

В.С. КОСТЮК, О.В. ГАРБАР, С.В. МЕЖЖЕРІН,  
Житомирський державний університет імені Івана Франка

### ОСОБЛИВОСТІ АЛОЗИМНОЇ МІНЛИВОСТІ В ПОПУЛЯЦІЯХ РІЧКОВИХ РАКІВ З ВОДОЙМ БАСЕЙНУ Р. ПРИП'ЯТЬ

Річкові раки — одні з найпоширеніших промислових безхребетних тварини прісноводних біотопів. Вони завжди користувалися високим попитом у населення, як цінний продукт харчування багатий на корисні речовини (білки, жири, амінокислоти, біологічно активні речовини і мікроелементи).

У водоймах басейну р. Прип'ять зустрічаються два види довгопалих раків — власне номінативний довгопалий рак *Pontastacus leptodactylus* і вугластий рак *P. angulosus*. Ці види чітко відрізняються між собою за рядом якісних та кількісних морфологічних ознак, за генетичними маркерами, а також за каріотипами [1].

Раніше на основі аналізу сукупних вибірок нами було показано, що *P. leptodactylus* і *P. angulosus* мають досить чіткі відмінності за рядом морфометричних параметрів [2]. Однак характер генетичної мінливості в цих видів на популяційному рівні залишається не з'ясованим.

У зв'язку із цим нами проведено алозимний аналіз найбільш масових вибірок кожного виду із географічно віддалених популяцій (Волинська, Рівненська, Житомирська та Київська обл.). Фактичною основою послужили 35 вибірок річкових раків, зібраних в різних водоймах і водотоках України, що належать до басейну ріки Прип'ять.

Електрофоретичний аналіз в 7,5% поліакриламідному гелі був здійснений на водному екстракті м'язів клешень. Розгін проводили в трис-ЕДТА-боратній рН 8,5 системі буферів [4].

Всього проаналізовано 8 ферментних систем і 2 структурних білки, що кодуються відповідно 17 локусами, а саме: аспартатамінотрансфераза (*Aat-1*, *Aat-2*), лактатдегідрогеназа (*Ldh-1*, *Ldh-2*), малатдегідрогеназа (*Mdh-1*, *Mdh-2*), фосфоглюкомутаза (*Pgm*), супероксиддисмутаза (*Sod-1*, *Sod-2*), фосфоглюконатдегідрогеназа (*Pgdh*), малік ензим (*Me-1*), неспецифічні естерази (*Es-1*, *Es-2*, *Es-3*), два структурних білки м'язів (*Pt-1*, *Pt-2*) і альбуміни (*Alb*).

Проведений алозимний аналіз за 17 локусами виявив мінливість чотирьох з них (*Aat-1*, *Aat-2*, *Es-1*, *Es-2*), а частоти алелів в обох видів раків розподілялися альтернативно (табл. 1). Причому, якщо за трьома локусами (*Aat-1*, *Aat-2*, *Es-*

1) спостерігалися тільки стійкі відмінності в частотах алелів, то за одним з них (*Es-2*) мали місце фіксовані генні відмінності. З урахуванням того, що *P. leptodactylus* і *P. angulosus* є симпатричними видами, то стійкі відмінності в генних частотах означають факт репродуктивної ізоляції цих форм, а якщо гібридизація все ж і має місце, то вона різко обмежена.

Таблиця 1. Середня частота алелів поліморфних локусів (M) і межі їх мінливості (Lim) у двох симпатричних видів річкових раків

Локус	Алелі	<i>Pontastacus angulosus</i>		<i>Pontastacus leptodactylus</i>	
		M	Lim	M	Lim
<i>Aat-1</i>	100	0,707 ± 0,086	0 – 1	0,954 ± 0,064	0,83 – 1
<i>Aat-2</i>	100	0,992 ± 0,00	0,86 – 1	0,504 ± 0,049	0,06 – 0,88
<i>Es-1</i>	100	0,918 ± 0,028	0,6 – 1	0,484 ± 0,039	0 - 0,61
<i>Es-2</i>	100	1	1	0	0
<i>H exp</i>		0,015	0 – 0,054	0,053	0,011 – 0,075

*H exp* – очікувана гетерозиготність. Локуси: *Alb*, *Es-3*, *Idh-1*, *Idh-2*, *Ldh-1*, *Ldh-2*, *Mdh-1*, *Mdh-2*, *Me-1*, *Pgdh*, *Pgm*, *Pt-1*, *Pt-2* були інваріантними.

Рівні очікуваної і реальної гетерозиготності не відрізнялися, хоча їх значення істотно коливалися в залежності від популяції. Так, очікувана гетерозиготність (*H exp*) за вибірками варіювала від 0 до 0,067, в середньому склавши 0,033. При цьому середня гетерозиготність досліджених популяцій *P. angulosus* була низькою навіть для десятиногих раків 0,015 ± 0,004 [3], тоді як у *P. leptodactylus* виявилася вищою більш ніж в три рази 0,053 ± 0,0033.

Розрахунки генетичних дистанцій і фенограма, побудована на основі матриці генетичних дистанцій, показують наявність двох чітких генетично відмінних груп популяцій, що відповідають видам *P. leptodactylus* і *P. angulosus*. При цьому середня генетична дистанція, оцінена за 17 локусами, склала між передбачуваними видами  $D_{Nei} = 0,101 \pm 0,001$ . В межах *P. leptodactylus* вона була  $D_{Nei} = 0,007 \pm 0,001$ , а в межах *P. angulosus* виявилася рівною  $D_{Nei} = 0,018 \pm 0,001$ . Причиною неоднозначності внутрішньовидових значень є велика гетерогенність популяцій вугластих раків, яких за мінливістю локуса *Aat-1* можна розділити на дві групи. В одній, фіксований або переважає алель *Aat-1*<sup>90</sup>, тоді як в популяціях іншої групи домінує альтернативний алелізм *Aat-1*<sup>100</sup>. В результаті середня генетична дистанція між цими групами популяцій склала  $D_{Nei} = 0,037 \pm 0,015$ .

Таким чином, отримані результати підтверджують, що у водоймах басейну р. Прип'ять зустрічаються два види довгопалих раків – *Pontastacus leptodactylus* та *P. angulosus*. Причому особини цих видів уникають утворювати

спільні поселення за рахунок чого, найімовірніше, вони репродуктивно досить добре ізольовані. Хоча і виключити обмежену інтрогресивну гібридизацію в даному випадку через особливості генних відмінностей неможна.

Публікація містить результати досліджень, проведених при грантовій підтримці Держаного фонду фундаментальних досліджень за конкурсним проектом Ф73/100-2016.

### Література

1. Kostyuk V.S. Karyotypes and morphological variability of crayfish *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) and *P. angulosus* (Rathke, 1837) / Kostyuk V.S., Garbar A.V., Mezhzherin S.V. // *Vestnik zoologii*. - 2013. - V. 47, № 3. - P. 205–210.
2. Межжерин С.В. Аллозимные и морфологические доказательства реальности двух симпатрических видов пресноводных раков в пределах *Pontastacus leptodactylus* (Eschscholtz, 1823) (Decapoda: Astacidae) / Межжерин С.В., Костюк В.С., Жалай Е.И. // *Доповіді НАН України*. - 2012. - № 9. - С. 131–135.
3. Nei M. *Molecular population genetic and evolution*. - Amsterdam: North-Holland, 1975. - 275 p.
4. Nelson K., Hedgecock D. Enzyme polymorphism and adaptive strategy in the decapode Crustacea / Nelson K., Hedgecock D. // *Amer. Natur.* - 1980. - 116. - P. 238–280.
5. Peacock F.C. Serum protein electrophoresis in acrilamide gel patterns from normal human subjects / Peacock F.C., Bunting S.L., Queen K.G. // *Science*. - 1965. - 147. - P. 1451–1455.

### А.В. РАВЛЮК,

студентка факультету біотехнології і біотехніки  
Національного технічного університету України  
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

## ПРОМИСЛОВА АПРОБАЦІЯ АНАЛОГІВ СИЧУЖНОГО ФЕРМЕНТУ

Ще в давнину люди перевозили молоко в бурдюках, зроблених зі шлунків тварин, за деякий час молоко перетворювалося в каламутну рідину і щільний білий згусток. Причиною таких перетворень молока був сичужний фермент, вперше виділений у 1874 році датським вченим Крістіаном Хансеном з висушеного шлунка теляти шляхом екстракції сольовим розчином.

Сичужний фермент (хімозин, реннін) — фермент, що відноситься до класу гідролаз. Він здатний вироблятися шлунковими залозами ссавців, у жуйних тварин виробляється залозами сичуга (четвертого відділу шлунку).

Молекула сичужного ферменту складається з поліпептидного ланцюга з переважанням кислих амінокислотних залишків. Клітинами шлунку виробляється у вигляді неактивного профермента прохімозина, який активується катіонами водню (на практиці — соляною кислотою шлункового соку) у присутності іонів кальцію при рН менше 5 з відщеплюванням 42-членного пептиду. Це відносно стабільний білок у кислому середовищі, однак при зростанні рН більше 7 втрачає активність. Первинний субстрат хімозину — білок молока казеїноген, який