплив, доволі актуальний. Трансферин (ТФ) – поліморфний білок плазми крові, що переносить іони заліза. Виявлено чотири кодомінантні алелі.

Проводили досліди з встановленню зв'язків між типами трансферину і низкою ознак: масою риби, довжиною тіла, вгодованістю, високоспинністю, відносними розмірами голови (відношення довжини голови до довжини тіла, у %), рівнем білку в сироватці крові. Рівень білку був індиферентною ознакою до типів ТФ. Ні одна з обраних ознак не мала кореляції з гомо- чи гетерозиготними типами ТФ. Тільки різниця по масі риби та типи ТФ були дещо проявлені, але недостовірно. Припускається, що трансферин опосередковано впливає на масу риби.

Досліджували зв'язок між ростом риби і типами трансферину і естерази (EST) сироватки крові. Відмічено, що міх коропами з різними типами ТФ гомозиготи AA, BB мають меншу швидкість росту ніж гетерозиготи AB, AC та BC. Гетерозиготи AB мають більшу швидкість росту риби на першому і другому роках життя. За локусом естерази риби з фенотипом FS мали перевагу над гомозиготами SS, але для різних популяцій ці дані специфічні і можуть бути протилежними – гомозиготи переважають гетерозигот. Тому у кожному стаді треба виявляти зв'язок цієї ознаки з генотипом для проведення селекційної роботи.

Досліджували зв'язок поліморфізму ТФ і EST зі стійкістю риби до краснухи. Статистично достовірної різниці виживаності коропа з різними типами EST і ТФ не виявлено, але відмічено, що особини, гомозиготні по алелю F естерази мали дещо кращу виживаність 64,3% до загальної 52,6%. За локусом ТФ більш проявлена виживаність гетерозигот AB.

Також досліджували зв'язок типів ТФ і таким біотичним фактором, як недостатність кисню у воді. У ході досліду спостерігали підвищення частоти

алелю TfA і зменшення частоти алелю TfD. Частоти інших алелів не змінювались. Достовірну різницю виявлено між генотипами. Коропи з генотипами AA і AC відрізнялись не вибагливістю до вмісту кисню у воді. Найбільш оксифільними виявились риби з генотипами AD, C₂C₂, BC₁, C₂D. У досліді з впливом недостатності кисню на личинку проявлена та ж тенденція – відносно частоти алелів: зменшення TfD і збільшення TfA.

Досліджена мала кількість ознак і їхній зв'язок з поліморфними генами. Така робота вимагає специфіки постановки досліді і підбору генотипів батьківських пар.

Питання для самоперевірки:

1. Які гени називають маркерними?
2. Чи існує зв'язок між трансферином і масою коропа?
3. Які генотипи коропа є найбільш оксифільними?

Література

1. Войтенко С. Л. Генетика/С. Л. Войтенко, К. В. Копилов, К. В. Копилова.- Редакційно – видавничий відділ ПДАА, 2014.- 227с.
2. Глазко В. И. Введение в генетику/ В.И.Глазко, Г.В. Глазко.- К.: КВИЦ, 2003.- 640с.
3. Коновалов В.С. Генетика сільськогосподарських тварин/ В.С.Коновалов.- Х.: Еспада, 1996.- 432с.
4. О.В. Найдіч, М.А. Залогіна-Киркелан Генетика риб з основами біометрії. Конспект лекцій – Одеса: Екологія, 2012. – 158 с.
5. Тоцький В. М. Генетика: Підручник / 3-тє вид., випр.. та доп. – Одеса: Астропринт. 2008. – 712 с.
6. Базалій В. В., Шерман І. М., Пилипенко Ю. В. Основи рибогосподарської генетики: Навч. посібник. – Херсон: Олди-плюс, 2007. – 279 с.
7. Кирпичников В. С. Генетика и селекция рыб. – М.: «Знание», 1974. – 64 с.
8. Катасонов В. Я. Гомельский Б. И. Селекция рыб с основами генетики. – М.: Агропромиздат, 1991. – 206 с.
9. Миськовець, Н. П. Аналіз сучасного стану та перспективи розвитку рибного господарства України [Електронний ресурс] / Н. П. Миськовець // Бізнес Інформ. – 2020. – № 3. – С. 104–111. – Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/binf_2020_3_15 (дата звернення: 13.04.2021). – Назва з екрана ./ Фрагмент статті /.
10. Хмельничий Л.М. Основи генетики та селекції сільськогосподарських тварин [навчальний посібник] / Л.М.Хмельничий, І.О.Супрун.- К.:Аграрна освіта, 2011. – 497 с.
11. Хмельничий Л.М. Основи генетики тварин з біометрією [навчальний посібник] / Л.М.Хмельничий, І.О.Супрун, А.М.Салогуб.- Суми: Видавництво: ПП Вінниченко М.Д., ФОП Дьоменко В.В., 2011. – 344 с.
6. Клаг У. Основы генетики / У. Клаг, М. Каммингс. – М. : Техносфера, 2007. – С 47 – 72.