



Выявление полиморфизма в гене *VMR-2*, ассоциированного с продуктивными признаками у радужной форели

Тыщенко Валентина Ивановна
к.б.н., ст. научн. сотр.

**Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения
сельскохозяйственных животных – филиал Федерального государственного бюджетного
научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ
имени академика Л.К. Эрнста» (ВНИИГРЖ)**

**VII ЕМЕЛЬЯНОВСКИЕ ЧТЕНИЯ, научно-практическая конференция с международным
участием «Аграрная наука на современном этапе: состояние, проблемы, перспективы»,**

Вологда, 20-21 февраля 2023

**Выполнено при поддержке государственного задания
0445-2021-0010**



Важным геном радужной форели, который отвечает за формирование мышечной, костной, нервной и др. тканей организма, является ген морфогенетического белка *VMR-2*. Таким образом, изучаемый ген является ценным объектом в плане выявления ассоциаций его полиморфных вариантов с продуктивными признаками рыбы (длина тела по Смигу, длина чешуйчатого покрова, длина головы, высота тела, масса икры в 5 г, масса 1 икринки, объем эякулята).

Цель исследований: выявить однонуклеотидные полиморфизмы в гене *VMR-2* и установить их ассоциации с фенотипическими признаками.



Сбор биологического материала от самцов и самок (производители) породы Ропшинская золотая форель проводился на базе Федерального Селекционно-генетического центра рыбоводства (пос. Ропша, Ленинградская область). Были отобраны пары производителей, от которых были получены потомки.

Табл.1. Схема пар производителей



№ Самки	№ Самца (Пробирки)	№ Рамки
283	1	48
281	2	50
280	3	5x2
284	4	41
285	5	101
286	6	47
287	7	40
288	8	49
290	10	4x2
289	12	100
294	14	11
297	15	60
293	16	12
298	17	59
292	19	53
295	20	23

Самки были в возрасте четырех лет, а самцы в возрасте двух лет. Схема сочетаний самок и самцов, от которых получили потомство.



Геномную ДНК выделяли с помощью фенольно-детергентного метода и протеиназы К. Количество и качество ДНК определяли на спектрофотометре NanoDrop 2000.

Используя данные по нуклеотидной последовательности гена *VMР-2* в базе данных NCBI, были подобраны праймеры для амплификации участка экзона 1 и интронов 1 и 2 этого гена.



Дизайн ПЦР праймеров, специфичных для определенных участков генов *ВМР-2* , проводили по онлайн программе Primer 3 Plus (табл. 2 и 3). Последовательности нуклеотидов указанных генов были найдены в литературе и взяты из доступной базы данных GenBank и NCBI.

Аmplification методом ПЦР на амплификаторе ThermalCycler T100 (Bio-Rad, США) в следующем режиме:

95°C – 4 мин., начальная денатурация,

95°C – 20 сек.,

60°C – 20 сек.,

72°C - 20 сек.

72°C – 4 минуты, финальная элонгация

40 циклов

ПЦР-продукт проверяли на электрофорезе в 2,0% агарозном геле в буфере

0,5xTBE.



Для секвенирования использовали набор реагентов Big Dye Terminator Cycle Sequencing Kit™ (Applied Biosystems, США) с теми же праймерами, с которыми проводилась амплификация.

Секвенирование (определение нуклеотидной последовательности в ДНК) проводится согласно протоколу производителя 8-канального секвенатора Applied Biosystems 3500™ в лаборатории молекулярной генетики ВНИИГРЖ.

Табл. 2. Генотипы восьми пар (самки, самцы) в экзонах и интронах гена *BMP-2* на 4-й хромосоме у золотой форели

SNP	Позиция	Генотипы самок и самцов							
		284-4	286-6	288-8	290-10	291-7	293-16	294-14	295-20
BMP-2_1-EX	A70824367G	AA-AA	AA-GG	AG-AA	AA-AG	GG-GG	AG-AA	AA-AG	AA-AG
BMP-2_1-EX	C70824570T	CC-CT	CC-CT	CT-CT	CT-CC	CT-CC	CC-CT	CT-CT	CT-CT
BMP-2_1-IN	A70824829G	AG-AG	AG-AA	AG-GG	GG-AG	AA-AA	AG-AA	GG-AA	GG-AA
BMP-2_1-IN	G70824841T	GG-GT	GT-GT	GG-GT	GG-GT	GG-GT	GT-TT	GT-GT	GT-TT
BMP-2_2-IN	G70826709A	AG-GG	AG-AG	AG-GG	AA-AA	GG-AG	AG-GG	AA-AG	AA-GG

Выявлены генотипы в восьми парах производителей. Например, у самки №284 генотип в экзоне гена *BMP-2* был AA, у самца №4 - то же AA

Табл. 3. Генотипы восьми пар производителей в экзонах гена *BMP-2* на 24-й хромосоме у золотой форели

SNP	Генотипы самок и самцов гена <i>BMP-2</i> на 24 хромосоме							
	284-4	286-6	288-8	290-10	291-7	293-16	294-14	295-20
EX3_BMP-2_1	AC-AC	CC-AC	CC-AC	CC-AC	CC-AC	CC-CC	AA-AC	AC-AC
EX3_BMP-2_2	CC-CG	GG-CG	CC-GG	CC-CC	CG-CC	CG-GG	GG-CG	GG-CG
EX3_BMP-2_3	AG-AG	GG-GG	GG-AA	GG-AG	AG-AG	AG-AG	AG-GG	AG-AG
EX3_BMP-2_4	AG-AG	GG-GG	GG-AG	AA-GG	GG-AG	GG-GG	AG-GG	GG-AG
EX2_BMP-2_1	TT-CC	CT-CC	CT-CT	CT-CC	CT-CC	CC-CC	CT-CT	CT-CC
EX2_BMP-2_2	AA-AA	AA-AG	AA-AG	AA-AA	AA-AA	AA-AA	AA-AA	AA-AA

Выявлены генотипы в восьми парах производителей на 24-й хромосоме.

Табл. 4. Ассоциации генотипов в гене *BMP-2_1IN* (позиция G70824841T) на 4-й хромосоме с размерно-весовыми показателями у самок золотой форели

G70824841T	Генотип GG (n=8)	Генотип GT (n=8)
Позиция		
Масса рыбы, г	3350,63±203,89	3534,44±108,20
Длина тела по Смигу, см	55,18±1,09	58,63±1,28
Длина тела чешуйчатого покрова, см	50,96±1,02	53,58±0,90
Длина головы, см	10,55±0,21 ^а	11,13±0,17 ^в
Высота тела, см	16,64±0,32	17,39±0,13
Толщина тела, см	7,36±0,21	7,61±0,13
Масса икры, г	344,75±19,43	366,67±13,51
Количество икринок в 5 граммах, шт	90,00±3,17	85,22±2,30
Масса 1 икринки, мг	57,50±2,08	59,11±1,58

В позиции G70824841T гена *BMP-2_1IN* выявлена статистически значимая ассоциация между показателем «длина головы» и генотипами GG/GT, $P < 0,05$ у самок золотой форели.

Табл. 5. Ассоциации генотипов в гене *BMP-2_1IN* (позиция G70824841T) на 4-й хромосоме с размерно-весовыми показателями у самцов золотой форели

G70824841T	Генотип GT (n=13)	Генотип TT (n=3)
Позиция		
Масса рыбы, г	663,85±40,81	695,00±79,11
Длина тела по Смигу, см	34,57±0,73	36,57±1,67
объем эякулята, мл	5,07±0,38^а	3,43±0,28^в
Подвижность, сек/%	25,85±0,55	25,67±1,33

Примечание: GT/TT (а-в, P < 0,01)

В позиции G70824841T гена *BMP-2_1IN* выявлена значимая ассоциация между показателем «объем эякулята» и генотипами GT/TT, P < 0,01.

Табл. 6. Ассоциации генотипов в экзоне гена *ZBMP-2_2* на 24-й хромосоме с размерно-весовыми показателями у самцов золотой форели

Размерно-весовые показатели	Генотип CC (n=2)	Генотип CG (n=9)	Генотип GG (n=5)
Масса рыбы, г	542,50±57,50	702,22±49,42^а	558,00±44,68^в
Длина тела по Смиту, см	33,05±0,95	36,12±0,81	33,58±1,26
V эякулята, мл	4,70±1,90	4,52±0,45	5,22±0,55
Подвижность, сек/%	24,50±1,50	26,00±0,69	26,00±0,89

Примечание: CG/GG (а-в, P < 0,05).

Выявлена статистически значимая ассоциация между показателями «масса рыбы» и генотипом CG/GG, P < 0,05.



Заключение

Таким образом, от 8 пар производителей было получено потомство. От каждой пары брали по 50 потомков, у которых ежемесячно в возрасте от 30 до 180 дней снимали размерно-весовые показатели. Выявлены замены нуклеотидов (полиморфизмы) в отдельных участках гена *VMR-2* на хромосомах 4 и 24, ассоциированные с рядом продуктивных признаков у радужной форели, что может быть использовано в селекционной работе, в частности, при подборе пар производителей.



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ