

**ФОРМУВАННЯ ГЕТЕРОГЕННИХ ПОПУЛЯЦІЙ БІЛОГО  
І СТРОКАТОГО ТОВСТОЛОБИКІВ ДП РИБГОСПУ «ГАЛИЦЬКИЙ»**

***В. М. Бочков, Т. А. Нагорнюк,  
кандидати сільськогосподарських наук  
С. І. Тарасюк, доктор сільськогосподарських наук,  
професор, член-кореспондент НААН  
Н. О. Борисенко, науковий співробітник***

*Вивчено алельний та генотиповий склад білкових і ферментних систем у різновікових груп білого і строкатого товстолобиків при використанні методів електрофоретичного аналізу. Спостерігався високий рівень середньої гетерозиготності у трирічок білого товстолобика (77,2 %) та дворічок (71,9 %) і трирічок (70,3 %) строкатого товстолобика. Найнижчі значення генетичних відстаней виявлено між групами трирічок обох видів товстолобиків ( $D_N=0,003$ ).*

***Білий товстолобик, строкатий товстолобик, генетико-біохімічні маркери, генетична структура, алелі, генотип, гетерозиготність.***

---

© В. М. Бочков, Т. А. Нагорнюк,  
С. І. Тарасюк, Н. О. Борисенко, 2014

Широке впровадження в промислове рибництво рослиноїдних риб в Україні сприяло підвищенню економічної ефективності багатьох рибницьких підприємств. Однак останніми роками спостерігається помітне зниження обсягів їх виробництва, пов'язане зі зниженням якості плідників та потомства. Для управління цією проблемою необхідна організація селекційно-плеємної роботи, спрямована на підвищення продуктивних якостей маточних стад рослиноїдних риб. Ефективність селекційної роботи, у першу чергу, визначається рівнем генетичної мінливості об'єкта селекції. У даному випадку цей аспект особливо важливий, оскільки вихідним матеріалом інтродукції була невелика кількість риб [3].

Інтродукція рослиноїдних риб в Україну, успішне вирішення проблеми їх відтворення, поширення у водоймах різного походження та цільового призначення, продемонстрували високу ефективність і перспективність використання рослиноїдних риб як об'єктів культивування. У період становлення ринкових відносин певною мірою втрачений контроль зі сторони держави за селекційно-плеємною роботою з рослиноїдними рибами, що негативно позначилося на якості маточних стад на більшості рибоводних підприємств [4].

Формування чистопородних плеємних стад білого і строкатого товстолобиків потребує їх постійного генетичного контролю на різних вікових етапах.

**Мета дослідження** – вивчення та аналіз генетичної структури різновікових груп різних видів товстолобиків за використання генетико-біохімічних маркерів.

**Матеріали та методи досліджень.** В умовах ДП рибгоспу «Галицький» Івано-Франківської обл. для дослідження генетичної структури білого (*Hypophthalmichthys molitrix*) і строкатого (*Aristichthys nobilis*) товстолобиків проводили відбір зразків крові у їх різновікових груп: у білого товстолобика – однорічки (n=30), дворічки (n=30), трирічки (n=37), а також у строкатого – однорічки (n=30), дворічки (n=29), трирічки (n=31).

Зразки крові товстолобиків відбирали прижиттєво з хвостової вени у пластикові пробірки з гепарином. Зразки центрифугували за 3 тис. обертів 10 хв. Фасували фракції крові в окремі пробірки і зберігали за -20 °С.

Проведено аналіз генетичної структури товстолобиків за генетико-біохімічними маркерами – локусами преальбуміну (*Pralb*), естерази (*EST*, КФ 3.1.1.1), малатдегідрогенази (*MDH*, КФ 1.1.1.37), малік-ензиму (*ME*, КФ 1.1.1.40) та карбоангідрази (*CA*, КФ 4.2.1.1).

Для досліджень використовували методи вертикального поліакриламідного та горизонтального крохмального електрофорезів із власними модифікаціями з наступним гістохімічним фарбуванням і генотипуванням [1, 2, 5].

Для вивчення генетичної диференціації розраховували частоти алелів і генотипів, фактичну ( $H_{obs}$ ) й очікувану ( $H_{exp}$ ) гетерозиготність. Генетичну диференціацію визначали за допомогою коефіцієнта генетичних дистанцій Нея ( $D_N$ ) [6]. Статистичне опрацювання отриманих результатів виконували за використання комп'ютерної програми "Biosys-1".

**Результати досліджень.** Проведений аналіз генетичної структури різновікових груп білого та строкатого товстолобиків за використання генетико-біохімічних маркерів. Розраховано частоту алельних варіантів досліджуваних локусів (табл. 1).

### 1. Частота алелів за генетико-біохімічними маркерами у товстолобиків

Локус	Апель	Частота алелів					
		білий товстолобик			строкатий товстолобик		
		1-річка	2-річка	3-річка	1-річка	2-річка	3-річка
<i>EST</i>	<i>F</i>	0,617	0,625	0,515	0,633	0,517	0,565
	<i>S</i>	0,383	0,375	0,485	0,367	0,483	0,435
<i>MDH</i>	<i>F</i>	0,617	0,550	0,581	0,600	0,448	0,581
	<i>S</i>	0,383	0,450	0,419	0,400	0,552	0,419
<i>ME</i>	<i>F</i>	0,500	0,650	0,527	0,431	0,414	0,452
	<i>S</i>	0,500	0,350	0,473	0,569	0,586	0,548
<i>Pralb</i>	<i>A</i>	0,267	0,550	0,514	0,750	0,426	0,516
	<i>B</i>	0,733	0,450	0,486	0,250	0,574	0,484
<i>CA</i>	<i>F</i>	0,600	0,667	0,571	0,567	0,517	0,548
	<i>S</i>	0,400	0,333	0,429	0,433	0,483	0,452

Наведені дані дають змогу спостерігати особливості розподілу алелів у різновікових груп риб. За локусом *EST* у групі однорічок білого і строкатого товстолобиків та групі дворічок білого товстолобика значно переважала частота швидкомігруючого варіанта *Est F*, порівняно з алелем *Est S*. У групах однорічок білого товстолобика за локусом *MDH* та дворічок за локусами *CA* і *ME* швидкомігруючий варіант (*F*) був більш розповсюдженим, ніж повільномігруючий алельний варіант (*S*) (табл. 1). Спостерігалися певні особливості розподілу алелів локусу *Pralb* у однорічок обох видів риб: у групі білого товстолобика частота повільномігруючого варіанта *Pralb B* (0,733) значно переважала частоту алеля *Pralb A* (0,267); у групі строкатого товстолобика, навпаки, переважала частота швидкомігруючого алельного варіанта *Pralb A* (0,750).

У різновікових груп обох видів товстолобиків спостерігалися відмінності за розподілом фактичних і очікуваних гетерозиготних генотипів досліджуваних локусів (табл. 2).

Проведений аналіз генетичної мінливості згідно з показником  $F_{IS}$  статистики Райта ( $F_{IS}$ ) показав, що у групі трирічок білого товстолобика найнижчі значення  $F_{IS}$  виявлені за всіма локусами: *EST* (-0,699) *MDH* (-0,499), *ME* (-0,355), *Pralb* (-0,731) і *CA* (-0,517), що свідчить про нерівновагу генетичної структури.

У вибірці дворічок білого товстолобика значний надлишок гетерозиготних особин присутній за локусами *EST* і *CA* ( $F_{IS} = -0,600$  і  $-0,500$ , відповідно). У однорічок білого товстолобика невірноважений стан генетичної структури був за локусом *EST* ( $F_{IS} = -0,622$ ).

У однорічок строкатого товстолобика не виявлено достовірних відмінностей між очікуваними і фактичними генотипами. У дворічок строка-

того товстолобика за локусами *EST*, *ME* і *CA* ( $F_{IS} = -0,519, -0,564, -0,657$ , відповідно) розподіл виявлених генотипів не відповідав теоретично очікуваному. У трирічок строкатого товстолобика за локусами *Pralb* і *CA* ( $F_{IS} = -0,808$  і  $-0,433$ , відповідно) встановлено достовірні відмінності між фактичними і теоретично розрахованими гетерозиготними генотипами. Це свідчить про перевагу відбору гетерозиготних особин товстолобиків на різних вікових етапах.

## 2. Розподіл особин товстолобиків з гетерозиготними генотипами

Локус	Білий товстолобик								
	однорічка			дворічка			трирічка		
	$G_{obs}$	$G_{exp}$	$F_{IS}$	$G_{obs}$	$G_{exp}$	$F_{IS}$	$G_{obs}$	$G_{exp}$	$F_{IS}$
<i>EST</i>	23	14,4	-0,622	21	13,4	-0,600	28	16,7	-0,699
<i>MDH</i>	19	14,4	-0,340	19	15,1	-0,279	27	18,3	-0,499
<i>ME</i>	15	14,7	-0,034	17	13,9	-0,245	25	18,7	-0,355
<i>Pralb</i>	12	11,9	-0,023	17	15,1	-0,145	32	18,7	-0,731
<i>CA</i>	18	14,6	-0,250	20	13,6	-0,500	26	17,4	-0,517
	строкатий товстолобик								
<i>EST</i>	18	14,2	-0,292	22	14,7	-0,519	19	15,5	-0,247
<i>MDH</i>	18	14,6	-0,250	18	14,6	-0,255	20	15,3	-0,325
<i>ME</i>	17	14,5	-0,195	22	14,3	-0,564	20	15,6	-0,303
<i>Pralb</i>	13	11,4	-0,156	17	13,4	-0,288	28	15,7	-0,808
<i>CA</i>	18	14,9	-0,222	24	14,7	-0,657	22	15,6	-0,433

Примітка:  $G_{obs}$  – фактична кількість гетерозигот;  $G_{exp}$  – очікувана кількість гетерозигот;  $F_{IS}$  – індекс фіксації Райта.

Проведений розрахунок рівня гетерозиготності за кожним із локусів показав, що в групі однорічок строкатого товстолобика генетична структура перебувала у врівноваженому стані, оскільки її фактичний рівень не переважав очікуваний (табл. 3).

У групах білого товстолобика високий фактичний рівень гетерозиготності виявлено за локусом *EST* (76,7 %) у однорічок, локусами *EST* (75 %) і *CA* (66,7 %) у дворічок та всіма локусами, включеними у дослідження, у трирічок.

У групах строкатого товстолобика рівень гетерозиготності переважав очікуваний і виявився найвищим за локусами *EST* (75,9 %), *ME* (75,9 %) і *CA* (82,8 %) у дворічок, локусами *Pralb* (90,3 %) і *CA* (71 %) – у трирічок.

Встановлений фактичний рівень середньої гетерозиготності 58,3 % (очікуваний 47,1 %) у білого і 56,4 % (очікуваний 46,8 %) – у строкатого товстолобиків свідчить про врівноважений стан генетичної структури груп однорічок.

Високий рівень середньої гетерозиготності на локус спостерігався у трирічок білого товстолобика (фактичний 77,2 % проти 50,2 % очікуваного) та у групах дворічок (фактичний 71,9 % проти 50,2 % очікуваного) і трирічок (фактичний 70,3 % проти 50,2 % очікуваного) строкатого товстолобика, що свідчить про стан генетичної нерівноваги цих популяцій за даними локусами.

### 3. Рівень середньої гетерозиготності за генетико-біохімічними маркерами

Вікова група	<i>H</i>	<i>EST</i>	<i>MDH</i>	<i>ME</i>	<i>Pralb</i>	<i>CA</i>	<i>H<sub>середня</sub></i>
Білий товстолобик							
однорічки	<i>H<sub>obs</sub></i>	0,767	0,633	0,517	0,400	0,600	0,583±0,061
	<i>H<sub>exp</sub></i>	0,481	0,481	0,509	0,398	0,488	0,471±0,019
дворічки	<i>H<sub>obs</sub></i>	0,750	0,633	0,567	0,567	0,667	0,637±0,034
	<i>H<sub>exp</sub></i>	0,477	0,503	0,463	0,503	0,452	0,480±0,010
трирічки	<i>H<sub>obs</sub></i>	0,848	0,730	0,676	0,865	0,743	0,772±0,036
	<i>H<sub>exp</sub></i>	0,507	0,494	0,505	0,506	0,497	0,502±0,003
Строкатий товстолобик							
однорічки	<i>H<sub>obs</sub></i>	0,600	0,600	0,586	0,433	0,600	0,564±0,033
	<i>H<sub>exp</sub></i>	0,472	0,488	0,499	0,381	0,499	0,468±0,022
дворічки	<i>H<sub>obs</sub></i>	0,759	0,621	0,759	0,630	0,828	0,719±0,04
	<i>H<sub>exp</sub></i>	0,508	0,503	0,494	0,498	0,508	0,502±0,003
трирічки	<i>H<sub>obs</sub></i>	0,613	0,645	0,645	0,903	0,710	0,703±0,052
	<i>H<sub>exp</sub></i>	0,500	0,495	0,503	0,508	0,503	0,502±0,002

Примітка: *H<sub>obs</sub>* – фактичний рівень гетерозиготності; *H<sub>exp</sub>* – очікуваний рівень гетерозиготності.

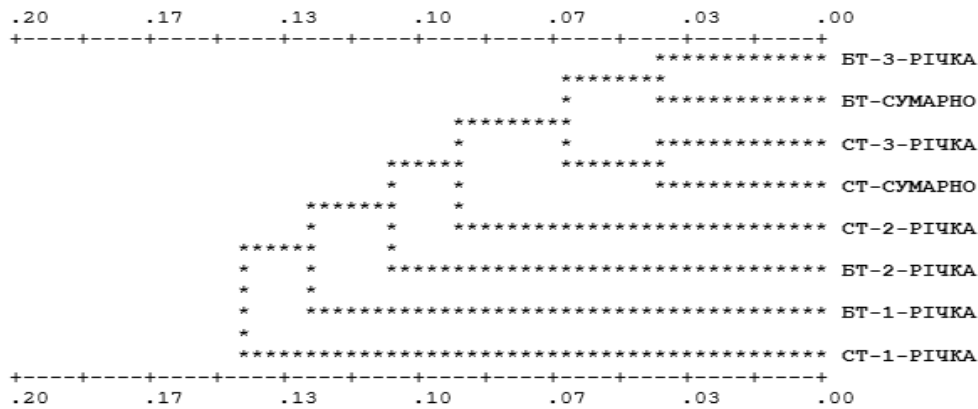
### 4. Значення генетичних відстаней у різновікових груп товстолобиків

Вікові групи	Білий товстолобик			Строкатий товстолобик			
	3-річка	2-річка	1-річка	3-річка	2-річка	1-річка	
білий	3-річка	****	0,015	0,028	0,003	0,016	0,030
	2-річка	0,985	****	0,043	0,023	0,045	0,038
	1-річка	0,972	0,958	****	0,027	0,030	0,093
строкатий	3-річка	0,997	0,977	0,973	****	0,012	0,023
	2-річка	0,984	0,956	0,971	0,988	****	0,056
	1-річка	0,970	0,962	0,911	0,977	0,945	****

Представлені у табл. 4 значення генетичних відстаней (вище від діагоналі) та індексів ідентичності (нижче від діагоналі) за Неєм (1978) на основі аналізу розподілу алелів та генотипів за біохімічними локусами у різновікових груп товстолобиків були незначними.

Найменші значення генетичних відстаней спостерігалися між групами трирічок обох видів товстолобиків ( $D_N=0,003$ ), групами дво- і трирічок строкатого товстолобика ( $D_N=0,012$ ) та групами дво- і трирічок білого товстолобика ( $D_N=0,015$ ).

Дендрограму генетичних взаємовідношень, побудовану на основі значень індексів ідентичності, розрахованих за розподілом алелів досліджуваних локусів у різновікових груп товстолобиків, подано на рисунку.



**Дендрограма генетичних взаємовідношень у різновікових груп білого (БТ) і строкатого (СТ) товстолобиків**

Кластерний аналіз свідчить про те, що найбільший вклад у формування генетичної структури популяцій як білого, так і строкатого товстолобиків вносять групи трирічного віку.

### Висновки

Проналізовано генетичну структуру різновікових груп білого і строкатого товстолобиків ДП рибгоспу «Галицький» Івано-Франківської області за поліморфними генетико-біохімічними маркерами: *Pralb*, *EST*, *MDH*, *ME* та *CA*.

За частотою алельних варіантів спостерігали особливості їх розподілу у груп однорічок і дворічок білого товстолобика за всіма локусами, а також в однорічок строкатого товстолобика за локусами *Pralb* і *EST*. У груп трирічок білого та дво- і трирічок строкатого товстолобиків частота повільно- і швидкомігруючих алельних варіантів була у близьких межах і помітно не відрізнялася.

Найвищий фактичний рівень середньої гетерозиготності на локус спостерігався у групах трирічок і становив 77,2 % і 70,3 %, у білого і строкатого, відповідно; а також у групі дворічок строкатого товстолобика на рівні 71,9 %, що свідчить про необхідність підтримання в цих популяціях стану генетичної рівноваги.

На основі розрахунку величин генетичних відстаней встановлено, що міжвидова генетична диференціація товстолобиків за досліджуваними локусами не перевищує значення генетичної диференціації у їх різновікових груп, на що вказують значення генетичних відстаней між групами трирічок ( $D_N=0,003$ ) та групами однорічок ( $D_N=0,093$ ) обох видів товстолобиків, що може свідчити про певні результати проведеної селекційно-плеємінної роботи з даними популяціями риб.

Отже, проведені дослідження генетичної структури, розраховані генетичні відстані, рівень гетерогенності різновікових груп дають змогу стверджувати, що найбільший внесок на етапі формування генетичної структури плеємінних стад популяцій як білого, так і строкатого товстолобиків, роблять групи риб трирічного віку.

Подальші дослідження й аналіз рівня гетерозиготності популяцій

товстолобиків дозволять простежити за динамікою показників їх генетичного різноманіття.

### Список літератури

1. Генетика изоферментов / [Корочкин Л. И., Серов О. Л., Пудовник А. И. и др.]. – М. : Наука, 1977. – 275 с.
2. Проведення генетичної експертизи плідників коропа : метод. рекомендації [С. І. Тарасюк, В. В. Бех, Т. А. Нагорнюк, С. В. Рекрут]. – К. : ЦНТЕІ, 2011. – 22 с.
3. Тарасюк С. І. Молекулярно-генетичні дослідження в рибицтві / С. І. Тарасюк, І. І. Грициняк. – К. : Аграрна наука, 2013. – 310 с.
4. Шерман И. М. Состояние и перспективы формирования ремонтно-маточных стад растительноядных рыб в Украине / И. М. Шерман // Проблемы воспроизводства растительноядных рыб, их роль в аквакультуре : междунар. наук.-практ. конф., 27–30 сентября 2000 г. : тезисы докл. – Краснодар, 2000. – С. 53–54.
5. 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.
6. Nei M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals / M. Nei // Genetics. – 1978. – V. 89. – P. 583–590.

*Изучен аллельный и генотипический состав белковых и ферментных систем у разновозрастных групп белого и пестрого толстолобиков при использовании методов электрофоретического анализа. Наблюдался высокий уровень средней гетерозиготности у трехгодовиков белого толстолобика (77,2 %), а также двухгодовиков (71,9 %) и трехгодовиков (70,3 %) пестрого толстолобика. Низкие значения генетических расстояний обнаружены между группами трехгодовиков двух видов толстолобиков ( $D_N = 0,003$ ).*

**Белый толстолобик, пестрый толстолобик, генетико-биохимические маркеры, генетическая структура, аллели, генотип, гетерозиготность.**

*It has been investigated the allelic and genotypic structure of proteins and enzymes of different age groups of silver and bighead carps with using of electrophoretic analysis. The high level of average heterozygosity of three-year silver carps (77.2%), two-year silver carps (71.9%) and three-year bighead carp (70.3%) has been observed. It has been find out the low values of genetic distances between groups of three-year silver and bighead carps ( $D_N = 0,003$ ).*

**Silver carp, bighead carp, genetic-biochemical markers, genetic structure, alleles, genotype, heterozygosity.**