

новлено, что у производителей карпа нового типа репродукционный потенциал отвечает желаемому целевому стандарту.

## EVALUATION OF THE EXTERIOR AND REPRODUCTIVE INDEXES OF THE SCALELESS COMMON CARP BREEDERS OF THE LEBEDYN'S PLANT LINE

V. Bekh

Features of the exterior and reproductive indexes of the scaleless common carp of the Lebedyn's plant line of the third selection generation are presented ( $USC^{L_{F3}}$ ). Reproductive potential of the breeders of the new type answers the required target standards was determined.

УДК 575.597–115:597.554.3

## ОСОБЛИВОСТІ ГЕНЕТИЧНОЇ СТРУКТУРИ АМУРСЬКОГО САЗАНА

С.І. Крась<sup>1</sup>, С.І. Тарасюк<sup>1</sup>, В.І. Стівбінський<sup>2</sup>, Г.І. Боднар<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Інститут рибного господарства НААН

<sup>2</sup> ВАТ "Донрибкомбінат"

*Досліджено генетичну структуру амурського сазана за окремими поліморфними генетико-біохімічними системами та описано екстер'єрні показники. Виявлено видоспецифічні особливості генетичної структури за досліджуваними локусами. Розраховано рівень наявної та очікуваної гетерозиготності. Висновок: досліджувана популяція сазана має значний розмах генетичної та фенотипної мінливості.*

Важливою складовою селекційного процесу в рибництві та прогнозування отримання рибницької продукції є постійний генетичний моніторинг репродуктивного матеріалу популяцій, який дає змогу контролювати її стан і можливість ідентифікувати генотипи за багатьма генами. Вивчення генетичних змін у процесі селекції допомагає контролювати племінну роботу та вносити корективи. Племінна робота в рибництві ґрунтується на врахуванні основних закономірностей розвитку внутрішніх і міжпопуляційних процесів. Штучний добір у поєднанні з чинниками природного добору веде до видимих фенотипних змін риб і в першу чергу визначається змінами генетичної структури популяції: знижується або ж зростає частота рідкісних алелів цієї ознаки, змінюється частотний розподіл генотипів локусу, зазнає змін значення середньої гетерозиготності.

Особини, що представляють популяцію, зазвичай відрізняються кількісними та якісними ознаками. Значна частина мінливості, що спостерігається, як прави-

ло, зумовлена генетичними причинами, інша — впливом середовища. В зв'язку з цим залежність між фенотипом і генотипом не є однозначною і чіткою, тому не завжди можна пояснити причини мінливості. Незважаючи на велику кількість методів, які дають змогу маркувати мінливість генетичного матеріалу, до цього часу найбільш доступним, інформативним та надійним залишається метод аналізу генетично детермінованого поліморфізму білків з відомою біохімічною функцією [1].

На сучасному етапі при отриманні товарної продукції більшість господарств, які займаються ставовим коропівництвом, переходять на скорочені терміни вирощування риб, тобто дворічний цикл [2] із використанням коропово-сазанових гібридів, які характеризуються високими рибогосподарськими показниками. Для ефективного ведення племінної справи з метою одержання високопродуктивного гібридного потомства є важливим наявність якісного генетичного матеріалу амурського сазана. Одним із осередків

його відтворення і утримання в Україні є господарство ВАТ “Донрибкомбінат”.

Метою роботи був опис екстер'єрних особливостей і дослідження генетичної структури амурського сазана плем'ядра ВАТ “Донрибкомбінат” на основі аналізу розподілу частот алелів і генотипів за окремими поліморфними генетико-біохімічними системами.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Матеріалом для аналізу була еритроцитарна маса та плазма крові, яку отримували під час фракціонування крові відібраної з хвостової вени семирічних амурських сазанів ВАТ “Донрибкомбінат” Слов'янського району, відділення “Червона долина” ( $n=31$ ) 2010 р. Аналіз поліморфізму та розподіл алельних варіантів білків виконували методом електрофоретичного поділу білків у крохмальному і поліакриламідному гелях з наступним гістохімічним пофарбуванням [3, 4]. Вивчали наступні генетико-біохімічні системи: з групи транспортних білків — трансферин (ТФ), із групи ферментів внутрішньоклітинного енергетичного метаболізму — малатдегідрогеназу (МДН) (К.Ф.1.1.1.37) та малік-ензим (МЕ) (К.Ф.1.1.1.40); із групи ферментів метаболізму екзогенних субстратів — естеразу (ЕСТ) (К.Ф.3.1.1.1.) та фермент, що гідролізує карбонові ефіри нафтолу — карбоангідразу (СА) (К.Ф.4.2.1.1.). Оцінку екстер'єру плідників здійснювали за показниками маси тіла ( $P$ ), промислової довжини риби ( $l$ ), обхвату — ( $O$ ), висоти — ( $H$ ), та коефіцієнта вгодованості ( $K_v$ ) за формулою Фультона в модифікації ВНИИПРХ [5], індексів високоспинності ( $l/H$ ) та обхвату ( $l/O$ ).

Математичну обробку отриманих даних виконували за допомогою комп'ютерної програми “BIOSYS-I” [6]. Відхилення фактичних частот від теоретично очікуваних із співвідношення Харді-Вайнберга здійснювали із використанням критерію Пірсона [7]. Критичне значення  $\chi^2$  брали для 5% рівня значущості.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У господарстві ВАТ “Донрибкомбінат” стадо плідників амурського сазана протягом останніх 10 років відтворюється

без залучення додаткового матеріалу з інших господарств. З даних табл. 1 видно, що маса плідників коливалась від 2,3 до 6 кг (у середньому 3,8 кг), що за трибальною системою оцінки плідників амурського сазана [8] відповідає 5 балам. Довжина тіла — від 64 до 81 см, а коефіцієнт вгодованості в середньому становив  $1,79$ . Індекс високоспинності —  $3,75 \pm 0,04$ . Індекс обхвату відповідав 5 балам. Отже, за всіма вищезазначеними ознаками плідники відповідали стандартам, притаманним амурському сазану.

Аналіз генетичної структури з використанням генетико-біохімічних систем дав змогу виявити окремі її особливості. Трансферин є транспортним білком плазми крові, який транспортує іони заліза, необхідні для синтезу молекул гемоглобіну. Лocus ТФ мінливий, число алелів варіює від 2 до 13 [8]. Поліморфізм трансферину має генетичний характер. Успадкування ТФ кодомінантне, в генотипі представлений переважно одним локусом [1].

Результати дослідження виявили в амурського сазана п'ять алельних варіантів за локусом трансферину:  $Tf A$ ,  $Tf B$ ,  $Tf C_1$ ,  $Tf C_2$ ,  $Tf D$  (табл. 2). У плідників плем'ядра ВАТ “Донрибкомбінат” частота алеля  $Tf C_1$  була найвищою і становила 0,400. Деякі дослідники відзначають наявність у далекосхідного амурського сазана підвищену концентрацію  $Tf D$  (0,640), тоді як у його європейських популяціях вона є низькою [9]. В досліджуваній нами популяції насиченість  $Tf D$  становила (0,100). Аналіз генотипів трансферину показав, що із 15 можливих комбінацій наявні лише 12, серед яких домінував генотип  $Tf C_1C_1$ , тоді як генотипи  $AA$  і  $BC_1$  були відсутні. Аналіз відповідності фактичного розподілу частот генотипів щодо очікуваного за законом Харді-Вайнберга і локусом трансферину виявив статистично достовірну відмінність. Рівень фактичної гетерозиготності ( $H_0=0,500$ ) був нижчим за очікуваний.

Естераза (ЕСТ) є ферментом плазми крові, який каталізує синтез і гідроліз складних ефірів. Виявлено дві зони естерази:  $F$  — швидку і  $S$  — повільну форми. За локусом ЕСТ переважала частота  $EST-S$  (табл. 2). Із трьох очікуваних генотипів естерази відсутній генотип  $FF$ . У популяції

Таблиця 1. Морфометрична характеристика плідників

№	<i>P</i> , г	<i>l</i> , см	<i>H</i> , см	<i>O</i> , см	Кв	<i>l/H</i>	<i>l/O</i>
1	4000	57	15	41	2,16	3,8	1,4
2	4000	57	17	42	2,16	3,35	1,35
3	4300	63	16	43	1,72	3,9	1,47
4	4200	58	14	39	2,15	4,1	1,48
5	2300	55	13	34	1,38	4,2	1,6
6	3800	58	16	40	1,95	3,6	1,45
7	4800	65	17	42	1,75	3,8	1,5
8	5900	66	18	45	2,05	3,7	1,5
9	3300	58	15,5	37	1,69	3,7	1,6
10	3900	62	15,5	39	1,64	4,0	1,6
11	4200	64	17	42	1,6	3,7	1,5
12	3700	57	15	38	2,0	3,8	1,5
13	4000	60	17	40	1,85	3,5	1,5
14	3700	55	15	36	1,8	3,7	1,5
15	4000	60	16,5	41	1,9	3,6	1,5
16	3000	66	16,5	45	1,98	4,0	1,5
17	4100	54	16	28	1,7	3,4	1,9
18	5700	71	20	48	2,1	3,55	1,5
19	3200	56	15,5	38	1,82	3,5	1,5
20	6000	68	18,5	45	1,9	3,7	1,5
21	3100	57	15	37	1,62	3,8	1,5
22	3200	58	15,5	38	1,64	3,7	1,5
23	4000	64	17	41	1,53	3,7	1,6
24	3800	60	16	40	1,76	3,75	1,5
25	3000	54	15	37	1,9	3,6	1,5
26	5100	64	18	47	1,95	3,55	1,4
27	3000	54	15	36	1,9	3,6	1,5
28	2900	55	13	36	1,48	4,2	1,5
29	4100	62	16	40	1,72	3,9	1,5
30	3900	61	15	39	1,72	4,0	1,6
31	3800	60	15	39	1,76	4,0	1,5
<b><i>M±m</i></b>	<b>3819,4±192</b>	<b>59,9±0,8</b>	<b>15,9±0,27</b>	<b>39,7±0,72</b>	<b>1,79±0,03</b>	<b>3,75±0,04</b>	<b>1,5±0,016</b>

Примітка: *P* — маса тіла; *l* — промислова довжина тіла; *O* — обхват тіла; *H* — висота тіла; Кв — коефіцієнт вгодованості; *l/H* — індекс високоспинності; *l/O* — індекс обхвату.

Таблиця 2. Розподіл алейних частот, очікуваних і фактичних генотипів у популяції сазана амурського (*Cyprinus carpio haematopterus*)

Локус	Алеель	Частота	Генотип	Кількість генотипів		$\chi^2$	$\mu$
				наявна	очікувана		
TF	A	0,033	AA	–	–	21,50	7,5
			AC <sub>1</sub>	1	0,79		
			AC <sub>2</sub>	1	0,73		
	B	0,099	BB	1	0,2		
			BC <sub>1</sub>	–	–		
			BC <sub>2</sub>	3	1,8		
	C <sub>1</sub>	0,400	BD	1	0,096		
			C <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	9	4,8		
	C <sub>2</sub>	0,370	C <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	4	8,88		
			C <sub>1</sub> D	1	2,4		
D	0,100	C <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	5	4,1			
		C <sub>2</sub> D	4	2,22			
				<b>H<sub>0</sub> = 0,500</b>	<b>Hs = 0,700</b>		
EST	F	0,270	FF	–	2	3,58	2,0
	S	0,730	FS	16	12		
			SS	14	16		
				<b>H<sub>0</sub> = 0,530</b>	<b>Hs = 0,400</b>		
ALB	A	0,370	AA	–	4,1	4,34	2,6
			AB	22	14		
	B	0,630	BB	8	11,9		
				<b>H<sub>0</sub> = 0,730</b>	<b>Hs = 0,460</b>		
MDH	F	0,683	FF	12	14	2,8	2,3
			FS	17	13		
	S	0,317	SS	1	3		
				<b>H<sub>0</sub> = 0,570</b>	<b>Hs = 0,430</b>		
ME	F	0,533	FF	6	8,5	3,3	2,6
			FS	20	15		
	S	0,467	SS	4	6,5		
				<b>H<sub>0</sub> = 0,666</b>	<b>Hs = 0,500</b>		
CA	F	0,666	FF	11	13,3	2,6	1,6
			FS	18	13,3		
	S	0,334	SS	1	3,3		
				<b>H<sub>0</sub> = 0,600</b>	<b>Hs = 0,443</b>		
				<b>He = 0,600</b>			
				<b>S. E. = 0,090</b>			

Примітка: H<sub>0</sub> — фактична гетерозиготність, Hs — очікувана гетерозиготність, He — середня гетерозиготність на локус, S.E. стандартна похибка середньопопуляційних значень,  $\mu$  — середнє число варіацій.

спостерігався неврівноважений стан за локусом естерази, оскільки був наявний надлишок гетерозигот.

За локусом альбуміну в амурського сазана, як і у переважній більшості інших видів риб [1], виявлено два алелі А і В (табл. 2). Як і у випадку естерази, за цим локусом спостерігався надлишок гетерозигот (АВ). Рівень середньої гетерозиготності був високим (0,730).

Малатдегідрогеназа — фермент класу оксидоредуктаз каталізує реакції дегідрогенізації яблучної кислоти до щавлево-оцтової. Результати досліджень виявили два електрофоретичні варіанти цього ферменту: *F* — швидку і *S* — повільну форми. За локусом MDH у досліджуваному стаді переважала частота MDH-F (табл. 2) і спостерігався врівноважений стан за цим локусом, оскільки відсутні статистично достовірні відмінності фактичного розподілу генотипів від очікуваного за розподілом закону Харді-Вайнберга. Хоча за цим локусом у досліджуваному стаді амурського сазана наявна тенденція до надлишку фактичних гетерозиготних генотипів над теоретично очікуваними.

Малік-ензим (декарбоксілююча малатдегідрогеназа) має тетрамерну будову. У сазанів виявлено два аутосомних локуси: ME-S і ME-M, які кодують розчинну (цитозольну) і мітохондріальну форми ферменту. У сазана нами виявлено дві алельні форми малік-ензиму: ME-S (повільна) і ME-F (швидка). За розподілом алельних частот (табл. 2) видно, що у досліджуваній популяції переважала швидка форма (0,533). Розподіл генотипів за локусом ME (див. табл. 2) виявив незначну тенденцію до надлишку гетерозигот, значення фактичної гетерозиготності становило 0,666.

Карбоангідраза каталізує утворення вугільної кислоти з  $\text{CO}_2$  і  $\text{H}_2\text{O}$  та відіграє велику роль у підтримці кислотно-лужного балансу організму. В основному цей фермент міститься в еритроцитах. Локус карбоангідрази у досліджуваній групі амурського сазана виявився поліморфним та містив ген “швидкого” (*S*) і “повільного” (*F*) алельних варіантів ферменту (див. табл. 2). Оскільки розподіл фактичних генотипів статистично не відрізнявся від теоретичного, можна стверджувати, що популяція сазана є врівноваженою за цим локусом.

При оцінці динаміки генетичного стану популяції важливим параметром є гетерозиготність (*H*). Мутаційний процес, різні типи відбору, дрейф генів та інші фактори популяційної динаміки часто впливають на гетерозиготність популяції [10], тому її оцінка є необхідною умовою в популяційних дослідженнях. З-поміж шести досліджених локусів найбільша різниця між фактичною і очікуваною гетерозиготністю виявлена у локусах Tf і Alb (див. табл. 2). Загальна середня гетерозиготність становить 0,600. Це вказує на високий потенціал генетичної мінливості популяції.

Для оцінки ступеня алельного різноманіття популяції зручним є врахування загального числа різних алелів цього локусу. Однак більш репрезентативним є їх число не в абсолютних значеннях, а з урахуванням частоти зустрічальності окремих алелів: чим менша частота алеля, тим менший вклад він робить у поліморфізм популяції. Для оцінки внутрішнього популяційного поліморфізму нами був вибраний показник  $\mu$  — середнє число фенотипів [7]. Його достатньо часто використовують у роботах з фенотипного аналізу структури популяцій тварин і він є характеристикою ступеня різноманіття популяції. Виходячи з результатів досліджень, у всіх досліджуваних локусах (табл. 2), окрім локусу SA, показник  $\mu$  виявився вище середнього, що вказує на високий рівень реалізації поліморфізму цих локусів.

## ВИСНОВКИ

Таким чином, відносно підвищена алельна і генотипна різноманітність генетичної структури дослідженої групи амурського сазана може бути зумовлена відносно підвищеною інтенсивністю проведеної з ними селекційної роботи. Виявлений надлишок гетерозигот за окремими локусами свідчить про наявність стабілізаційних процесів генетичної структури.

Обрані генетико-біохімічні системи в поєднанні з фенотипними ознаками можуть слугувати внутрішньовидовими маркерами. Вони можуть бути використані при характеристиці генофонду, а також визначенні рівня консолідованості та запасу генетичної мінливості груп риб.

## ЛІТЕРАТУРА

1. *Кирпичников В.С.* Гибридизация европейского карпа с амурским сазаном и селекция гибридов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — 1967. — 71 с.
2. *Гринжевський М.В.* Вирощування дволіток короново-сазанових гібридів у полікультурі / М.В. Гринжевський, Д.Р. Пшеничний // Рибогосподарська наука України. — 2007. — № 1. — С. 41–44.
3. *Глазко В.И.* Биохимическая генетика овец. — Новосибирск, 1985.
4. *Gahne B., Juneja R.K., Grolmus J.* Horizontal polyacrylamide gradient gel electrophoresis for the simultaneous phenotyping of transferrin, post-transferrin, albumin and post-albumin in the blood plasma of cattle // *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* — 1977, № 8(3). — P. 127–137.
5. *Лебедько Е.Я.* Определение живой массы сельскохозяйственных животных по промерам. — М.: Аквариум, 2006. — 48 с.
6. *Swofford D.L.* BIOSYS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematic / D.L. Swofford, R.B. Selander // *J. Heredity.* — 1981. — V. 72. — P. 281–283.
7. *Животовский Л.А.* Популяционная биометрия. — М.: Наука, 1991. — 271 с.
8. *Інтенсивне рибництво: 36. інструктивно-технологічної документації.* — К.: Аграрна наука, 1995. — 187 с.
9. *Балахнин И.А.* Типы трансферрина *Cyprinus carpio* L. // И.А. Балахнин, Н.П. Галаган // *Гидробиол. журн.* — 1972. — Т. 8, № 6. — С. 108–110.
10. *Ли Ч.* Введение в популяционную генетику. — М.: Мир, 1978. — 557 с.

ОСОБЕННОСТИ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ СТРУКТУРЫ АМУРСКОГО САЗАНА  
ОАО «ДОНРЫБКОМБИНАТ»

*С.И. Крась, С.И. Тарасюк, С.И. Стовбинский, Г.И. Боднар*

Исследованы особенности генетической структуры амурского сазана по отдельным полиморфным генетико-биохимическим системам. Выявлены видоспецифичные особенности генетической структуры по исследуемым локусам. Рассчитан уровень существующей и ожидаемой гетерозиготности. Вывод: исследуемая популяция сазана обладает значительным размахом генетической изменчивости.

## FEATURES OF GENETIC STRUCTURE OF THE AMUR CARP

*S. Kras, S. Traszuk, V. Stovbinsky, G. Bodnar*

The features of the genetic structure of the Amur carp by some polymorphic genetic and biochemical systems is investigated. Specificity on values of indicators of an ex-terrier of fishes and genetic structure is revealed. Levels of observable and expected heterozygosity are calculated.