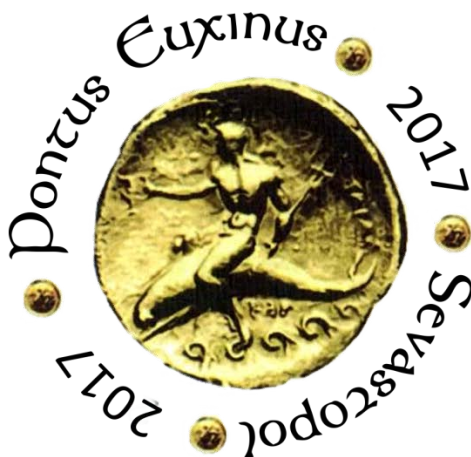


Федеральное государственное бюджетное учреждение
науки «Институт морских биологических исследований
имени А.О. Ковалевского РАН»

PONTUS EUXINUS
ПОНТ ЭВКСИНСКИЙ : X



Тезисы X Всероссийской
научно-практической конференции
молодых ученых

«*Pontus Euxinus 2017*»

по проблемам водных экосистем,
в рамках проведения Года экологии
в Российской Федерации

Севастополь
2017

Козлова Н.В., Макарова Е.Г., Базелюк Н.Н.

ФГБНУ «Каспийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства», ул. Савушкина, 1, г. Астрахань, 414056
kaspnirh@mail.ru

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ШИПА (*ACIPENSER NUDIVENTRIS*) В УСЛОВИЯХ АКВАКУЛЬТУРЫ

Важной задачей развития рыбного хозяйства Астраханской области является сохранение генетического разнообразия редких и исчезающих видов осетровых рыб и формирование представления о его изменениях. Шип (*Acipenser nudiventris*) – проходной вид семейства осетровые, важный объект аквакультуры.

Цель данной работы – провести генетические исследования выращиваемой молоди шипа для формирования ремонтно-маточного стада (РМС) в условиях аквакультуры.

Материалом для исследований служили пробы фрагментов плавников особей молоди шипа массой 350-400 г (25 экз.), выращенных в искусственных условиях.

Выделение тотальной ДНК из фрагментов плавников осуществляли методом солевой экстракции (Aljanabi, Martinez, 1997). Препараты ДНК использовали для видовой идентификации митотипов («NUD») митохондриальной ДНК (мтДНК) и микросателлитного анализа (STR). Условия проведения ПЦР были оптимизированы для исследуемого вида *A. nudiventris* (Zane et al., 2002; Мюге и др., 2008; Барминцева, Мюге, 2013).

Для определения и подтверждения видовой принадлежности особей по участку D-loop мтДНК использовали праймеры:

AHR (TATACACCATTATCTCTATGT),

NUDF (TGTCTTTTCTGAAGGAGCTTTGC) (Мюге и др., 2008).

Для фиксации и обработки результатов применялась система гель-документирования ChemiDoc XRS+ с программным обеспечением «Image Lab». Исследование контрольного региона мтДНК у осетровых рыб имеет важное значение для молекулярно-генетической идентификации видовой принадлежности, так как в этой некодирующей области (D-loop) часто встречаются вставки, делеции и замещения по нескольким нуклеотидам. Проведенный анализ участка D-loop мтДНК выявил ампликоны размером 329 п.н. («NUD»), присутствующие в спектрах электрофореза в агарозном геле, что соответствует виду шип (*A. nudiventris*) по материнской линии (Мюге и др., 2008).

Микросателлитный анализ проводили по пяти локусам ядерной ДНК:

Afug41 (F: TGACGCACAGTAGTATTATTTATG;

R: TGATGTTTGCTGAGGCTTTTC),

An20 (F: AATAACAATCATTACATGAGGCT;

R: TGGTCAGTTGTTTTTTTATTGAT),

fug51 (F: ATAATAATGAGCGTGCTTTCTGTT;

R: ATTCCGCTTGCGACTTATTTA),

AoxD165 (F: TTTGACAGCTCCTAAGTGATACC;

R: AAAGCCCTACAACAAATGTCAC),

AoxD161-1 (F: CATTCAAGTATGAGACAGACACTC;

R: ATCTCAGGGACTGCTGTGATTGG)

методом капиллярного электрофореза в генетическом анализаторе Genetic Analyzer (ABI PRISM 3500) с помощью программного обеспечения GeneMapper 4.1.

Статистический анализ (количество абсолютных, эффективных аллелей, частоты аллелей, наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность, индекс фиксации Райта) был проведен с помощью надстройки GenAIEx6 к программному обеспечению MS Excel2010 (Peakal, Smouse, 2006).

По результатам микросателлитного анализа пяти локусов ядерной ДНК у молоди шипа выявлено 17 аллелей.

Наиболее полиморфными оказались локусы AoxD165 и AoxD161-1 с доминированием аллелей размером 178 п.н. и 324 п.н. соответственно. Другие локусы (Afug41, An20 и Afug51), в которых было зарегистрировано по 3 аллеля с доминантными размерами 237, 153 и 264 п.н. соответственно, были менее полиморфными.

Эффективное число аллелей – показатель, характеризующий локусы по частоте их встречаемости, был ниже, чем абсолютное число. Эффективное число аллелей оценивает величину, обратную гомозиготности, и представляет собой такое число аллелей, при одинаковой частоте которых в популяции ожидаемая гетерозиготность будет равна фактической (табл. 1).

Наблюдаемая и ожидаемая гетерозиготность рыб, характеризующая генетическое разнообразие особей, была высокой. Значения наблюдаемой гетерозиготности варьировали от 0,440 (в локусе An20) до 0,920 (в локусе AoxD165) и были выше ожидаемой, характеризуя отсутствие дефицита гетерозигот по исследованным микросателлитам молоди шипа.

Таблица 1 – Изменчивость микросателлитных локусов у молоди шипа

Показатели	Микросателлитные локусы				
	Afug41	An20	Afug51	AoxD165	AoxD161-1
Количество абсолютных аллелей, шт.	3	3	3	4	4
Количество эффективных аллелей, шт.	1,85	1,58	1,89	3,54	2,64
Диапазон аллелей, п.н.	229-241	153-165	256-264	168-200	300-324
Наблюдаемая гетерозиготность	0,480	0,440	0,583	0,920	0,840
Ожидаемая гетерозиготность	0,460	0,366	0,471	0,718	0,622
Индекс фиксации Райта	-0,043	-0,204	-0,238	-0,282	-0,351

Индекс фиксации Райта по всем локусам принимал отрицательные значения (от -0,043 до -0,351), что свидетельствовало об отсутствии инбридинга у исследованной молоди шипа, полученной и выращенной в искусственных условиях.

Таким образом, по результатам генетических исследований установлен избыток гетерозигот у молоди шипа, что свидетельствовало о рациональных схемах скрещивания, используемых рыбоводами и возможности в дальнейшем формировать ремонтно-маточное стадо в условиях аквакультуры.

Список использованной литературы

1. Мюге Н.С., Барминцева А.Е., Расторгуев С.М. и др. Полиморфизм контрольного региона митохондриальной ДНК восьми видов осетровых и разработка системы ДНК-идентификации видов // Генетика. 2008. Т. 44. С. 931–917.
2. Барминцева А.Е., Мюге Н.С. Использование микросателлитных локусов для установления видовой принадлежности осетровых (Acipenseridae) и выявления особей гибридного происхождения // Генетика. 2013. Т. 4. № 9. С. 1093–1105.
3. Peakall R., Smouse P.E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research // Mol. Ecology Notes. 2006. V.6. P. 288–295.
4. Aljanabi S.M., Martinez I. Universal and rapid salt – extraction of high quality gnomc DNA for PCR – based techniques // Nucl. Acids Res. 1997. V. 25 (20). P. 4692-4693.
5. Zane L., Patarnello T., Ludwig A., Fontana F., Gongiu L. Isolation and characterization of microsatellites in the Adriatic sturgeon (Acipenser naccarii) // Mol. Ecology Notes. 2002. V. 2. P. 586–588.