

**ПОЛИМОРФИЗМ ПЛЕМЕННОГО СТАДА АМУРСКОГО САЗАНА
ХАНКАЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ СЕДЬМОГО И ВОСЬМОГО
ПОКОЛЕНИЯ, ВЫРАЩЕННОГО В УСЛОВИЯХ БЕЛАРУСИ, ПО
ЛОКУСУ ТРАНСФЕРРИНА**

С.В.КРАЛЬКО, М.В.КНИГА, Т.А.СЕРГЕЕВА,
Д.А.ЖМОЙДЯК, О.В.МАХАНЬКО

*РУП «Институт рыбного хозяйства»,
220024, Республика Беларусь, г. Минск, ул. Стебенева, 22,
e-mail:belniirh@tut.by*

**POLYMORPHISM OF SEVEN AND EIGHT GENERATIONS OF AMUR
WILD CARP (*HANGKAI POPULATION*) BREED GENE POOL,
CULTIVATED IN BELARUS, AT TRANSFERRIN LOCUS**

S. KRALKO, M. KNIGA, T. SERGEEVA,
D. ZHMOJDIK, O. MAKHANKO

*RUE «Fish industry institute»,
22 Stebeneva Str., 220024, Minsk, Belarus,
e-mail:belniirh@tut.by*

Аннотация. В статье представлены результаты биохимико-генетического маркирования по локусу трансферрина племенного ремонтно-маточного стада амурского сазана ханкайской популяции седьмого - восьмого поколений, включенных в коллекционный генофонд республики Беларусь, и приведена их сравнительная характеристика по отношению к стаду четвертого поколения.

Ключевые слова: амурский сазан, поколение, генофонд, трансферрин, генотип, аллель.

Abstract: The article presents the results of genotyping at transferrin locus of 7 and 8 generations of the Amur wild carp (Khankai population), included in the collection gene pool of the Republic of Belarus, in comparison with the brood stock of the 4 generation.

Key words: amur wild carp, generation, genetic pool, transferrin, genotype, allele.

Введение. Трансферрин (Tf) – белок сыворотки крови, основной переносчик железа в организме. Множественные формы трансферрина хорошо зарекомендовали себя в качестве маркеров для оценки генетического потенциала племенных стад рыб. Этому способствовали кодоминантная

природа наследования гена Tf со множеством аллелей и методическая легкость электрофоретического разделения и визуализации изоформ этого белка [1].

Материалы и методы исследований. Исследования проводились на базе селекционно-племенного участка «Изобелино» Молодечненского района Минской области. Материалом для исследования служили 56 особей ремонтно-маточного стада амурского сазана ханкайской популяции седьмого и восьмого поколений.

При проведении биохимико-генетической экспертизы старших групп ремонта и переводе в стадо производителей проводили их индивидуальное мечение проционовыми холодоустойчивыми красителями. Красители разных цветов по разработанной схеме вводили в чешуйные кармашки. [2, 3, 4].

Биохимико-генетические исследования проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в камере вертикальной модификации Г.Н. Нефедова и К.А. Трувелера [5]. ПААГ готовили по методу Б. Девиса [6], окрашивание гелевых блоков – по модификации А. Таммерта [7]. Протеины выделяли из сыворотки крови рыб. Паттерны электрофоретического разделения изоформ трансферрина выявляли методом окрашивания в спиртово-уксусном растворе сложного красителя Кумасси [8].

Результаты исследований и их обсуждение. На базе рыбхоза «Вилейка» в 1976-77 гг. была создана репродукционная база по формированию ремонтно-маточного стада амурского сазана ханкайской популяции, генетический материал которого был завезен из Украины (репродукционная база «Лисневичи») [9]. В республике амурский сазан воспроизводится «в себе» на протяжении восьми поколений, а племенной материал использовался для получения гибридов, полученных при скрещивании с самками карпа [10, 11].

Первые исследования белорусского генофонда амурского сазана по локусу трансферрина проводили при формировании маточного стада четвертого поколения, полученного методом семейных скрещиваний. Всего исследован генофонд 6 семей (304 экз.) амурского сазана [12].

В настоящее время в СПУ «Изобелино» имеется популяция амурского сазана седьмого и восьмого поколений. Данные по биохимико-генетическому маркированию ремонтно-маточного стада седьмого-восьмого поколений по локусу трансферрина представлены в табл.1 и 2.

В популяции четвертого поколения гомозиготы были представлены четырьмя вариантами AA, BB, YY, ZZ. Повышенной частотой встречаемости характеризовались генотипы AA у семьи 1 (23,2 %), YY у семьи 6 (34,0 %), ZZ у семьи 2 (35,1 %) и у семьи 3 (28,9 %). Из 13 гетерозигот (AY, AW BY YW WZ BZ AC CY DY YZ BW AB AX) повышенной частотой встречаемости характеризовался генотип AY у семей 1 (49,3 %), 4 (39,0 %), 6 (49,0 %); BY у

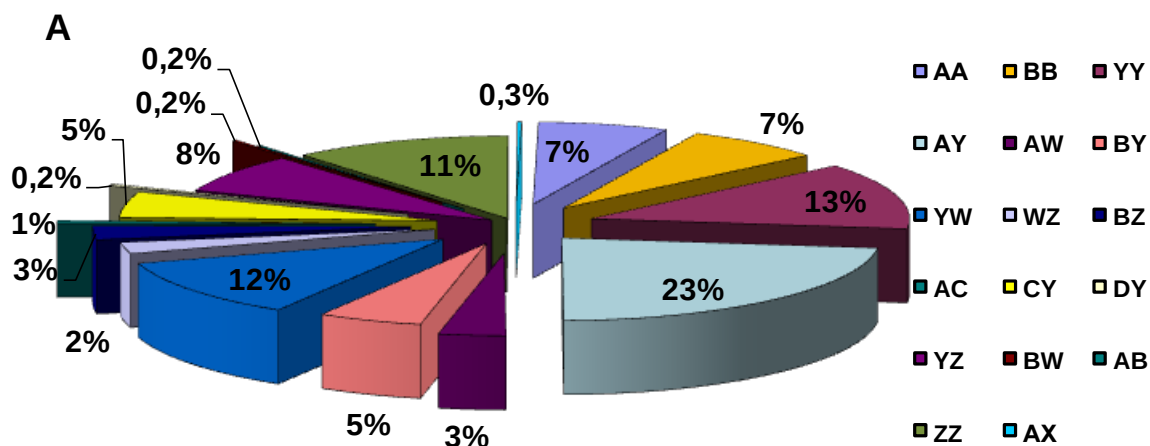
семьи 3 (21,0 %); YW у семьи 5 (46,7 %); CY у семьи 5 (30,0 %); YZ у семьи 2 (35,1 %) [12].

В популяции седьмого и восьмого поколения идентифицировано три гомозиготы: AA, YY и XX с частотой встречаемости 17,9%, 33,3% и 2,0% соответственно. Среди 8 гетерозигот наиболее распространенным у амурского сазана из коллекционного стада является сочетание аллелей AY (23,5%), остальные - малочисленны (табл. 1).

Таблица 1. – Частоты встречаемости генотипов по трансферриновому локусу у РМС амурского сазана седьмого и восьмого поколений

Возраст, пол	Частоты встречаемости генотипов, %										
	AA	YY	AB	AC	AY	CY	AX	AZ	BY	XX	XY
Восьмое поколение											
3+, ♀	25,0	75,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
♂	-	50,0	-	-	14,3	14,3	-	-	-	14,3	7,3
4+, ♀	-	20,0	-	-	80,0	-	-	-	-	-	-
Седьмое поколение											
8+, ♀	25,0	-	-	25,0	25,0	-	12,5	-	12,5	-	-
♂	25,0	25,0	-	25,0	25,0	-	-	-	-	-	-
10+, ♀	10,0	30,0	10,0	-	20,0	-	-	10,0	20,0	-	-
♂	33,3	33,3	-	-	-	-	33,3	-	-	-	-

Таким образом, в популяции производителей седьмого и восьмого поколений произошло значительное снижение генетического разнообразия. Обнаружено лишь 11 генотипов из 17, присутствовавших ранее в четвертом поколении (рис.1). В исследованных популяциях разных поколений повышенной частотой встречаемости характеризуются гомозигота YY и гетерозигота AY.



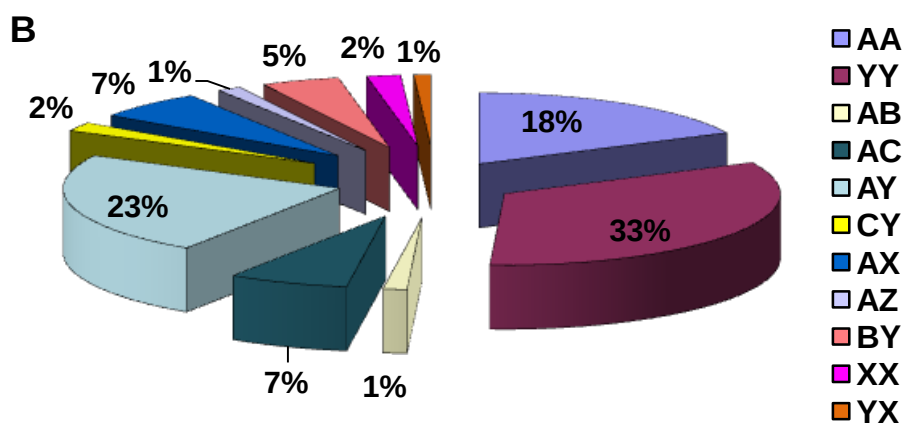


Рисунок 1. – Соотношение генотипов по локусу Tf в популяциях 4-го (А) [12] и 7-8-го (В) поколений амурского сазана

Самым распространенным аллелем в популяции амурского сазана четвертого поколения являлся аллель Y, который обнаружен в каждой из семей. Повышенной частотой встречаемости этого аллеля характеризовались семьи 4 (0,545), 5 (0,500) и 6 (0,524). Семья 1 отличалась повышенной частотой встречаемости аллеля A (0,529), у семей 2 и 3 была повышена частота аллеля Z (0,554 и 0,460 соответственно).

Наиболее представленными в коллекционной популяции сазана седьмого-восьмого поколения являются аллели Y и A (q^A и q^Y – по 0,46 и 0,35 соответственно), в сравнении с которыми частота остальных аллелей невелика. Наибольшей частотой встречаемости характеризуется аллель Y. От популяции сазана четвертого поколения настоящая популяция отличается увеличением частоты встречаемости аллеля A, особенно в гомозиготном состоянии, уменьшением концентрации аллелей B, Z и утратой аллелей W и D. Распределение аллелей представлено в табл.2.

Таблица 2. – Частоты встречаемости аллелей локуса Tf у РМС амурского сазана седьмого и восьмого поколений

Возраст, пол	Кол-во, экз.	Частота встречаемости аллелей						Доля гете- рози- гот, %
		q ^A	q ^B	q ^C	q ^Y	q ^Z	q ^x	
Восьмое поколение								
3+, ♀	12	0,25	-	-	0,75	-	-	-
♂	14	0,143	0,071	-	0,61	-	0,107	21.4
4+, ♀	5	0,4	-	-	0,60	-	-	80
Седьмое поколение								
8+, ♀	8	0,56	0,062	0,125	0,19	-	0,062	75
♂	4	0,5	-	0,125	0,38	-	-	50
10+, ♀	10	0,25	0,15	-	0,50	0,05	-	60
♂	3	0,5	-	-	0,33	-	0,17	33,3

Сравнительный анализ аллельного состава популяций четвертого и седьмого-восьмого поколений также свидетельствует о том, что в настоящее время в популяции производителей сазана произошло заметное снижение генетического разнообразия. Количество изоформ трансферрина сократилось с 8 до 6. При формировании РМС чистопородного амурского сазана необходимо увеличить частоту встречаемости относительно редких в настоящее время аллелей X, Z, C, B за счет уменьшения концентрации аллелей A и Y и восполнить утерянные аллели W и D (рис. 2).

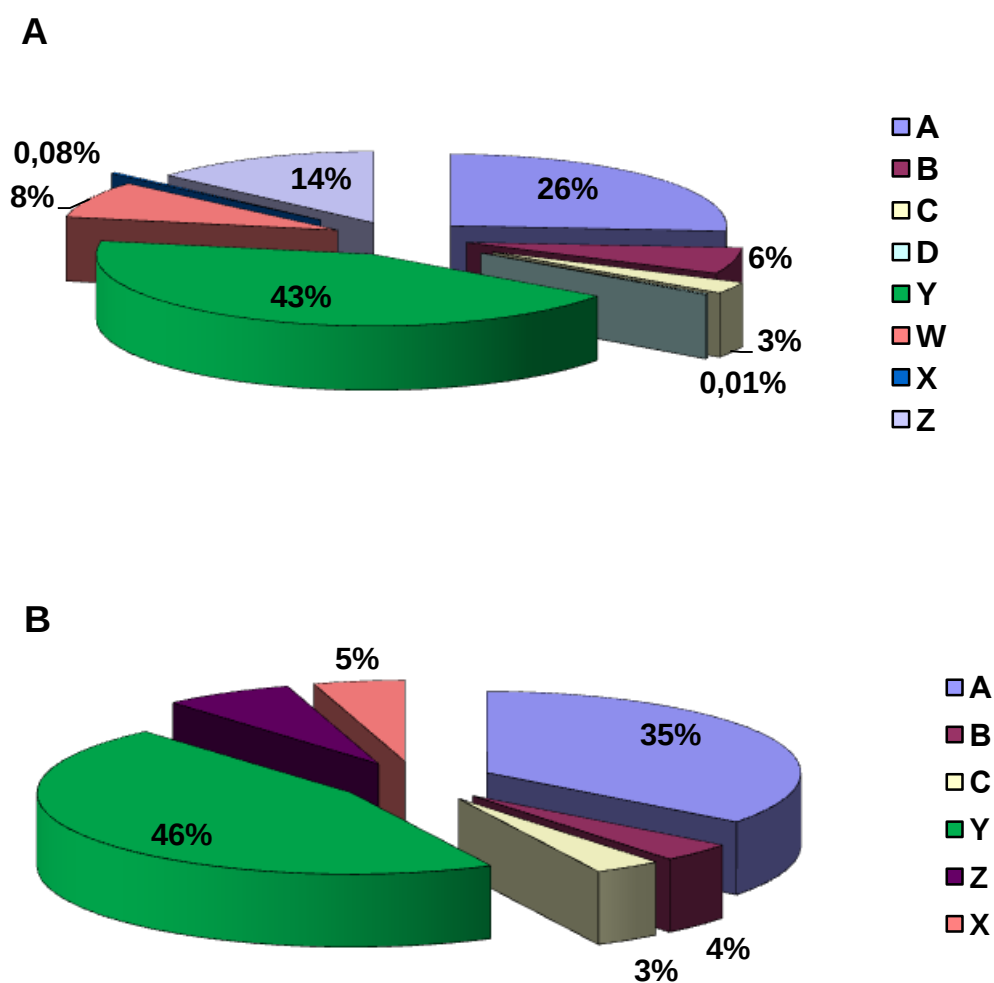


Рисунок 2. – Соотношение частот аллелей локуса трансферрина в популяциях 4-го (А) [12] и 7-8-го (В) поколений амурского сазана

В результате анализа соотношения гомо- и гетерозигот в четвертом поколении установлено значительное преобладание гетерозигот по сравнению с гомозиготами (рис. 3). Далее различия по частоте встречаемости гомо- и гетерозигот сокращаются. В седьмом-восьмом поколении сохранившееся преобладание гетерозигот по сравнению с гомозиготами незначительно.

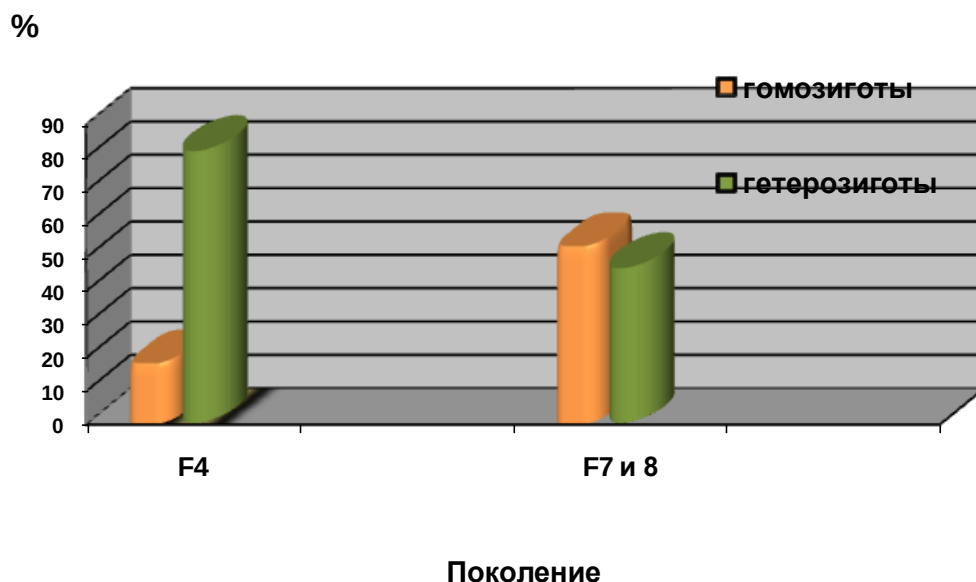


Рисунок 3. – Соотношение гомо- и гетерозигот по локусу трансферрина у амурского сазана 4-го [12] и 7-8-го поколений

Заключение

Таким образом, установлено, что за четыре поколения произошло сужение генетической базы племенного ремонтно-маточного стада амурского сазана. Это подтверждается снижением частоты встречаемости и потерей редких аллелей локуса Tf и снижением частоты встречаемости его гетерозигот. Поскольку эти изменения могут негативно сказаться на результатах дальнейшего сохранения и использования коллекционного генофонда амурского сазана, необходимо восполнить генетическое разнообразие племенного стада скрещиванием с представителями других популяций с известным аллельным составом трансферринового локуса.

Список использованных источников

1. Кирпичников, В. С. Генетика и селекция рыб / В. С. Кирпичников ; отв. ред. В. А. Струнников. – 2-е изд., перераб. и доп. – Л. : Наука, Ленингр. отд-ние, 1987. – 519 с.
2. Грициняк, І. І. Генетична структура порід і породних груп коропів за окремими генетико-біохімічними системами / І. І. Грициняк, Т. А. Нагорнюк, С. І. Тарасюк // Рибогосп. наука України. – 2008. – № 1. – С. 29–33.
3. Катасонов, В. Я. Мечение племенных рыб / В. Я. Катасонов, Ю. П. Мамонтов // Труды / Всесоюз. науч.-исслед. ин-т прудового рыб. хоз-ва. – М., 1974. – Т. 23 : Генетика и селекция карпа и других объектов рыбоводства. – С. 64–71.

4. Инструкция по мечению племенных рыб : утв. М-вом рыб. хоз-ва СССР 15.08.79 / Всесоюз. науч.-исслед. ин-т прудового рыб. хоз-ва. – М. : ВНИИРХ, 1979. – 27 с.
5. Трувелер, К. А. Многоцелевой прибор для вертикального электрофореза в параллельных пластинах полиакриламидного геля / К. А. Трувеллер, Г. Н. Нефедов // Науч. докл. высш. шк. Сер. биол. науки. – 1974. – № 9. – С. 137–140.
6. Devis, B. J. Disc electrophoresis – II. Method and applications to human serum proteins / B. J. Devis // Annals New York Acad. of Sciences. – 1964. – Vol. 121, № 2. – P. 404–427.
7. Таммерт, М. Ф. Вариабельность трансферрина у карпа *Cyprinus carpio* L. / М. Ф. Таммерт // Биохимическая генетика рыб : материалы 1-го Всесоюз. совещ., Ленинград, 6–9 февр. 1973 г. / Ин-т цитологии Акад. наук СССР ; редкол.: А. С. Трошин (отв. ред.) [и др.]. – Л., 1973. – С. 138–140.
8. Салменкова, Е. А. Применение электрофоретических методов в популяционно-генетических исследованиях рыб в пределах их ареалов / Е. А. Салменкова, Т. В. Малинина // Типовые методики исследований продуктивности видов рыб в пределах ареалов : сб. ст. / Акад. наук СССР [и др.] ; отв. ред. Р. С. Вольскис. – Вильнюс, 1976. – Ч. 2. – С. 82–92.
9. Инструкция по серийному мечению племенных производителей карпа органическими проционовыми красителями / А. И. Чутаева [и др.] // Сборник научно-технологической и методической документации по аквакультуре в Беларуси / Ин-т рыб. хоз-ва Нац. акад. наук Беларуси ; сост.: В. В. Кончиц [и др.] ; ред. В. В. Кончиц. – Минск, 2006. – С. 20–25.
10. Промышленное выращивание гибрида изобелинского карпа и амурского сазана / А. И. Чутаева [и др.] // Рыб. хоз-во. – 1981. – № 5. – С. 56–57.
11. Таразевич, Е. В. Промышленная гибридизация карпа с амурским сазаном – метод повышения рыбопродуктивности прудов / Е. В. Таразевич, А. И. Чутаева, Э. К. Скурат. – Минск, 1984. – 4 с. – (Информационный листок / БелНИИНТИ ; № 15).
12. Сравнительная характеристика рыбохозяйственных показателей амурского сазана первого и пятого поколений / М. В. Книга [и др.] // Вопросы рыбного хозяйства Беларуси : сб. науч. тр. / Ин-т рыб. хоз-ва, Науч.-практ. центр Нац. акад. наук Беларуси по животноводству. – Минск, 2007. – Вып. 23. – С. 281–287.