

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ РИБНОГО ГОСПОДАРСТВА



МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ
щодо використання молекулярно-генетичних та
цитогенетичних маркерів для оцінки генетичної
структури племінних стад цінних видів риб

Рецензенти:

Олена СИДОРЕНКО — зав. лаб. збереження і відтворення генетичних ресурсів тварин Інституту розведення та генетики тварин ім. М.В. Зубця НААН, кандидат с.-г. наук, с.н.с.

Ганна КУРІНЕНКО — зав. лаб. селекції риб Інституту рибного господарства НААН, кандидат с.-г. наук, ст. досл.

Методичні рекомендації щодо використання молекулярно-генетичних та цитогенетичних маркерів для оцінки генетичної структури племінних стад цінних видів риб / авт.-упор. Маріуца А. Е., Нагорнюк Т. А., Борисенко Н. О., Белікова О. Ю., Глушко Ю. М. Київ : Інститут рибного господарства НААН, 2025. 32 с.

Методичні рекомендації містять перевірену у виробничих умовах методику генетичної оцінки популяцій райдужної форелі, веслоноса та стерляді за використання білкових маркерів, ДНК-маркерів та цитогенетичного аналізу.

Представлено основні ДНК-(ISSR-)маркери, білкові системи, які використовуються для аналізу генетичної структури цінних видів риб. Наведені приклади цитогенетичного дослідження, за результатами якого встановлено, що для об'єктивної оцінки гетерогенності веслоноса необхідно враховувати порушення в клітинах як еритроцитарного, так і лейкоцитарного рядів.

Методичні рекомендації розраховані на науковців, викладачів навчально-освітніх інституцій, суб'єктів рибогосподарської діяльності різних форм власності.

Рекомендації розглянуті координаційно-методичною радою Інституту рибного господарства НААН (протокол № 3 від 13 листопада 2025 року).

Затверджено вченою радою Інституту рибного господарства НААН (протокол № 13 від 14 листопада 2025 року).

ЗМІСТ

ВСТУП.....	2
РОЗДІЛ 1. ХАРАКТЕРИСТИКА ЦІННИХ ВИДІВ РИБ.....	7
1.1. Райдужна форель.....	7
1.2. Веслоніс	8
1.3. Стерлядь.....	8
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	10
2.1. Відбір зразків крові та їх зберігання.....	10
2.2. Методика виявлення білкових маркерів.....	10
2.3. Методика проведення ISSR-аналізу.....	11
2.4. Методика цитогенетичних досліджень у рибництві	13
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	16
3.1. Генетичний поліморфізм у райдужної форелі за ISSR-маркерами	16
3.2. Аналіз рівня цитогенетичних показників у веслоноса.....	20
3.3. Гетерогенність стерляді за білковими маркерами.....	22
ВИСНОВКИ.....	26
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	28

ВСТУП

Генетична мінливість є ключовою рушійною силою мікроеволюційних змін. Це різноманіття на генетичному рівні виникає завдяки поєднанню факторів, серед яких важливу роль відіграє зміна активності генів під впливом навколишніх абіотичних умов, комбінаційна мінливість, що з'являється внаслідок статевого розмноження, перекомбінація генетичного матеріалу та випадкові коливання частот алелів у малих популяціях, відомі як генетичний дрейф [1–4].

Аналіз мінливості популяційної структури є важливим інструментом для філогенетичних досліджень і розмежування популяцій, а також для визначення поточного стану генетичної структури тварин [5]. Регулярний моніторинг генетичної структури стад допомагає запобігти зниженню генетичного різноманіття, яке може виникнути внаслідок тривалої селекції, зменшення гетерозиготності через інбридинг або ізоляцію, що зрештою призводить до зниження адаптивності популяцій [6]. В ідеалі, програма генетичного моніторингу повинна охоплювати різноманітні характеристики, які прямо чи опосередковано відображають мінливість значної частини геному. Для більшості практичних завдань необхідна інформація, отримана шляхом аналізу великої кількості генетичних локусів у поєднанні з ретельно відібраним набором морфологічних ознак [7, 8].

Риби демонструють високий рівень мінливості, що частково пояснюється їхньою тіснішою залежністю від навколишнього середовища через пойкилотермність. Фенотипові варіації є результатом адаптивних реакцій на умови існування в поєднанні з генетично зумовленими змінами, що відбуваються протягом поколінь [9].

Однією з ключових проблем залишається визначення зв'язків та кореляцій між мінливістю генетичного поліморфізму та морфологічними ознаками. Тому вивчення ступеня і характеру мінливості, наприклад, райдужної форелі, та розуміння процесів, що зумовлюють значні внутрішньопопуляційні варіації, вимагають, поряд із традиційними їх-

тіологічними методами визначення морфологічної мінливості, застосування сучасних методів молекулярної біології для аналізу генетичного поліморфізму [10]. Морфологічні варіації, що проявляються у фенотипових відмінностях всередині та між популяціями, є відповіддю на екологічні та генетичні чинники або наслідком поведінкових і фізіологічних відмінностей. Морфологічна мінливість у багатьох випадках пов'язана з процесами формування і останніми роками використовується для встановлення таксономічних та запасних зв'язків у морських і прісноводних риб [11, 12].

У своїй роботі Д. Пульчіні та співавтори [13] зазначають, що адаптаційні процеси у лососевих демонструють різноманітні кореляції між змінами морфологічних ознак і видом, особливостями їхнього життєвого циклу та стадіями розвитку. Дослідження в цій галузі часто є неоднозначними, оскільки в одних випадках морфологічні варіації пояснюються генетичною структурою популяцій, тоді як в інших спостерігається чітка залежність від екологічних чинників при порівнянні диких популяцій та риб, вирощених в аквакультурі. Для глибшого розуміння першопричин таких змін необхідний комплексний підхід, що поєднує вивчення морфологічної мінливості в контексті адаптивних пластичних реакцій на гетерогенність середовища існування та аналіз генетичного поліморфізму [14]. Сучасні дослідження також підкреслюють важливість інтеграції генетичних та екологічних даних для розуміння адаптації лососевих до мінливих умов.

Молекулярно-генетичні маркери дозволяють одержувати інформацію щодо поліморфізму генів і досліджувати, які варіанти окремих генів і генних комплексів несуть бажаний комплекс ознак організму у конкретних умовах середовища. На основі такої інформації можна спрямовано формувати генофонди з необхідними генними поєднаннями.

Першими молекулярними маркерами були маркери на основі білкового поліморфізму, алозими — спадкові форми ферментних білків,

поліморфізм яких виявляється за допомогою електрофоретичного розділення [15]. Незважаючи на розвиток методів аналізу ДНК, ізоферменти є корисними генетичними маркерами, оскільки з їхньою допомогою можна отримати повну генетичну інформацію за короткий час і за порівняно невеликих витрат матеріальних ресурсів.

Вивчення рибогосподарських об'єктів потребує отримання оцінок популяційно-генетичних параметрів за використання молекулярно-генетичних маркерів. Використання поліморфізму біохімічних маркерів дає змогу контролювати біохімічні процеси загального метаболізму. Зміна поліморфізму білкових маркерів під впливом факторів добору свідчить водночас і про зміну генетичної детермінації контролю конкретного біохімічного шляху. Білкові маркери дають принципово нові можливості для ідентифікації генотипів за багатьма генами і вивчення динамічних змін частот алелів у процесі селекції та дозволяють контролювати племінну роботу.

Практично доведено, що електрофоретичні варіанти поліморфних білків крові риб є зручними генетичними маркерами і виявляються корисними в селекційно-племінному рибництві [16]. Білки є маркерами конкретних структурних генів. Алельні варіанти білків успадковуються кодомінантно, їхній склад не залежить від умов життя організму і порівняно легко визначається за допомогою електрофорезу. Тому білкові маркери дають можливість ідентифікації генотипів за багатьма генами і вивчення змін частот алелів в процесі селекції та дозволяють контролювати племінну роботу. Різноманітні білки та ферменти у риб відрізняються різним рівнем мінливості. До числа наймінливіших належать трансферин і альбумін сироватки крові та різноманітні естерази. Авторами сучасних методик рекомендовано багато методів та методик для проведення генетичних експертиз різних об'єктів рибництва. Доцільно визначити найефективніші серед них і адаптувати для користування в племінному рибництві.

Виявлення закономірностей у формуванні генетичної структури популяцій є одним із основних підходів до визначення генетичного і,

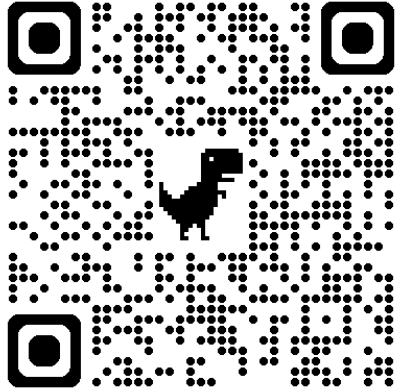
як наслідок, селекційного потенціалу порід і видів риб. Маючи уявлення про рівень мінливості вихідного матеріалу і знаючи наслідки, до яких призводять ті чи інші селекційні дії на генетичну структуру популяції, можна отримати деякі елементи прогнозу кінцевих результатів селекції.

Використанню молекулярно-біологічних методів аналізу генетичного поліморфізму для збереження рідкісних та зникаючих видів останнім часом приділяється все більше уваги. Зокрема, робота з промисловими стадами спрямована на підвищення їх продуктивності, що може бути реалізовано за рахунок збільшення запасів мінливості популяцій, необхідної для їхнього розвитку, і отримання генетичних ефектів при кросі ліній. Досягти збільшення дивергенції селекційних ліній риб можливо із використанням методу різноспрямованого добору особин із прижиттєвою оцінкою їхніх генотипів за конкретними молекулярно-генетичними маркерами для формування різного алельного фонду в одних і тих самих локусах [17].

Цитогенетичний контроль стану хромосомного набору риб, зокрема за його цілісністю та наявністю структурних і кількісних аномалій, є ключовим елементом генетичної оцінки племінних ресурсів сільськогосподарських тварин. Саме тому впровадження цитогенетичних тестів для визначення впливу зовнішніх факторів на геном риб є надзвичайно актуальним. Накопичення мутацій є одним із механізмів зростання генетичної мінливості. У зв'язку з цим, для діагностики та прогнозування виникає потреба в дослідженнях, спрямованих на виявлення геномної та хромосомної нестабільності різного походження, де досліджуються хромосомні зміни у риб, що швидко еволюціонують. Сучасні дослідження також наголошують на важливості цитогенетичного моніторингу для оцінки впливу забруднення на геном риб [18].

В основу методичних рекомендацій покладено результати науково-дослідної роботи лабораторії молекулярно-генетичних досліджень Ін-

ституту рибного господарства НААН за завданням 31.02.03.06 Ф: «Дослідити популяційно-генетичну мінливість цінних об'єктів риборозведення у процесі доместикації».



Репозиторій Інституту рибного
господарства НААН:
<https://repo.if.org.ua/index.php>

Методичні рекомендації щодо використання молекулярно-генетичних та цитогенетичних маркерів для оцінки генетичної структури племінних стад цінних видів риб

Відповідальний редактор: Симон М. Ю.
Верстка: Архангельський Є. Ю.
Літературний редактор: Швець Т. М.
Коректор: Люткевич І. С.

Інститут рибного господарства НААН,
вул. Обухівська, 135, м. Київ-164, 03164
Електронна адреса: info.iforgua@gmail.com;
тел.: +38 (044) 227-01-86.

Підписано до друку 18.12.2025 р., протокол вченої ради № 14.
Формат 60×84/16. Папір офс. Замовл. №16. Друк офсетний.
Наклад 100 прим. Друкарня ТОВ «ПРО ФОРМАТ», 02166, м. Київ,
вул. Кубанської України, 45 Б, оф.16, тел.: +38(044) 353-85-58