

Генетическая оценка доместигированного сома обыкновенного (*silurus glanis*)

А. А. Иванов

доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой физиологии, этологии и биохимии животных, Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева, Москва, Российская Федерация
E-mail: ayvanov@rgau-msha.ru

М. В. Офицеров

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства, пос. им. Воровского, Московская область, Российская Федерация
E-mail: miha-akademik@yandex.ru

Г. И. Пронина

доктор биологических наук, главный научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства пос. им. Воровского, Московская область, Российская Федерация
E-mail: gidrobiont4@yandex.ru

В. А. Петрушин

научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства пос. им. Воровского, Московская область, Российская Федерация
E-mail: x-bob83@mail.ru

Аннотация

Аналитическая статья посвящена оценке состояния и проведению генетического мониторинга стада доместигированного сома обыкновенного, выращиваемого в рыбноводном хозяйстве. Признано возможным использование полиморфного локуса Pgi-I для названного мониторинга.

Ключевые слова: сом обыкновенный, полиморфизм белка, локус, фосфоглюкоизомераза.

General biology: zoology

Genetic evaluation domestic common catfish (*silurus glanis*)

A. A. Ivanov

Doctor of biological Sciences, Professor, head of the Department of physiology, ethology and biochemistry of animals, Russian state agrarian University – MTAА them. K. A. Timiryazev Moscow, Russian Federation
E-mail: ayvanov@rgau-msha.ru

M. V. Ofitserov

Candidate of biological Sciences, senior researcher, all-Russian scientific research Institute of irrigation fish farming, the village name Vorovskiy, Moscow oblast, Russian Federation
E-mail: miha-akademik@yandex.ru

G. I. Pronina

Doctor of biological Sciences, chief researcher, all-Russian scientific research Institute of irrigation fish farming, the village name Vorovskiy, Moscow oblast, Russian Federation
E-mail: gidrobiont4@yandex.ru

V. A. Petrushin

Researcher, Federal state budgetary scientific institution all-Russian scientific research Institute of irrigation fish farming, the village name Vorovskiy, Moscow oblast, Russian Federation
E-mail: x-bob83@mail.ru

Abstract

Analytical article is devoted to the assessment of the status and conduct of genetic monitoring of herd demetilirovannogo ordinary catfish grown in fish farming. Recognized as possible to use polymorphic locus Pgi-I for named monitoring.

Keywords: Wels catfish, protein polymorphism, locus, phosphoglucomutase.

Обыкновенный сом (*Silurus glanis*, L., рис. 1) является перспективным объектом садкового и бассейнового выращивания и разведения на сельскохозяйственных предприятиях, в хозяйствах любительского и спортивного рыболовства.

Кормом для сома могут служить отходы перерабатывающих производств, земноводные, сорная рыба, что позволяет выращивать его в интегрированных технологиях, а также зарыблять естественные водоемы, в которых обитает большое количество малощенных и сорных рыб.

Особого внимания заслуживает сом как биологический мелиоратор, уничтожающий большую рыбу, которая нередко является источником опасных заболеваний для про-

мысловых видов и даже для человека. Следовательно, сом полезен в любом водоеме, поскольку способен улучшить его санитарное состояние.

Интенсивный промысел сома в естественных водоемах превратил его в редкий вид и обусловил необходимость его разведения в управляемых карповых рыбоводных хозяйствах.

Маточные стада сома обыкновенного могли бы стать источником рыбопосадочного материала (мальки, сеголетки, годовики). По наличию водоемов, отвечающих требованиям выращивания рыбы этого вида, Российская Федерация занимает первое место в мире.

Для внедрения в поликультуру новых объектов прудового рыбоводства необходимы знание особенностей биологии вида, детальный учет имеющегося мирового опыта и создание технологии, адаптированной к существующим условиям разведения и выращивания.

Создание пород сома обыкновенного и разработка теоретиче-



Рис. 1. Сом обыкновенный (*Silurus glanis*, L)

ских и практических основ его доместикации в карповых прудовых хозяйствах позволит ускорить широкое внедрение сома обыкновенного в прудовую поликультуру [14].

Следует подчеркнуть, что для интенсивного культивирования этой рыбы требуются знание особенностей ее генома, а также представления о генетическом разнообразии рыбоводных хозяйств, в которых содержатся стада доместифицированного сома.

В настоящее время молекулярно-генетические методы не только применяются при изучении генетического потенциала объектов сельского хозяйства, но и становятся мощным инструментом для селекционно-племенной работы для повышения продуктивности животных. Даже аквакультура, которая еще явно не исчерпала своих возможностей, предоставляемых методами традиционной селекции, уже не может обходиться без способов, предлагаемых современной генетикой [3, 21, 23, 26].

Одной из таких методик является электрофоретическое исследование полиморфных белковых систем [1, 2, 7]. Возможность использования данной технологии для оценки хозяйственных признаков животных определяется несколькими соображениями.

Альтернативные гены, кодирующие полиморфные белки, могут обладать различным плейотропным воздействием на продуктивные качества животного.

Гены, контролирующие полиморфные белки, способны оказаться в одной группе сцепления с генами, определяющими хозяйственно-полезные признаки [3–5, 12, 13]. Отдельные генотипы могут обладать различной приспособленностью к внешним условиям, что неизбежно отразится на уровне продуктивности разводимых животных. Поэтому при селекционной работе с различными сельскохозяйственными животными, в том числе и с гидробионтами, используется метод исследования полиморфных белковых систем [2, 6].

В модельных опытах обнаружена связь выживаемости севрюги в условиях дефицита кислорода с генотипами по гемоглобину (Hb) и лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Выявлена селективная гибель молоди севрюги, гомозиготной по локусу Tf.

Результаты этих исследований позволили предположить, что у рыб различная селективная ценность генов, кодирующих

электрофоретические фенотипы Hb, ЛДГ и Tf, или эти фенотипы являются маркерами устойчивости рыб к внешним условиям [16].

Кроме того, обнаружена связь устойчивости карпа к краснухе с генотипами локусов трансферрина и эстеразы сыворотки крови [7].

На Кандалакшском рыбоводном заводе был выявлен неконтролируемый генетический отбор у молоди семги, происходящей из реки Лувеньга, против особей с электрофоретическим аллелем IDHP-3*116 по локусу изоцитратдегидрогеназы [13]. Дальнейшие исследования показали, что селективная гибель молоди семги, несущей электрофоретический аллель IDHP-3*116, связана со стрессовым поражением печени молоди с данным аллелем по локусу изоцитратдегидрогеназы [10, 13].

У молоди семги на Кемском заводе обнаружена избирательная гибель носителей одного из генотипов по локусу маликэнзима Мер, хуже приспособленного к содержанию в искусственных условиях [3].

В ходе формирования экспериментального маточного стада семги на Выгском рыбоводном заводе отмечен неконтролируемый отбор по ряду белковых локусов, связанный с тем, что в составе маточного стада были оставлены лишь наиболее крупные и быстрорастущие рыбы [17].

Проведенные электрофоретические исследования популяции клариевого сома, выращиваемого в условиях рыбоводного хозяйства, выявили генетические различия по локусам фосфоглюкозоизомеразы и креатинкиназы как с природными популяциями данного вида, так и с другими рыбоводными популяциями. Причиной обнаруженных различий, предположительно, является ограниченное количество производителей, потомками которого являются исследованные особи, а также дрейф генов [9, 22, 13].

Работ по исследованию полиморфных белковых систем сома обыкновенного мало [25]. В доступных публикациях рассматриваются популяции, обитающие в естественных водоемах. Кроме того, авторы научных трудов использовали метод крахмального электрофореза [20], который дает худшее разрешение, чем планируемый нами к использованию метод электрофореза в полиакриламидном геле (ПАГ). Считаем, что целесообразно, применить метод электрофореза полиморфных

белков для оценки состояния и мониторинга стада domesticiрованного сома обыкновенного.

Материал и методы исследований. В опытах использованы двухлетки сома обыкновенного (рис. 2), выращенные в условиях ООО «Киря» (Чувашия). Кровь, фрагменты плавника от 30 двухлеток сома обыкновенного были взяты прижизненно в октябре 2016 г.

Для получения сыворотки свернувшуюся кровь центрифугировали 15 минут при 4000 об/мин (центрифуга ОПН-28). Отделенную сыворотку отбирали шприцем, не задевая кровяного сгустка.

Пробы кровяных сгустков, сыворотки и плавников были заморожены при температуре минус 20°C для последующей транспортировки и хранения. В замороженном состоянии образцы были доставлены в лабораторию для электрофоретического исследования.

Подготовку проб для электрофореза проводили в следующем порядке.

После размораживания образцов сыворотка крови, кровяной сгусток и ткани плавника смешивали и гомогенизировали в соотношении 1:1 в растворе 20%-ной сахарозы на 0,05М трис-НСl буфере. Далее гомогенаты 15 мин. центрифугировали при 8000 об/мин и отделяли супернатант от осадка. Надосадочную жидкость использовали для электрофоретического разделения. Его проводили в полиакриламидном геле в камерах Трувеллера и Нефедова [16] с использованием методов проведения электрофореза в ПАГ [24, 11, 22].

Разделение лактатдегидрогеназы (LDH, 1.1.1.27), НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (MEP, 1.1.1.40), 6-фосфоглюконатдегидрогеназы (PGDH 1.1.1.44), фосфоглюкоизомеразы (GPI, 5.3.1.9), фосфоглюкомутазы (PGM 5.4.2.2), супероксидсмутазы (SOD, 1.15.1.1), аспаргатаминотрансферазы (ААТ, 2.6.1.1,) лейцинаминопептидазы (LAP, 3.4.11.1) и гемоглобина осуществляли в 12%-ном полиакриламидном геле при напряжении 229 В в течение 4 ч.

Разделение НАД-зависимой малатдегидрогеназы (MDH, 1.1.1.37), глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (G3PDH, 1.1.1.8), флюоресцентной эстеразы (ESTD) и эстеразы (Est,



Рис. 2. Двухлетки сома обыкновенного

3.1.1.1) проводили в 19%-ном полиакриламидном геле 5 ч при напряжении 239 В [24].

Разделение трансферринов (Тf) и миогенов (Му) проводили в 7,5%-ном полиакриламидном геле [11, 22]. Для окрашивания белков-ферментов использовали общепринятые методики [8]. Статистическая обработка осуществлялась методом Х².

Результаты исследований и обсуждение. Судя по массе и длине тела, двухлетки сома обыкновенного, выращенного в карповом рыбноводном хозяйстве 2-й зоны рыбноводства, были достаточно упитанными (табл. 1).

Таблица 1

Размерно-весовые и гематологические показатели сома обыкновенного (n = 30)

Показатель	Значение
Масса тела, г	560 ± 68
Длина тела, см	40 ± 2
Гемоцитобласты, эритроциты, млн/мкл	0,3 ± 0,2
Нормобласты, млн/мкл	2,3 ± 0,2
Базофильные эритроциты, млн/мкл	8,2 ± 1,2
Зрелые эритроциты, млн/мкл	89 ± 1,4
Лейкоцитарная формула, %	
Миелобласты	0
Промиелоциты	0,5 ± 0,2
Миелоциты	0,7 ± 0,2
Метамиелоциты	2,3 ± 0,3
Палочкоядерные нейтрофилы	3,4 ± 0,6
Сегментоядерные нейтрофилы	8,8 ± 2
Эозинофилы	0,3 ± 0,2
Базофилы	0,3 ± 0,2
Моноциты	2,5 ± 0,8
Лимфоциты	81 ± 2

Таблица 3

Распределение электрофоретических фенотипов локуса Pgi-I* в мышцах сома обыкновенного

Локус	Фенотип	Фенотип наблюдаемый (ожидаемый)
Pgi-I*	80/80	10 (10,21)
	80/100	15 (14,58)
	100/100	5 (5,21)
	Σ	30
	χ ²	0,024 (p < 0,001)

Гематологические (активность эритропоэза, лейкограмма) и биохимические показатели сыворотки крови (активность ферментов: трансаминаз (АЛТ и АСТ), креатинкиназы (КК), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), содержание субстратов, метаболитов и анаболитов – глюкозы, общего белка, альбумина, мочевины, триглицеридов, холестерина, гемоглобина) изучаемых рыб (табл. 1, 2) находились в пределах физиологической нормы для данного вида [15].

Таблица 2

Биохимические показатели крови сома обыкновенного (n = 30)

Показатель	Значение
АЛТ, ед./л	56 ± 8
АСТ, ед./л	280 ± 63
ЩФ, ед./л	13 ± 7
КК, ед./л	2533 ± 465
ЛДГ, ед./л	1100 ± 111
Лактатат, мг/дл	84 ± 8
Глюкоза, ммоль/л	5,4 ± 0,9
Альбумин, г/дл	16 ± 1
Мочевина, мг/дл	0,7 ± 0,5
Общий белок, г/л	25 ± 1,7
Триглицериды, мг/дл	70 ± 3
Холестерин, мг/дл	157 ± 10
Гемоглобин, г/%	6,7 ± 0,27

В исследованной выборке рыб в пределах локуса фосфоглюкоизомеразы (Pgi-I*), выявлено два аллеля, что позволяет говорить о его полиморфности (рис. 3). Полиморфизм обнаружен также по локусу НАД-зависимой малатдегидрогеназы.

Все остальные исследованные белковые системы (лактатдегидрогеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа, фосфоглюкомутаза, супероксидисмутаза, аспартат-аминотрансфераза, лейцинаминопептидаза, гемоглобин, глицерол-3-фосфатдегидрогеназа, флюоресцентная эстераза эстераза, трансферины и миогеины) в данной выборке оказались мономорфными.

Распределение электрофоретических фенотипов локуса Pgi-I* в мышцах двухлетков из популяции одомашненного сома представлено в табл. 3.

Обнаруженное соотношение фенотипов в исследованном локусе Pgi-I* соответствовало теоретически ожидаемому по закону Харди – Вайнберга – Кастла. Половой диморфизм не влиял на полиморфизм локуса Pgi-I*. В частности, различий между самцами и самками по частотам и распределению фенотипов в локусе Pgi-I* не выявлено.

По частотам локуса Pgi-I* (табл. 4) исследованная выборка рыбы генетически наиболее близка к обитающей в реке Луара (Франция) популяции сома обыкновенного, о чем свидетельствуют соответствующие исследования европейских ученых [25] и анализ результатов наших исследований.

Таким образом, выполненные исследования показали, что полиморфный локус Pgi-I* сома обыкновенного может быть использован для разработки методов генетического мониторинга сома в составе одомашненной субпопуляции в условиях современной аквакультуры.

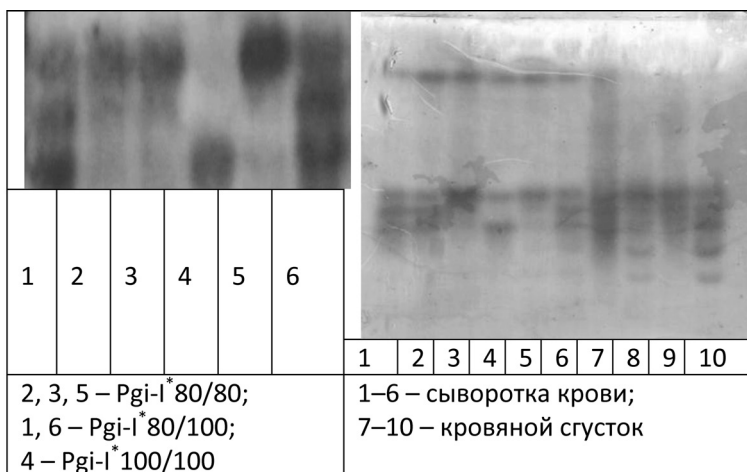


Рис. 3. Электрофореграммы локуса Pgi-I сома обыкновенного

Таблица 4

**Частоты аллелей локуса Pgi-I*
в мышцах сома обыкновенного**

Локус	Аллель	Частота
Pgi-I*	Pgi-I* 80	0,583 ± 0,064
	Pgi-I* 100	0,417 ± 0,064

Литература

1. Айала Ф., Кайгер Дж. Современная генетика. 1988. М.: Мир. Т. 3. 335 с.
2. Алтухов Ю. П. Генетика популяций и сохранение биоразнообразия. Соросовский образовательный журнал. 1995. № 1. С. 32–43.
3. Артамонова В. С. Генетические маркеры в популяционных исследованиях атлантического лосося (*Salmo salar* L) I. Признаки кариотипа и аллозимы. Генетика. 2007. Т. 43. № 3. С. 296–307.
4. Демкина Н. В., Шарт Л. А. и др. Использование биохимических маркеров для оценки генетического разнообразия стад стерляди (методические указания): сб. науч.-технол. и метод. документации по аквакультуре. М.: ВНИРО, 2001. С. 105–117.
5. Евсюков А. Н., Офицеров М. В., Кононов И. В. Анализ корреляции между длиной тела и генетическим полиморфизмом по локусам ESTD-I и IDHP-3 у атлантического лосося *Salmo salar*. Генетика. Т. 38. № 7. 2002. С. 965–971.
6. Жебровский Л. С., Митютько В. Е. Использование полиморфных белковых систем в селекции. Л.: Колос, 1979. 183 с.
7. Кирпичников В. С. Генетика и селекция рыб. Л.: Наука, 1987. 520 с.
8. Корочкин Л. И. Генетика изоферментов. М.: Наука, 1977. 275 с.
9. Лабенец А. В., Офицеров М. В. Генетическая изменчивость полиморфных ферментных локусов в отечественной популяции клариевого сома. Вестник Россельхозакадемии. 2010. № 3. С. 73–75.
10. Мальдов Д. Г., Офицеров М. В., Дадашев С. Я. Исследование физико-химических свойств разных форм изоцитратдегидрогеназы из печени семги / Экологическая генетика растений, животных, человека: м-лы науч. конф. Кишинев, 1991. С. 145.
11. Маурер Г. Диск-электрофорез. М.: Мир, 1971. 247 с.
12. Офицеров М. В., Голованова Т. С. и др. Влияние заводского выращивания на генетическое разнообразие молоди атлантического лосося *Salmo salar*. Вопросы ихтиологии. 1989. Т. 29. Вып. 5. С. 871–874.
13. Офицеров М. В., Мальдов Д. Г. Аллель IDHP-3*116 – маркер неустойчивости к факторам внешней среды у семги. Доклады РАН, 1994. Т. 338. № 1. С. 134–137.
14. Петрушин В. А., Петрушин А. Б. Формирование маточных стад сома обыкновенного (*Silurus glanis* L.) в карповых рыбоводных хозяйствах. Вестник РАСХН. 2013. № 6. С. 62–64.
15. Пронина Г. И., Корягина Н. Ю. Референтные значения физиолого-иммунологических показателей гидробионтов разных видов. Вестник Астраханского государственного технического университета. 2015. № 4. С. 103–108.
16. Трувеллер К. А., Нефедов Г. Н. Многоцелевой прибор для вертикального электрофореза в параллельных пластинах полиакриламидного геля. Доклады высшей школы. Сер.: Биологические науки. 1974. № 9. С. 137–140.
17. Чихачев А. С., Реков Ю. И. Генетическая структура популяций азовских осетровых. Р/Д, 1981. С. 36–38.
18. Шарт Л. А., Баранова Н. А. и др. Использование биохимических маркеров для оценки генетического разнообразия стад сибирского осетра: сб. науч.-технол. и метод. документации по аквакультуре. М.: ВНИРО, 2001. С. 94–104.
19. Artamonova V. S., Mahrova A. A., Popova E. K. Unintentional Selection in Captive Broodstocks Intended for Restoring Natural Populations: Description of the Phenomenon and Novel Method of Controlling It. / Stream Restoration: Halting Disturbances, Assisted Recovery and Managed Recovery. G.D. Hayes and T.S. Flores (eds.) New York: Nova Science Publishers, Inc., 2010, pp. 149–160.
20. Chombard C. Etude des variations electrophoretiques de populations de *Silurus glanis* (L.1758). *DEA de Biodiversite, Genetique et Evolution*. Paris. 1993, p. 25.
21. Cross T. F., Ward R. D. Protein variation and duplicate loci in the Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *Genet. Res. Camb.*, 1980, no. 36, pp. 147–165.

22. Davis B. J. Disk-electrophoresis. Method and application to human serum proteins. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1964, vol. V, no. 121, pp. 404–427.
23. Jordan W. C., Youngson A. F. Genetic protein variation and natural selection in Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) parr. *Journal of Fish Biology*, 1990, no. 39 (Supplement A), pp. 185–192.
24. Peacock A. C., Bunting S. L., Queen K. G. Serum protein electrophoresis in acrilamide gel. *Science*, 1965, no. 147, pp. 1451–1452.
25. Triantafyllidis A., Ozouf-Costaz C., Rab P. et al. Allozyme variation in European silurid catfishes, *Silurus glanis* and *Silurus aristotelis*. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1999, vol. 1, no. 27, pp. 487–498.
26. Verspoor E., Jordan W. C. Genetic variation at the Me-2 locus in the Atlantic salmon within and between rivers evidence for its selective maintenance. *Journal of Fish Biology*, 1989, no. 35 (Supplement A), pp. 205–213.
7. Kirpichnikov V. S. (1977) Genetics and breeding of fish. Leningrad, Nauka Publ., 1987, 520 p.
8. Korochkin L. I. (1977) Genetics of isoenzymes. Moscow, Nauka Publ., 275 p.
9. Labunets A. V., Officerov M. V. (2010) Genetic variability of polymorphic enzyme loci in the domestic population cleavage soma. *Bulletin of the RAAS*, no. 3, pp. 73–75.
10. Mal'dov D. G., Officerov M. V., Dadashov S. Ya. (1991) [Study of physico-chemical properties of different forms of isositrate dehydrogenase from the liver of salmon]. Proc. Sie. Conf. Environmental Genetics of Plants, Animals, Man. Kishinev, p. 145.
11. Maurer G. (1971) Disc-electrophoresis. Moscow, Mir Publ., 247 p.
12. Officerov M. V., Golovanova T. S. et al. (1989) Influence of plant cultivation on the genetic diversity of juvenile Atlantic salmon *Salmo salar*. *Questions of ichthyology*, vol. 29, no. 5, pp. 871–874.
13. Officerov M. V., Mal'dov D. G. (1994) Allele IDHP-3*116 – the marker of the instability to environmental factors in salmon. *Reports of RAS*, vol. 338, no. 1, pp. 134–137.
14. Petrushin V. A., Petrushin A. B. (2013) Formation of uterine stud common catfish (*Silurus glanis* L.) to cyprinid fish farms. *Bulletin of the RAAS*, no. 6, pp. 62–64.
15. Pronina G. I., Koryagina N. Y. (2015) Reference values of physiological and immunological parameters of hydrobionts of different species. *Vestnik of Astrakhan State Technical University*, no. 4, pp. 103–108.
16. Truveller K. A., Nefedov G. N. (1974) Multipurpose apparatus for vertical electrophoresis in parallel polyacrylamide gel plates. *Proceedings of higher school. Ser.: Biological Sciences*, no. 9, pp. 137–140.
17. Chikhachev A. S., Rekov Y. I. (1981) Genetic structure of populations of the Azov sturgeon. R/D, pp. 36–38.
18. Shart L. A., Baranova N. A. etc. (2001) Use of biochemical markers for assessment of genetic diversity stud Siberian sturgeon: documentation on aquaculture. Moscow, VNIRO Publ., pp. 94–104.

References

1. Ayala F., Kayger J. (1988) The modern genetics. Moscow, Mir Publ., vol. 3, 335 p.
2. Altukhov Yu. p. (1995) Population Genetics and biodiversity conservation. *Soros Educational Journal*, no. 1, pp. 32–43.
3. Artamonova V. S. (2007) Genetic markers in population studies of Atlantic salmon (*Salmo salar* L) I. Characteristics of the karyotype and allozyme. *Genetics*, vol. 43, no. 3, pp. 296–307.
4. Demkina N. V., Shart L. A. (2001) Use of biochemical markers for assessment of genetic diversity stud sterlet (guidance): documentation on aquaculture. Moscow, VNIRO Publ, pp. 105–117.
5. Evsyukov A. N., Officerov M. V., Kononov V. I. (2002) Analysis of correlation between body length and the genetic polymorphism for the loci ESTD-I and IDHP-3 in Atlantic salmon *Salmo salar*. *Genetics*, vol. 38, no. 7, pp. 965–971.
6. Zhebrovsky L. S., Mituhiko V. E. (1979) Use of polymorphic protein systems in plant breeding. Leningrad, Kolos Publ., 183 p.