

---

---

# СЕЛЕКЦІЯ, ГЕНЕТИКА ТА БІОТЕХНОЛОГІЇ

---

---

УДК 575.15; 639.3.032:639.371.5

## ІНФОРМАТИВНІСТЬ ОКРЕМИХ ІЗОФЕРМЕНТІВ ГЕНЕТИКО-БІОХІМІЧНИХ СИСТЕМ ПОПУЛЯЦІЙ АМУРСЬКОГО САЗАНА

С.І. Крась, С.І. Тарасюк

Інститут рибного господарства НААН України

---

*Наведено значення частот алелей і генотипів за локусами малатдегідрогенази, малік-ензиму та карбоангідрази в плідниках плем'ядер ВАТ "Донрибкомбінат", ВАТ "Сумирибгосп" і ЛДС. Встановлено, що генетична структура досліджуваних популяцій сазана за даними генетико-біохімічними системами близька до співвідношення Харді-Вайнберга. Виявлено, що фактична гетерозиготність мала тенденцію до зростання по відношенню до теоретично очікуваної у досліджуваних локусах. Оцінка поліморфізму за цими генетико-біохімічними системами може бути складовою для контролю генетичної структури досліджуваних плем'ядер у майбутньому.*

---

Амурський сазан (*Cyprinus carpio haematopterus*) у рибництві використовується для промислової гібридизації з коропом із метою одержання гібридів першого покоління, які характеризуються сильним проявом ефекту гетерозису [1], інтенсивнішим темпом росту, вищою життєздатністю, холодо- і зимостійкістю [2], стійкістю до захворювань, кращими пошуковими здібностями, особливо до поїдання бентосу, що дає можливість підвищити продуктивність вирощувальних ставів на 30% і нагульних до 15% [3]. Необхідною умовою для ведення такої роботи є наявність чистопорідних племінних стад амурського сазана із відомим генетичним матеріалом. В Україні до основних рибогосподарських підприємств, де ведуться роботи з відтворення амурського сазана, належать ВАТ "Сумирибгосп", ВАТ "Донрибкомбінат" та Львівська дослідна станція Інституту рибного господарства УААН (ЛДС). Оскільки завезення генетично чистого племінного матеріалу амурського сазана на територію України відбувалося досить давно [4], важливою складовою є постійна селекційна робота із племінними стадами під контролем їх генетичної структури.

Ефективне проведення такої роботи базується на наукових даних генетичної структури племстад, за використання генетико-біохімічних систем та аналізу поліморфізму різних ділянок ДНК, так званих ДНК-маркерів [5]. Хоча слід відмітити, що для оцінки генетичної структури популяції генетико-біохімічні маркери мають ряд переваг, зокрема консерватизм алельних варіантів білків, знання біохімічних функцій та причин їх поліморфізму (амінокислотні заміни, що спричиняють зміну електрофоретичної рухливості). Оскільки відомі біохімічні функції досліджуваної генетико-біохімічної системи, то порівняльний аналіз цих змін дає можливість робити висновки про те, які саме ланки загального метаболізму залучаються під час генетичної диференціації популяцій, зокрема сазана, в процесі його адаптації до умов навколишнього середовища при інтродукції на територію України. Тому з метою підтримання чистопородного відтворення сазана проведено порівняльний аналіз генетичної структури плем'ядер амурського сазана ВАТ "Донрибкомбінат", ВАТ "Сумирибгосп" та ЛДС за використання поліморфних генетико-біохімічних систем.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Матеріалом для аналізу слугувала еритроцитарна маса і плазма крові, яку отримали під час фракціонування крові, відібраної протягом 2010 р. з хвостової вени амурських сазанів плем'ядер ВАТ “Сумирибгосп” ( $n=32$ ), ВАТ “Донрибкомбінат” ( $n=31$ ) і ЛДС ( $n=32$ ). Для опису генетичної структури досліджуваних популяцій використовували розподіл алейних і генотипних частот за локусами групи ферментів регуляції внутрішньоклітинного енергетичного метаболізму — малатдегідрогенази (MDH) (К.Ф.1.1.1.37), малік-ензиму (ME) (К.Ф.1.1.1.40) та ферменту, що гідролізує карбонові ефіри нафтолу — карбоангідрази (CA) (К.Ф.4.2.1.1). Електрофоретичний розподіл білків виконували у горизонтальному крохмальному гелі [6] із подальшим гістохімічним фарбуванням [7].

Математичну обробку отриманих даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми “BIOSYS I” [8]. Відхилення фактичних частот від теоретично очікуваних із співвідношення Харді-Вайнберга здійснювали з використанням критерію Пірсона [9]. Критичне значення  $\chi^2$  брали для 5% рівня значущості [10].

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Малатдегідрогеназа — фермент класу оксидоредуктаза каталізує реакції дегідрогенізації яблучної кислоти до щавлевооцтової кислоти. Виявлено два електрофоретичних варіанти цього ферменту: *F* — швидку і *S* — повільну форми. За локусом MDH у всіх досліджуваних популяціях переважала *F* форма (табл. 1) і спостерігався врівноважений стан,

оскільки відсутні статистично достовірні відмінності фактичного розподілу генотипів від очікуваного за розподілом Харді-Вайнберга, хоча за цим локусом у всіх досліджуваних популяціях амурського сазана спостерігалась тенденція до надлишку фактичних гетерозиготних генотипів над теоретично очікуваними. Найвища фактична гетерозиготність за локусом MDH (0,570) визначена в популяції ВАТ “Донрибкомбінат” (табл. 2).

Малік-ензим (декарбоксилуюча малатдегідрогеназа) має тетрамерну будову. У ссавців виявлено два аутосомних локуси: ME-S і ME-M, котрі кодують розчинну (цитозольну) і мітохондріальну форми ферменту. У сазана знайдено дві алейні форми малік-ензиму: ME-S (повільна) і ME-F і (швидка). За розподілом алейних частот (див. табл. 1) у всіх досліджуваних популяціях переважала швидка форма, найвищою частотою цього алейя була в плідників ВАТ “Сумирибгосп” (0,625). Розподіл генотипів за локусом ME (див. табл. 2) виявив незначну тенденцію до надлишку гетерозигот, так найвище значення фактичної гетерозиготності встановлено у популяції ВАТ “Донрибкомбінат” ( $H_0 = 0,666$ ), хоча в цілому статистично достовірної відмінності у розподілі генотипів за цим локусом у всіх досліджених групах не виявлено (табл. 3).

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 досліджуваних групах амурського сазана виявився по-

Таблиця 1. Частота алейей досліджених локусів у популяціях амурського сазана (*Cyprinus carpio haematopterus*)

Локус	Алей	ВАТ „Донрибкомбінат“	ВАТ „Сумирибгосп“	ЛДС
MDH	F	0,683	0,703	0,656
	S	0,317	0,297	0,344
ME	F	0,533	0,625	0,532
	S	0,467	0,375	0,468
CA	F	0,666	0,531	0,703
	S	0,334	0,469	0,297

Таблиця 2. Співвідношення фактичних та очікуваних гетерозигот у популяціях амурського сазана (*Cyprinus carpio haematopterus*) за локусами MDH, ME, CA

Локус	Генотип	ВАТ „Донрибкомбінат“		ВАТ „Сумирибгосп“		ЛДС	
		Число генотипів					
		фактичне	очікуване	фактичне	очікуване	фактичне	очікуване
MDH	FF	12	14	15	15,8	12	14
	FS	17	13	15	13,8	18	14
	SS	1	3	2	2,8	2	4
		<b>Ho</b> 0,570	<b>Hs</b> 0,430	<b>Ho</b> 0,468	<b>Hs</b> 0,431	<b>Ho</b> 0,563	<b>Hs</b> 0,437
ME	FF	6	8,5	11	12,5	8	9
	FS	20	15	18	15	18	16
	SS	4	6,5	3	4,5	6	7
		<b>Ho</b> 0,666	<b>Hs</b> 0,500	<b>Ho</b> 0,562	<b>Hs</b> 0,468	<b>Ho</b> 0,563	<b>Hs</b> 0,500
CA	FF	11	13,3	7	9	16	16
	FS	18	13,3	20	16	13	13,4
	SS	1	3,3	5	7	3	2,8
		<b>Ho</b> 0,600	<b>Hs</b> 0,443	<b>Ho</b> 0,562	<b>Hs</b> 0,625	<b>Ho</b> 0,406	<b>Hs</b> 0,415
He		0,612		0,530		0,510	
S.E.		0,089		0,087		0,088	

Примітка. S.E. — стандартна похибка середньопопуляційних показників; He — середня фактична гетерозиготність на локус.

Таблиця 3. Співвідношення фактичної чисельності генотипів до очікуваної відповідно до закону Харді-Вайнберга в популяціях (*Cyprinus carpio haematopterus*)

Локус	Популяція						В сумі за двома популяціями	
	ВАТ „Донрибкомбінат“		ВАТ „Сумирибгосп“		ЛДС			
	d.f.	$\chi^2$	d.f.	$\chi^2$	d.f.	$\chi^2$	d.f.	$\chi^2$
MDH	2	2,8	2	0,37	2	1,56	6	4,73
ME	2	3,3	2	1,28	2	0,49	6	5,07
CA	2	2,6	2	2,97	2	0,15	6	5,72

ліморфним та містив ген “швидкого” (S) і “повільного” (F) аельних варіантів ферменту. У всіх досліджуваних популяціях домінувала “швидка” форма СА, яка у сазанів ЛДС мала найвище значення (0,703). Значення фактичної гетерози-

готності по відношенню до очікуваної було нижчим у особин ВАТ “Сумирибгосп”, вищим — у “Донрибкомбінат” і рівним — у ЛДС “Великий Любінь”. Оскільки розподіл фактичних генотипів статистично не відрізнявся від теоретичного, можна

сказати, що всі три популяції сазана є врівноваженими за даним локусом.

Оцінка рівня середньої гетерозиготності на локус показала, що найбільш гетерогенною є група плідників плем'ядра ВАР "Донрибкомбінат" ( $H_e = 0,612$ ) і меншою — ВАР "Сумирибгосп" ( $H_e = 0,530$ ) та ЛДС ( $H_e = 0,510$ ). Оскільки гетерозиготність є однією з основних характеристик генетичної мінливості, досліджувані нами популяції амурського сазана за локусами СА, MDH і ME володіють значним потенціалом мінливості. Хоча слід сказати, що у всіх досліджуваних популяціях амурського сазана виявлено тенденцію до збільшення гетерозиготності за локусами, що вивчалися, проте статистичні відмінності у розподілі генотипів за цими локусами відсутні.

Необхідною умовою проведення промислової гібридизації є збереження генетичної чистоти плідників плем'ядер амурського сазана. Таким чином, з наведених даних стає зрозумілим, що для подальшого моніторингу і контролю над генетичною структурою досліджуваних

популяцій як додаткові маркери можна використовувати генетико-біохімічні системи MDH, ME, СА.

## ВИСНОВКИ

Досліджувані генетико-біохімічні системи виявились поліморфними і в майбутньому вони можуть слугувати маркерами для додаткової оцінки стану і контролю генетичної структури популяцій амурського сазана.

Популяції амурського сазана мають значний потенціал генетичної мінливості, про що свідчать значення середньої гетерозиготності на локус. Найвищою вона виявилась в популяції сазанів ВАР "Донрибкомбінат".

Поряд із наявним надлишком гетерозигот досліджувані популяції за даними генетико-біохімічних систем є врівноваженими і не виявляють негативних тенденцій, пов'язаних з інбредністю.

Даний напрям досліджень потребує подальшого розвитку, а саме розширення спектра генетико-біохімічних систем із метою оцінки роботи всіх ланок метаболічних процесів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Кирпичников В.С. Гибридизация европейского карпа с амурским сазаном и селекция гибридов: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — 1967. — 71 с.
2. Томиленко В.Г., Алексеенко А.А., Панченко С.М., Оленев Н.И., Дрок В.М. О зимостойкости помесных и гибридных сеголеток карпа // Рыбное х-во. — 1977. — № 2. — С. 17–19.
3. Грициняк І.І., Гринжевський М.В., Третяк О.М., Мрук А.І. Фермерське рибництво. — К.: Рибалка моя, 2008. — 696 с.
4. Катасонов В.Я., Поддубная А.В., Демкина Н.В. Формирование и рыбоводно-биологическая характеристика генетически маркированной линии амурского сазана (АСМ) // Вопросы генетики селекции и племенного дела в рыбоводстве. — М.: ВНИРО, 2001. — Вып. 76. — С. 49–56.
5. Allendorf F.W., Knudsen K.L., Leary R.F. Adaptive significance of difference in tissue-specific expression of phosphoglucosylase gene in rainbow trout // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1983. — Vol. 80, № 3. — P. 1397–1400.
6. Harrys H. Handbook of enzymeelectrophoresis in human genetics / H. Harrys, D.A. Hopkinson. — Amsterdam: North-Holland Publ. Comp., 1976. — 680 p.
7. Корочкин Л.И., Серов О.Л., Пудовкин А.И. и др. Генетика изоферментов. — М.: Наука, 1997. — 275 с.
8. 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. — Vol. 72. — P. 281–283.
9. Животовський Л.А. Популяционная биометрия. — М.: Наука, 1991. 271 с.
10. Wright S. The genetical structure of population // Ann. Eugen. — 1951. — Vol. 15. — P. 323–354.

## ИНФОРМАТИВНОСТЬ ОТДЕЛЬНЫХ ИЗОФЕРМЕНТОВ ГЕНЕТИКО-БИОХИМИЧЕСКИХ СИСТЕМ ПОПУЛЯЦИЙ АМУРСКОГО САЗАНА

С.И. Крась, С.И. Тарасюк

Приведены значения частот аллелей и генотипов по локусам малатдегидрогеназы, малькиназы и карбоангидразы в плем'ядрах производителей амурського сазана ОАО "Донриб-

комбинат”, ОАО “Сумырыбхоз” и Львовской исследовательской станции ИРХ. Установлено, что генетическая структура исследованных популяций сазана по данным генетико-биохимических систем близка к соотношению Харди-Вайнберга. Определено, что фактическая гетерозиготность имела тенденцию к увеличению по отношению к теоретически ожидаемой в исследованных локусах. Оценка полиморфизма по этим генетико-биохимическим системам в дальнейшем может быть определяющей для контроля генетической структуры исследованных племьядер маточного стада.

### CHARACTERISTICS OF POPULATION GENETIC STRUCTURE AMUR CARP

S. Kras, S. Tarasjuk

The data values of allele and genotype frequencies for the loci malate dehydrogenase, malic enzyme and carbonic anhydrase in sires of “Donrybkombinat”, of “Sumyrybhosp” and of “Velykuj Lubin” are given. It is established that the genetic structure of populations of common carp studied by genetic-biochemical systems closes to Hardy-Weinberg equilibrium. It is revealed that the actual heterozygosity tended to increase in relation to theoretically expected heterozygosity in the studied loci. We came to the conclusion that the assessment of polymorphism of these genetic-biochemical systems can help control objective genetic structure of investigated populations of a sazan in the future.

УДК 639.215.3.032

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕГОЛЕТКОВ ИСХОДНОГО СЕЛЕКЦИОННОГО МАТЕРИАЛА ЗЕРКАЛЬНОГО КАРПА

М.В. Книга, Е.В. Таразевич, А.П. Ус

РУП “Институт рыбного хозяйства”  
РУП “Научно-практический центр  
Национальной академии наук Беларуси по животноводству”, Минск,  
Республика Беларусь

*Посредством определения индексов гетерозиса и специфической комбинационной способности установлены преимущества пяти сложных трех–четырёх-породных кроссов карпа по средней массе тела и выживаемости сеголетков. Даны рекомендации по отбору исходного материала для формирования ядра новой зеркальной породы карпа.*

В современных условиях при производстве рыболовной продукции все большее значение приобретает качество выращенной рыбы, то есть ее конкурентоспособность. Судя по опыту рыболовных хозяйств Беларуси, более конкурентоспособным продуктом рыболовства является зеркальный карп, который характеризуется большим выходом съедобной части тела (тушки), с высокоступенной формой тела и удобен в переработке, как в домашних, так и в производственных условиях. Однако

карпы с зеркальным чешуйным покровом менее устойчивы к заболеваниям, в частности, к воспалению плавательного пузыря (ВПП) [1]. Установлено, что при совместном выращивании сеголетков карпов с разным чешуйным покровом, зеркальные уступают чешуйчатые по темпу роста и выживаемости [2, 3], поэтому одним из важнейших направлений в селекции карпа является выведение высокопродуктивных пород с разбросанным покровом, устойчивых к заболеваниям.