

МОРФОГЕНЕТИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ УКРАЇНСЬКОЇ ЛУСКАТОЇ ПОРОДИ КОРОПА

Т. А. Нагорнюк, Н. Й. Тушиницька, С. І. Тарасюк

Інститут рибного господарства НААН

Досліджено генетичну структуру коропа української лускатої породи за 6 генетико-біохімічними системами. Результати досліджень стану генетичної рівноваги в даній популяції показують, що найбільш генетично врівноваженими були локуси TF та EST. Найвищий рівень наявної гетерозиготності, що значно переважав очікуваний, у різних вікових груп лускатих коропів виявлено за локусами ALB і ME. Проведено оцінку рибницьких показників груп коропа.

На сьогодні для багатьох видів риб, в основному за рахунок використання методу електрофорезу білків, вдалося одержати велику кількість даних [1], які показали, що більшість видів риб складаються із угруповань, котрі відрізняються за генетичною структурою один від одного. Саме вони є носіями того генетичного різноманіття, яке сформувалося в процесі еволюції. Генетичне різноманіття кожного виду є джерелом його адаптивних можливостей до мінливих умов середовища. Тому, як для ефективного використання, так і для збереження рибних ресурсів важливим і необхідним є благополучне існування таких угруповань.

Генетична структура популяцій в природних умовах може з часом зазнавати змін. Швидкість цього процесу залежить від чисельності популяції, яка впливає на рівень інбридингу, дії добору, випадкового генетичного дрейфу, ізоляції та мутаційного процесу [2]. Все це призводить до зниження алельного і генотипового різноманіття, що проявляється у зниженні рівня частот гетерозиготних генотипів, сприяє зростанню частот генотипів, які в локусах містять ідентичні за походженням алелі [3].

Дуже важливим є саме контроль за генетичними параметрами у різнопорідних груп коропа, за комплексом генетико-біохімічних систем, який дає змогу достовірно оцінити рівень генетичної мінливості, генотиповий склад, ступінь внутрішньо- і міжпопуляційної диференціації, які є обов'язковими при проведенні моніторингу генетичної структури популяції.

Метою роботи був аналіз особливостей генетичної структури популяції лускатих коропів, що є важливим для вирішення багатьох теоретичних і практичних проблем, пов'язаних з раціональною організацією рибного господарства і селекцією риб.

Матеріали і методи. Для досліджень використовували коропів української лускатої породи восени 2009 р. (n=33) та навесні 2010 р. (n=29), які вирощуються у Лиманському ДВSRП Харківської області. Зразки крові брали у живих особин з хвостової вени у пластикові пробірки з гепарином. Кров центрифугували при 3000 об./хв протягом 10 хв і відбирали плазму в окремі пробірки. Еритроцити тричі відмивали фізрозчином (0,65 М NaCl) з наступним центрифугуванням при 1500 об./хв протягом 5–7 хв. Зразки плазми та еритроцитів зберігали при –20 °С.

Оцінку екстер'єрних показників коропа: маси тіла, г, довжини тіла (L , см), промислової довжини тіла (l , см), найбільшої висоти в ділянці спинного плавця (H , см), найбільшого обхвату тіла (O , см), індексів тілобудови, % — відносної висоти (l/H) і відносного обхвату тіла (l/O), коефіцієнту вгодованості ($K\vartheta$) — здійснювали згідно з інструкцією ведення селекційно-плеємної справи зі ставовими рибами [4].

Досліджували генетичну структуру коропів за шістьма генетико-біохімічними

системами: транспортними білками — локуси трансферину (*TF*) та альбуміну (*ALB*), ферментами внутрішньоклітинного енергетичного метаболізму: циклу трикарбонових кислот — НАД-залежна малатдегідрогеназа (*MDH*, К.Ф.1.1.1.37), фермент внутрішньоклітинного метаболізму з вузькою субстратною специфічністю — НАДФ-залежна малатдегідрогеназа, або малік-ензим (*ME*, К.Ф.1.1.1.40), фермент метаболізму екзогенних субстратів — естераза (*EST*, К.Ф.3.1.1.1) та карбоангідраза (*CA*, К.Ф. 4.2.1.1.).

Дослідження проводили з використанням методу вертикального поліакриламідного та горизонтального крохмального електрофорезів [5, 6] з наступним гістохімічним фарбуванням та генотипуванням за алельними варіантами досліджуваних локусів генетико-біохімічних систем крові [7]. Статистичну достовірність оцінювали з використанням *t*-критерію Стьюдента [8] у програмі Microsoft Excel. Розрахунок алельних частот, рівня середньої гетерозиготності, відхилення частот генотипів від стану рівноваги проводили з використанням комп'ютерної програми «BIOSYS-1» [9].

Результати й обговорення. Ефективність селекції визначається застосуванням раціональних систем вирощування ремонтного молодняку, яка повинна забезпечити нормальний розвиток організму і сприяти досить повній реалізації генотипу риб. Підбір завершує всю попередню роботу по вирощуванню, виявленню господарської і племінної цінності, відбору кращих особин для їх розмноження. Він заснований на відмінностях у ступені вираженості фенотипових ознак. Зазвичай фенотипова мінливість коливається в певних межах. У наших дослідженнях оцінку рибницьких показників груп ремонтного молодняку коропів проводили за їхньою морфометричною характеристикою.

Екстер'єрні показники коропів визначали за індексами тілобудови — індексом обхвату тіла (*I/O*) та індексом високоспинності (*I/H*), які разом з масою тіла риб є основними критеріями при відборі для формування племінного ядра популяції. Для оцінки ступеню фенотипової мінливості кількісних ознак риб визначали коефіцієнт мінливості. Найвищі значення коефіцієнту варіації (C_v) у груп одnorічок (29,3 %) і дволіток (24,9 %) коропа зафіксовані за масою тіла, що показує значну варіабельність за цією ознакою (табл. 1).

Таблиця 1

Морфометрична характеристика коропів української лускатої породи

Показники, од. виміру	Однорічки (n=29)			Дволітки (n=33)		
	min-max	M ± m	C_v , %	min-max	M ± m	C_v , %
маса, г	6,0–19,2	10,8±0,6	29,3	440–1180	795±34,5	24,9
<i>L</i> , см	8,7–12,0	9,7±0,15	8,3	31,2–43,0	38,3±0,6	8,9
<i>l</i> , см	7,2–9,0	7,8±0,12	8,4	25,0–36,1	32,2±0,5	9,7
<i>H</i> , см	2,0–3,2	2,5±0,05	10,6	9,3–14,1	11,5±0,2	10,5
<i>O</i> , см	6,0–9,0	6,9±0,13	10,4	22,1–29,8	26,5±0,4	8,3
<i>I/H</i>	2,8–3,6	3,2±0,03	5,2	2,5–3,1	2,8±0,02	5,9
<i>I/O</i>	1,0–1,4	1,1±0,02	7,7	1,03–1,31	1,2±0,01	5,9
<i>K_v</i>	1,6–2,7	2,2±0,04	9,7	1,9–2,9	2,4±0,04	9,8

За індексами тілобудови ці значення не перевищували 7,7 % та 5,9 % у одnorічок та дволіток, відповідно, що свідчить про однорідність досліджуваного стада. Мінливість коефіцієнту вгодованості (K_B), як важливого показника фізіологічного стану риб, у досліджуваних груп лускатих коропів була не вищою 9,8 % (табл. 1). Досліджували особливості генетичної структури українських лускатих коропів за шістьма поліморфними генетико-біохімічними системами крові. За локусом *TF* у коропів виявлено алельні варіанти — В, С₁, С₂, D, розподіл частот яких подано в таблиці 2.

За локусом *TF* у коропів з найбільшою частотою зустрічався алельний варіант С₁ (0,742 і 0,776). *Tf* С₂ у коропів обох груп був наближеним за частотою. Слід зазначити, що в досліджених групах лускатих коропів *Tf* А не виявлявся, як і *Tf* В у групі дволіток. З найменшою частотою, порівняно з іншими алелями, зустрічався *Tf* В (0,034) (табл. 2).

Частота алелю *Tf D* переважала у групі коропів дволітнього віку в 1,9 раза.

Ферментна система *EST* представлена двома алельними варіантами — *Est F* (варіант з низькою молекулярною масою) і *Est S* (варіант з великою молекулярною масою). В обох досліджених групах коропів з більшою частотою був присутній алельний варіант *Est S* (0,606 та 0,603).

Таблиця 2

Алельні частоти в українській лускатій породі коропа за генетико-біохімічними системами

Вікова група	<i>TF</i>					<i>ALB</i>		
	A	B	C ₁	C ₂	D	A	B	
Дволітки	0	0	0,742	0,122	0,136	0,515	0,485	
Однорічки	0	0,034	0,776	0,121	0,069	0,378	0,552	
Вікова група	<i>ME</i>		<i>EST</i>		<i>CA</i>		<i>MDH</i>	
	F	S	F	S	F	S	F	S
Дволітки	0,636	0,364	0,394	0,606	0,617	0,383	0,652	0,348
Однорічки	0,448	0,552	0,397	0,603	0,724	0,276	0,638	0,362

Локус *MDH* представлений двома алельними варіантами — *Mdh F* і *Mdh S* (з низькою та великою молекулярною масою, відповідно). У дволіток та однорічок коропа з більшою частотою присутній алельний варіант *Mdh F* і становить 0,652 і 0,638, відповідно (табл. 2). За ферментною системою *ME* у групі дволіток помітно більшою була частота алелю *Me F* (0,636), порівняно з *Me S* (0,364), що відрізняло їх від групи однорічок, у яких обидва алельні варіанти зустрічаються з наближеною частотою. У зоні *ALB* виявлено два алельні варіанти — *Alb A* (з низькою молекулярною масою) і *Alb B* (з великою молекулярною масою), за частотою яких досліджені групи коропів помітно не відрізнялися. За ферментною системою *CA* у обох групах коропа з більшою частотою зустрічався алельний варіант *Ca F*, порівняно з алелем *Ca S* (табл. 2).

У таблиці 3 представлено кількість наявних та очікуваних генотипів за локусами генетико-біохімічних систем. У коропів дволіток найбільш генетично врівноваженими згідно з законом Харді-Вайнберга були локуси *TF* та *EST*, у однорічок локуси *TF*, *EST*, *MDH*. За локусом *TF* з усіх виявлених генотипів лускаті коропи найчастіше представлені *Tf C₁C₁* (59 %). За іншими дослідженими локусами у лускатих коропів спостерігалось порушення генетичної рівноваги у бік надлишку гетерозигот ($P < 0,001-0,05$) (табл. 3). Слід сказати, що основними факторами, які впливають на формування генетичної структури досліджених популяцій є фактори стабілізуючого відбору, які сприяють перевазі гетерозигот. При цьому, поза сумнівом, зберігаються пристосовані генотипи, тоді як менш пристосовані форми елімінуються [10].

Таблиця 3

Наявні та очікувані генотипи за генетико-біохімічними системами у лускатих коропів

Локуси	Генотипи	Дволітки			Однорічки				
		наявні	очікувані	χ^2	P	наявні	очікувані	χ^2	P
<i>TF</i>	BC ₁	0	0	1,435	>0,05	2	1,579	6,121	>0,05
	C ₁ C ₁	17	18,092			18	17,368		
	C ₁ C ₂	7	6,031			5	5,526		
	C ₁ D	8	6,785			2	3,158		
	C ₂ D	1	1,108			2	0,491		
<i>ALB</i>	AA	4	8,631	10,419	<0,001	0	4,053	13,166	<0,001
	AB	26	16,738			22	12,351		
	BB	3	7,631			5	8,702		
<i>ME</i>	FF	9	13,246	10,258	<0,001	1	5,702	12,476	<0,001
	FS	24	15,508			24	14,596		
	SS	0	4,246			4	8,702		
<i>MDH</i>	FF	11	13,892	4,951	<0,05	10	11,684	1,845	>0,05
	FS	21	15,215			17	13,632		
	SS	1	3,892			2	3,684		
<i>EST</i>	FF	7	5,000	2,133	>0,05	4	4,439	0,116	>0,05
	FS	12	16,000			15	14,123		
	SS	14	12,000			10	10,439		
<i>CA</i>	FF	7	11,288	11,017	<0,001	13	15,105	3,902	<0,05
	FS	23	14,424			16	11,789		
	SS	0	4,288			0	2,105		

Важливою генетичною характеристикою популяції є гетерозиготність, яка є показником генетичного різноманіття [11]. У ремонтного молодняку лускатих коропів визначали рівень гетерозиготності на локус (табл. 4).

Таблиця 4

Рівень гетерозиготності за дослідженими локусами у коропів

Локуси	Рівень гетерозиготності			
	дволітки		однорічки	
	наявна	очікувана	наявна	очікувана
<i>TF</i>	0,485	0,422	0,379	0,384
<i>ALB</i>	0,788	0,507	0,828	0,561
<i>ME</i>	0,727	0,470	0,828	0,503
<i>MDH</i>	0,636	0,461	0,586	0,470
<i>EST</i>	0,364	0,485	0,517	0,487
<i>CA</i>	0,767	0,481	0,552	0,407
<i>H</i> середнє	0,628±0,07	0,471±0,012	0,615±0,073	0,469±0,027

За дослідженими генетико-біохімічними системами у коропів дволітнього віку найвищий рівень гетерозиготності, який значно переважав очікуваний, спостерігався за локусами альбуміну, карбоангідрази та малік-ензиму; у групі однорічок — за локусами альбуміну та малік-ензиму. Найнижчий рівень гетерозиготності у досліджуваних групах лускатих коропів присутній за локусами трансферину та естерази (табл. 4).

ВИСНОВКИ

Проведено оцінку ступеню мінливості рибницьких показників груп ремонтного молодняку лускатих коропів, які вирощуються у Лиманському ДВСРП. Досліджено генетичну структуру української лускатої породи коропа за поліморфними генетико-біохімічними системами — *TF*, *ALB*, *EST*, *MDH*, *ME*, *CA*. Виявлено відмінності генетичної структури за розподілом аельних частот за локусами *TF* та *ME* у досліджених груп коропа. Відмічається статистично достовірний надлишок гетерозигот за більшістю локусів, окрім *TF* і *EST* у групі дволіток та локусів *TF*, *EST*, *MDH* у коропів однорічного віку. Найвищий рівень гетерозиготності у досліджуваних групах коропа відмічається за локусами *ALB* і *ME*. Виявлений рівень середньої гетерозиготності за генетико-біохімічними системами переважав очікуваний у обох вікових групах коропа.

Перспективи подальших досліджень. При дослідженні генетичної структури коропових планується розширення спектру генетико-біохімічних систем, а також їх комплексного поєднання з ДНК-маркерами.

MORPHOGENETIC PECULIARITIES OF THE UKRAINIAN SCALED CARP

T. Nagornyuk, N. Tushnitska, S. Tarasjuk

SUMMARY

The genetic structure of the Ukrainian scaled carps with help of six genetic-biochemical systems has been investigated. Results of investigation demonstrated that most genetic balanced were loci of *TF* and *EST* of investigated population. The highest level of observable heterozygosity was find out in different age groups of scaled carp by the *ALB* and *ME* loci, which was more higher than expected level. It has been performed the estimation of fish-breeding indicators of carp groups.

МОРФОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ УКРАИНСКОЙ ЧЕШУЙЧАТОЙ ПОРОДЫ КАРПА

Т. А. Нагорнюк, Н. И. Тушницкая, С. И. Тарасюк

А Н Н О Т А Ц И Я

Исследовано генетическую структуру карпа украинской чешуйчатой породы по 6-ти генетико-биохимическим системам. Результаты исследований состояния генетического равновесия в популяции показывают, что наиболее генетически стабильными были локусы TF и EST. Самый высокий уровень фактической гетерозиготности, который значительно превышал ожидаемый, у разных возрастных групп чешуйчатых карпов выявлен по локусам ALB и ME. Проведена оценка рыбоводных показателей групп карпа.

Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Кирпичников В. С. Генетика и селекция рыб / В. С. Кирпичников. — Л. : Наука, 1987. — 520 с.
2. Животовский Л. А. Популяционная биометрия / Л. А. Животовский. — М. : Наука, 1991. — 264 с.
3. Аллендорф Ф. У. Популяционная генетика и управление рыбным хозяйством / Ф. У. Аллендорф, Н. Римаан, Ф. М. Аттер. — М. : Агропромиздат, 1991. — 480 с.
4. Томіленко В. Г. Інструкція з організації племінної роботи в коропівництві України / В. Г. Томіленко, О. О. Олексієнко, А. П. Кучеренко // Інтенсивне рибицтво. — К. : Аграрна наука, 1995. — 33 с.
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. Harris H. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics / H. Harris, D. A. Hopkinson. — Amsterdam : North-Holland Publ. Comp., 1976. — 680 p.
7. Генетика изоферментов / [Л. И. Корочкин, О. Л. Серов, А. И. Пудовкин и др.]. — М. : Наука, 1977. — 275 с.
8. Плохинский Н. А. Биометрия / Н. А. Плохинский. — М. : Издательство Московского университета, 1970. — 367 с.
9. Swofford D. L. BIOSYS-1: a Fortran program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics / D. L. Swofford, R. B. Selander // J. Heredity. — 1981. — V. 72. — P. 281–283.
10. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях / Ю. П. Алтухов. — М. : Наука, 1989. — С. 328.
11. Айала Ф. Современная генетика. Т. 3 / Ф. Айала, Дж. Кайгер. — М. : Мир, 1988. — 335 с.

Рецензент: старший науковий співробітник лабораторії репродуктивної біотехнології та розведення тварин, кандидат сільськогосподарських наук Чокан Т. В.