



УДК 575:639.3

ГЕТЕРОГЕННІСТЬ РІЗНОВІКОВИХ ГРУП БІЛОГО ТОВСТОЛОБИКА ЛИМАНСЬКОГО ДВСРП ХАРКІВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Нагорнюк Т. А., к. с.-г. н.
Інститут рибного господарства НААН

У статті викладено результати аналізу генетичної структури і рівня гетерогенності різновікових груп білого товстолобика з використанням генетико-біохімічних маркерів – Pralb, EST, MDH, ME і CA. У досліджених груп виявлені особливості розподілу алельних варіантів, фактичних і очікуваних генотипів, рівня середньої гетерозиготності та генетичної мінливості згідно з показником F-статистики Райта.

Встановлено, що в групі однорічок білого товстолобика фактичний рівень гетерозиготності перевищує очікуваний за локусами EST, MDH, ME і CA, $P < 0,001-0,05$. Висока фактична гетерогенність досліджуваних локусів (від 66,7 до 88,9 %), а також значний рівень середньої гетерозиготності однорічок (75,9 %) вказують на необхідність підтримання в цій популяції стану генетичної рівноваги. Відмічається стабілізація генетичної структури за рівнем гетерогенності груп товстолобиків з віком при відборі племінних особин за фенотиповими і господарсько цінними характеристиками.

Ключові слова: **білий товстолобик, генетична структура, алелі, генотип, гетерозиготність.**

Рослиноідні риби, а саме білий і строкатий товстолобика, є важливими об'єктами товарного рибництва та відіграють значну роль у вирішенні проблеми раціонального використання внутрішніх водоем України.

Із метою формування племінних стад рослиноїдних риб, які у майбутньому забезпечать потреби виробництва в повномасштабному відтворенні високоякісного рибопосадкового матеріалу, необхідно збільшувати об'єми селекційної роботи з племінним матеріалом, а також періодично забезпечувати господарства генетично чистим матеріалом білого і строкатого товстолобиків з наступним їх генетичним контролем [7].

Селекційно-племінні і рибоводні роботи, направлені на підвищення продуктивності стад різних видів товстолобиків, можуть бути реалізовані шляхом збільшення запасу мінливості популяції, необхідної для її розвитку, та отримання генетичних ефектів при гібридизації. Дослідження племінного матеріалу риб з використанням різних видів молекулярно-генетичних маркерів дає можливість вивчити генетичний поліморфізм, гетерогенність та мінливість груп для виявлення, збереження і використання кращих генетичних ресурсів. Проведення цих заходів викликає необхідність генетичного моніторингу стад риб у системі селекційно-племінної роботи [10].

У генетичних і селекційних дослідженнях перспективним є використання біохімічної мінливості. Аналіз поліморфізму білків може дати важливу інформацію про гетерогенність вихідного матеріалу, що дає можливість планувати селекційно-племінну роботу. Вивчення біохімічних маркерів дозволяє оцінити генетичну структуру популяцій, слідкувати за її змінами при формуванні маточних стад риб, а також визначати їх генетичну різноякісність [6].



Проведення генетичних досліджень груп товстолобиків з оцінкою їх генотипів за конкретними молекулярними маркерами буде сприяти ефективному відбору і збереженню генетично чистого матеріалу з метою подальшого його використання при отриманні гібридного потомства, яке буде відрізнятися підвищеною життєстійкістю, кращими показниками росту і, як наслідок, продуктивністю [10].

У закордонних літературних джерелах зустрічаються дані генетичних досліджень популяцій рослиноїдних риб при використанні різних видів молекулярних маркерів [4, 5, 8, 12, 13, 15].

Науково обгрунтовано можливість використання фракційного складу гемоглобіну у білого товстолобика в якості біохімічного маркера при проведенні селекційних робіт із зарибленням водоймів комплексного використання [5].

Проводились дослідження генетичної мінливості українських популяцій товстолобиків з використанням мікросателітних локусів [1, 9].

Продовжуються роботи з вивчення генетичного поліморфізму біохімічних маркерів у різних видів товстолобиків, які вирощуються у племінних господарствах України [2].

Успіхи селекційної роботи при формуванні племінних стад риб різних видів багато в чому залежать від генетичних процесів, які відбуваються в популяціях, а також потребують постійного генетичного контролю на різних вікових етапах.

Метою роботи був аналіз генетичної структури різновікових груп білого товстолобика при використанні генетико-біохімічних маркерів.

Матеріали та методи досліджень. В умовах Лиманського ДВСРП Харківської обл. у різновікових груп білого товстолобика (*Hypophthalmichthys molitrix*) – однорічок ($n=30$), дволіток ($n=35$) та дворічок ($n=30$) проводили відбір зразків крові з хвостової вени у пластикові пробірки з гепарином (25 МО/мл). Розділяли фракції сироватки та еритроцитів у окремі пробірки методом центрифугування і зберігали їх при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Проводили аналіз генетико-біохімічних маркерів: локусів преальбуміну (*Pralb*), естерази (*EST*, К.Ф. 3.1.1.1), малатдегідрогенази (*MDH*, К.Ф. 1.1.1.37), малік ензиму (*ME*, К.Ф. 1.1.1.40) і карбоангідрази (*CA*, К.Ф. 4.2.1.1).

У роботі використовували методи вертикального поліакриламідного і горизонтального крохмального електрофорезів, гістохімічне фарбування гелевих пластин і генотипування [6, 10, 11]. Для вивчення рівня генетичного різноманіття та мінливості вивчали частоти алелів, співвідношення генотипів, фактичну (H_o) і очікувану (H_e) гетерозиготність, індекс фіксації Райта (F), які розраховували з використанням програми "Biosys-1" [14].

Результати досліджень. Виконаний аналіз генетичної структури трьох груп білого товстолобика з використанням генетико-біохімічних маркерів. У різновікових груп риб виявлені деякі особливості розподілу алельних варіантів досліджуваних локусів, частота яких наведена у таблиці 1.

Перевага частоти швидкомігруючого алелю порівняно з повільномігруючим спостерігалась за локусом *ME* у дволіток і дворічок ($Me F = 0,614$ і $0,667$, відповідно), а також за локусом *EST* у дволіток ($Est F = 0,618$).

Відмічалось переважання повільного алельного варіанта локусу *Pralb* (*Pralb B = 0,683*) у групі дворічок. Не спостерігалось значних відмінностей за частотою швидко- і повільномігруючих алелів у групі однорічок за всіма локусами, а також у дволіток і дворічок за локусами *MDH* і *CA* (табл. 1).



Таблиця 1

Частота алелів за генетико-біохімічними маркерами у білого товстолобика

Локуси	Алелі	Частота алелів		
		однорічки	дволітки	дворічки
<i>Pralb</i>		n=30	n=34	n=30
	<i>A</i>	0,533	0,456	0,317
	<i>B</i>	0,467	0,544	0,683
<i>EST</i>		n=27	n=34	n=29
	<i>F</i>	0,444	0,618	0,569
	<i>S</i>	0,556	0,382	0,431
<i>MDH</i>		n=29	n=35	n=30
	<i>F</i>	0,483	0,571	0,583
	<i>S</i>	0,517	0,429	0,417
<i>ME</i>		n=29	n=35	n=30
	<i>F</i>	0,517	0,614	0,667
	<i>S</i>	0,483	0,386	0,333
<i>CA</i>		n=29	n=35	n=30
	<i>F</i>	0,431	0,471	0,483
	<i>S</i>	0,569	0,529	0,517

У різновікових груп товстолобиків виявлені відмінності за розподілом фактичних і очікуваних гетерозиготних генотипів локусів. Для групи однорічок білого товстолобика характерний надлишок гетерозигот за дослідженими локусами: *EST*, *MDH*, *ME* і *CA*, $P < 0,001-0,05$ (табл. 2).

Таблиця 2

Розподіл фактичних і очікуваних гетерозиготних генотипів за локусами генетико-біохімічних систем

Показники	Локуси				
	<i>EST</i>	<i>MDH</i>	<i>ME</i>	<i>Pralb</i>	<i>CA</i>
Однорічки					
G_o	24	22	22	20	21
G_e	13,6***	14,7**	14,7**	15,2	14,5*
χ^2	16,497	7,297	7,297	3,119	6,115
Дволітки					
G_o	26	22	23	17	25
G_e	16,3***	17,4	16,8*	17,1	17,7*
χ^2	12,456	2,533	4,867	0,002	6,14
Дворічки					
G_o	19	15	18	13	21
G_e	14,5	14,8	13,6	13,2	15,2*
χ^2	2,942	0,004	3,358	0,007	4,439

Примітка. G_o – фактичні гетерозиготні генотипи; G_e – очікувані гетерозиготні генотипи; * – $P \leq 0,05$; ** – $P \leq 0,01$; *** – $P \leq 0,001$.

У групі дволіток виявлена значна перевага гетерозиготних особин за локусами *EST*, *ME* і *CA*, $P < 0,001-0,05$. Генетична структура дволіток характеризувалась незначним надлишком гетерозигот за локусом *MDH*; а локус *Pralb* знаходив-



ся у врівноваженому стані за присутністю фактичних і очікуваних гетерозиготних генотипів (табл. 2).

У вибірці дворічок білого товстолобика не встановлено достовірних відмінностей між фактичними і очікуваними гетерозиготними генотипами за всіма локусами, крім локусу *CA*, $P < 0,05$ (табл. 2).

Проведений аналіз свідчить про переважання гетерозиготних особин товстолобиків за більшістю досліджених локусів у групі однорічок.

У різновікових груп товстолобиків проведено аналіз рівня середньої гетерозиготності та генетичної мінливості згідно з показником F-статистики Райта (рис.). Встановлено, що в групі однорічок білого товстолобика фактичний рівень гетерозиготності переважав очікуваний за локусами: *EST* ($H_o=88,9\%$; $H_e=49,4\%$), *MDH* ($H_o=75,9\%$; $H_e=49,9\%$), *ME* ($H_o=75,9\%$; $H_e=49,9\%$), *Pralb* ($H_o=66,7\%$; $H_e=49,8\%$) і *CA* ($H_o=72,4\%$; $H_e=49\%$). Про це свідчить значення індексів фіксації Райта F = від $-0,339$ до $-0,8$.

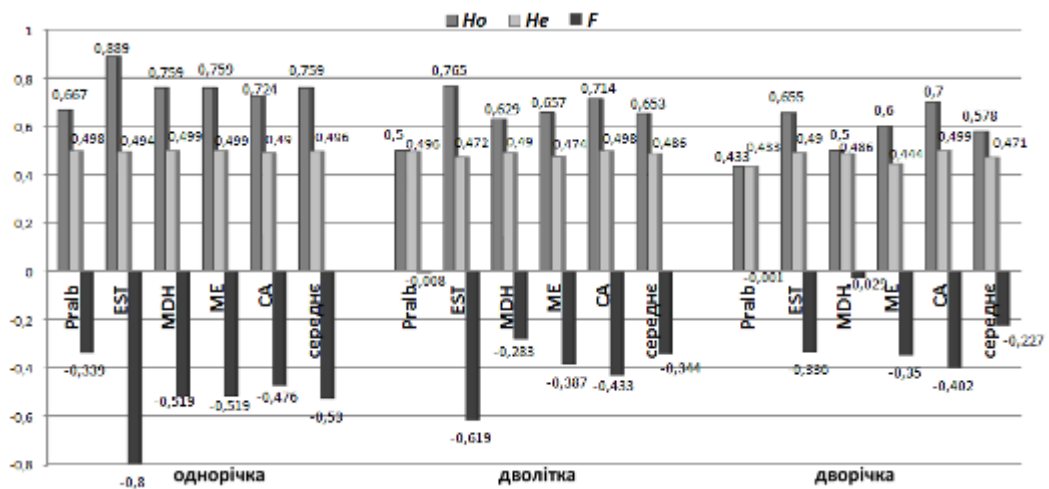


Рис. Рівень гетерозиготності та індекс фіксації Райта за генетико-біохімічними маркерами у груп білого товстолобика (H_o – фактичний рівень гетерозиготності; H_e – очікуваний рівень гетерозиготності; F – індекс фіксації).

У групі дволіток значення F , які вказували на значну перевагу фактичного рівня гетерозиготності над очікуваним, виявлені за всіма локусами (F = від $-0,283$ до $-0,619$), за винятком локусу *Pralb*. У дворічок товстолобика виявлені відмінності між фактичною і очікуваною гетерозиготністю за локусом *CA* ($H_o=70\%$; $H_e=49,9\%$; $F=-0,402$). Спостерігався врівноважений стан генетичної структури у дворічок за рівнем гетерозиготності за локусом *Pralb* ($H_o=0,433$; $H_e=0,433$) (рис.).

У однорічок відмічається значна перевага фактичної середньої гетерозиготності на рівні $75,9\%$, на відміну від теоретично розрахованого рівня гетерозиготності у межах $50,5\%$ ($F=-0,503$). У інших вікових груп значення середньої гетерозиготності було дещо нижчим: $65,3\%$ і $57,8\%$, у дволіток і дворічок відповідно. При цьому індекс фіксації Райта, який є мірою відмінностей між фактичною і очікуваною гетерозиготністю, мав від'ємне значення у дволіток ($F=-0,325$) та дворічок ($F=-0,207$) (рис.).

Висновки:

1. Результати досліджень дозволяють стверджувати, що група однорічок за популяційно-генетичними показниками відрізнялась від інших вікових груп. Ви-



сока фактична гетерогенність всіх локусів (від 66,7 до 88,9 %), а також значний рівень середньої гетерозиготності однорічок (75,9 %) вказують на необхідність підтримання в цій популяції стану генетичної рівноваги.

2. Відбір племінних особин товстолобика за фенотиповими і господарсько-цінними характеристиками в процесі селекційної роботи у господарстві сприяв стабілізації генетичної структури за рівнем гетерогенності у групи дворічок.

Бібліографічний список

1. Борисенко Н. А. Использование микросателлитных маркеров для исследования генетической структуры белого и пестрого толстолобиков ОАО «Дон-рыбкомбинат» / Н. А. Борисенко, О. В. Залоило // Водные биоресурсы, аквакультура и экология водоемов: материалы междунар. науч.-практ. конф.: Калининград, 25–26 сентября 2013. – Калининград, 2013. – С. 149–150.

2. Бочков В. М. Формування гетерогенних популяцій білого і строкатого товстолобиків ДП рибгоспу «Галицький» / В. М. Бочков, Т. А. Нагорнюк, С. І. Тарасюк [та ін.] // Науковий вісник НУБіП. – 2014. – Вип. 202. – С. 38–44.

3. Генетика изоферментов / Л. И. Корочкин, О. Л. Серов, А. И. Пудовник [и др.]. – М.: Наука, 1977. – 275 с.

4. Демкина Н. В. Результаты использования биохимических маркеров в селекции карповых рыб – опыт ВНИИПРХ / Н. В. Демкина, Е. В. Новикова, В. А. Демкин // Генетика, селекция, гибридизация, племенное дело и воспроизводство рыб: материалы междунар. конф.: 10–12 сентября 2008. – Санкт-Петербург, 2008. – С. 58–59.

5. Карнаухов Г. И. Возрастная динамика фракционного состава гемоглобина и сывороточных белков у рыб дальневосточного комплекса: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.10 / Г. И. Карнаухов. – М., 1988. – 24 с.

6. Кирпичников В. С. Генетика и селекция рыб / В. С. Кирпичников. – Л.: Наука, 1987. – 520 с.

7. Організація селекційно-племінної роботи в рибництві / М. В. Гринжевський, І. М. Шерман, І. І. Грициняк [та ін.]. – К.: Рибка моя, 2006. – 352 с.

8. Семенов А. П. Биохимико-генетические исследования генеалогической разнокачественности ремонтно-маточного стада белого амура и белого толстолобика / А. П. Семенов, Е. В. Таразевич, В. Б. Сазанов // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси. – 2006. – Вып. 22. – С. 36–44.

9. Сравнительный анализ двух популяций белого толстолоба (*Hypophthalmichthys molitrix*) и карпа (*Cyprinus carpio*) с использованием микросателлитных ДНК-маркеров / И. С. Резникова, В. В. Степура, А. В. Шелев [и др.] // Фактори експериментальної еволюції організмів. – 2010. – Т. 9. – С. 64–69.

10. Тарасюк С. І. Молекулярно-генетичні дослідження в рибництві / С. І. Тарасюк, І. І. Грициняк. – К.: Аграрна наука, 2013. – 310 с.

11. Davis B. J. Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins / B. J. Davis // Ann. N. Y. Acad. Sci. – 1964. – V. 121. – P. 404–408.

12. Development of microsatellite DNA markers of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and their cross-species application in bighead carp (*Aristichthys nobilis*) / M. J. Liao, G. P. Yang, X. C. Wang [et al.] // Molecular Ecology Notes. – 2007. – V. 7 (1). – P. 95–99.

13. Development of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*Aristichthys nobilis*) genetic maps using microsatellite and AFLP markers and a pseudo-testcross strategy / M. Liao, L. Zhang, G. Yang [et al.] // Animal genetics. – 2007. – V. 38 (4). – P. 364–370.



14. Wright S. Variability within and among natural populations / S. Wright // Chicago: Univ. Press, 1978. – Vol. 4. – P. 590.

15. Wu Lizhao. Biochemical genetic structure and variation in a natural population of silver carp from the middle reaches of the Yangtze River / Wu Lizhao, Wang Zuxiong // Acta Hydrobiologica Sinica. – 1997. – V. 21, N 2. – P. 157–162.

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ РАЗНОВОЗРАСТНЫХ ГРУПП БЕЛОГО ТОЛСТОЛОБИКА ЛИМАНСКОГО ПІСРП ХАРЬКОВСЬКОЇ ОБЛАСТІ

Нагорнюк Т. А., Інститут рибного господарства НААН

В статті изложены результаты анализа генетической структуры и уровня гетерогенности разновозрастных групп белого толстолобика с использованием генетико-биохимических маркеров – Pralb, EST, MDH, ME и CA. У исследуемых групп выявлены особенности распределения аллельных вариантов, фактических и ожидаемых генотипов, уровня средней гетерозиготности и генетической изменчивости согласно показателя F-статистики Райта.

Установлено, что в группе годовиков белого толстолобика уровень наблюдаемой гетерозиготности превышает ожидаемый по локусам EST, MDH, ME и CA, $P < 0,001-0,05$. Так, наблюдаемая высокая гетерогенность исследуемых локусов (от 66,7 до 88,9 %), а также значительный уровень средней гетерозиготности годовиков (75,9 %) указывает на необходимость поддержания в этой популяции состояния генетического равновесия. Отмечается стабилизация генетической структуры по уровню гетерогенности групп толстолобиков с возрастом при отборе племенных особей по фенотипическим и хозяйственно-ценным характеристикам.

Ключевые слова: белый толстолобик, генетическая структура, аллели, генотип, гетерозиготность.

HETEROZYGOSITY IN THE MULTIPLE-AGED GROUPS OF SILVER CARP OF THE LIMAN SIAFE OF KHARKOV REGION

Nagornyuk T. A., Institute of Fisheries NAAS

The article contains the results of an analysis of the genetic structure and heterozygosity level of multiple-aged groups of silver carp with the use of genetic-biochemical markers – Pralb, EST, MDH, ME and CA. The investigated groups showed the peculiarities of the distribution of allele variants, actual and expected genotypes, mean heterozygosity level and genetic variability according to the Wright's F-statistic.

It was found that the observed heterozygosity level in the group of silver carp yearlings exceeded the expected level by loci EST, MDH, ME and CA, $P < 0.001-0.05$. The expected high heterogeneity of the investigated loci (from 66.7 to 88.9 %) as well as significantly high level of mean heterozygosity of the yearlings (75.9 %) indicate on the necessity for maintaining the state of genetic balance in this population. Stabilization of the genetic structure along the level of the heterogeneity of silver carp groups was observed with age when selecting pedigree specimens based on phenotypic and economically valuable features.

Key words: silver carp, genetic structure, alleles, genotype, heterozygosity.