

Перспективы использования цитогенетики в селекции рыб на примере сома обыкновенного (*Silurus glanis* L.)

Н. И. Маслова, А. Б. Петрушин, Г. И. Пронина

Государственное научное учреждение
Всероссийский научно-исследовательский институт
ирригационного рыбоводства Россельхозакадемии (ГНУ ВНИИР)

Селекционный процесс значительно влияет на структуру и состав хромосомного аппарата, что отражается на показателях кариотипа. Происходят изменения числа хромосом, а также их плеч (при неизменном количестве хромосом). Под давлением селекции происходит дрейф генов, мутации, которые чаще всего проявляются в транслокациях. Однако встречаются делеции, дупликации, инверсии. Цитогенетические исследования позволят не только оценивать и прогнозировать результаты селекции, но и направлять этот процесс.

Ключевые слова: цитогенетика, селекция, хромосомный аппарат, геномный анализ, мутации, плечи хромосом, дрейф генов.

Основной предмет исследования цитогенетики — хромосомы, их морфология, структурная и химическая организация, функция и поведение в делящихся и неделящихся клетках [1]. Цитогенетические методы используются для:

- выявления числовых и структурных аномалий хромосом в породах, линиях и кроссах;
- изучения связей хромосомных нарушений с воспроизводительной способностью, продуктивностью, жизнеспособностью, болезнями животных и т. д.;
- установления филогенетических связей между группами животных (видами, породами, линиями);
- изучения эволюции кариотипа животных;
- построения карт хромосом;
- цитогенетического контроля процесса селекции животных по маркерным хромосомам;
- тестирования по хромосомным нарушениям повреждающего действия физических, химических, биологических факторов.

В. А. Геодакян [2] сформулировал принцип, согласно которому любая эволюционирующая система, находящаяся во взаимодействии со средой, вычленяет из себя подсистемы с постоянной и оперативной памятью. Таковы пары ДНК — белок, ядро — цитоплазма, половые клетки — соматические клетки, женский пол — муж-

ской пол (первый компонент выполняет эволюционную задачу сохранения, а второй — изменения).

Например, позиции теломер разных видов млекопитающих консервативны, а центромеры показывают значительную корреляцию, так как позиции предковых центромер использовались многократно, независимо от возникновения хромосомных перестроек (разрывов и слияний) в разных геномах. При этом новые центромеры формировались либо в местах обрыва старых, либо разрыв происходил не по центромере, а сразу после неё, и тогда предковая центромера сохранялась на конце одного из вновь образовавшихся фрагментов [3].

Хромосомный анализ является органической частью геномного анализа. Существует теория о том, что по мере продвижения от примитивных к более высокоорганизованным группам происходит уменьшение как числа хромосом, так и количества ДНК в геноме. Данный вывод основан на сопоставлении генотипов, в том числе рыб. Уменьшение числа хромосом связано со специализацией видов, требующей ограничения комбинации генетического материала. Это так называемая «гипотеза слияния». Изменение числа хромосом и количества ДНК в ядре может быть результатом приспособления к специфическим условиям существования, в частности, к необходимости изменения уровня метаболизма [4].

С другой стороны, согласно альтернативной «гипотезе расщепления» (robertsonian fission) в процессе эволюции число хромосом увеличивалось, а их размер уменьшался. В частности, у муравьев с набором $n < 12$ хромосомы действительно более крупные, а с $n > 12$, как правило, мелкие. В роде *Murmeicia* отмечается большое разнообразие числа хромосом. Диплоидный набор хромосом у самок и рабочих муравьев варьирует в огромных пределах: $2n = 9-84$ [5].

Изменение кариотипа может происходить не только за счет увеличения или уменьшения числа хромосом, но и за счет увеличения или уменьшения числа хромосомных плеч при постоянстве числа хромосом. В действительности все эти тенденции в различной степени дополняют друг друга в ходе эволюции хромосомных наборов той или иной группы. Оценка хромосомных плеч довольно условна. Согласно классификации, базирующейся на соотношении плеч хромосомы ($r = L/S$, где L — длина длинного плеча хромосомы, S — короткого) [6], хромосомы делятся на 5 групп: телоцентрические (Т), акроцентрические (А), субтелоцентрические (ST), субметацентрические (SM) и метацентрические (М). Предложенные позже, более совершенные классификации [7] основаны на неслучайном местоположении центромеры.

Большинство авторов по центромерным индексам (CI) выделяет 4 вида хромосом. Однако их мнения не всегда совпадают. Одни [8] выделяют метацентрики (М), субметацентрики (SM), субтелоцентрики (ST) и телоцентрики (Т). Другие [9] относят двуплечие хромосомы к акроцентрическому типу (аналог телоцентриков). Количество ответвлений (фундаментальное число) не всегда определено, так как нет единой классификации метафазных хромосом. Одни авторы основываются на определении количества плеч удвоенных хромосом, другие рассматривают одинарные хромосомы. Кроме того, трудно провести границу (особенно у рыб) между субтелоцентрическими и субметацентрическими хромосомами. Тем не менее в соответствии с обоими вариантами классификации метацентрические хромосомы являются равноплечими, субтелоцентрические — резко неравноплечими, а в акроцентрических хромосомах центромера расположена очень близко к одному из концов хромосом.

Одним из наиболее распространенных механизмов эволюционных изменений ка-

риотипа являются робертсоновские преобразования, при которых две акроцентрические (одноплечие) хромосомы, соединяясь своими центромерными участками, формируют одну метацентрическую (двуплечую) хромосому или одна двуплечая хромосома разделяется на две акроцентрические (классификация по неудоенным хромосомам). Помимо этого, изменение кариотипа может происходить за счет теломерных соединений хромосом [10].

Успешность хозяйственного использования природных популяций сопряжена не столько с их эволюцией, сколько с устойчивостью, сохранением в чреде поколений присутствующего каждой из них исторически сложившегося генетического своеобразия [11].

Данные современных исследований показывают, что во всех популяциях существует значительная генетическая изменчивость, которая может служить материалом для преобразований вида. В процессе одомашнивания животные адаптируются к новым условиям среды, и тогда начинают действовать генетические механизмы изменчивости: мутационная (следствие мутации) и комбинативная, являющаяся результатом генетической рекомбинации при мейозе. При этом происходит изменение типа, числа или порядка расположения нуклеотидов в генетическом материале.

Генные (точечные) мутации связаны с изменением нуклеотидной последовательности ДНК одного гена. Мутации хромосом происходят из-за их структурных изменений (делеция, дупликация, инверсия, транслокация, транспозиция).

Геномные мутации связаны с изменением числа хромосом (полиплоидия, анеуплоидия).

Хромосомные нарушения возникают при мейозе в гаметах после оплодотворения и на первых этапах дробления зиготы. Многие врожденные пороки формируются в раннем эмбриогенезе.

Так, у крупного рогатого скота хромосомные нарушения выявляются в 4–5% случаев аборт, у свиней — в 10%, у кроликов — в 5%. Трисомия аутосом у животных приводит к прекращению беременности. У коров моносомия и трисомия приводят к гибели плодов в течение первой трети стельности.

А. В. Бакай с соавторами [12] установили, что у высокопродуктивных коров (надой свыше 6 500 кг молока) выше уровень

гиперплоидии (0,7%) и хромосомных перестроек (0,6%), чем у коров с удоем до 4 500 кг (0,48% и 0,37%, соответственно).

Быстрее растут и лучше развиваются животные, имеющие минимальный уровень хромосомной изменчивости. Обнаружена положительная связь с уровнем спермопродукции. Большинство исследователей считают, что быков-носителей транслокаций не следует использовать для искусственного осеменения.

Число хромосом определено более чем у 1 700 видов рыб и рыбообразных, однако только немногие работы затрагивают проблему селекции [13].

У рыб, как и других животных, хромосомный аппарат не остается неизменным. Хромосомные перестройки составляют большую группу мутаций. Закономерности изменений структуры хромосом были описаны в работах М. А. Пенкина [14]. Например, отмечено, что генотоксические вещества с различным механизмом действия на полигенные хромосомы хирономид и митотические хромосомы эпителия хрусталика глаза рыб и амфибий вызывают однотипные aberrации, включающие деструкцию и фрагментацию хромосом, а при митозе — поражение аппарата деления клетки, что ведет к нерасхождению хромосом и образованию мостов.

У костных рыб функционируют уникальные механизмы высокой мутабельности хромосом. Они определяют более высокий уровень цитогенетической изменчивости этого класса по сравнению с другими классами позвоночных животных [15].

Сравнение генотипов сомовых показало значительные колебания. У южноамериканских видов рода *Corydoras* число хромосом в диплоидном наборе варьирует от 44 (*Corydoras puleutus*) до 132 (*Corydoras aeneus*). *Liobagrus undersoni* имеет $2n=28$ хромосом, *Corydoras aeneus* (*Callichthyidae*) — 2 хромосомы [8].

Результаты цитогенетического исследования дают основания отнести сома обыкновенного к высокоорганизованным видам. Морфологически определены кариотипы некоторых видов рода *Siluridae*. Соматический кариотип дальневосточного сома *Silurus* (*Parasilurus*) *asotus* представлен ($2n=58$): 18 метацентрическими, 20 субметацентрическими, 16 субтелоцентрическими и 4 акроцентрическими хромосомами. У данных рыб осуществлена индукция триплоидии; у триплоидов отме-

чено $3n=87$, морфологически хромосомный набор легко разделяется на гомологичные «тройки» [16].

У вида *Silurus glanis* L в диплоидном наборе также 58 хромосом. Из них 13 пар — метацентрические, 13 — субметацентрические, 3 — акроцентрические (a); число плеч (NF) равно 110 [9].

Естественный отбор мало действует на носителей транслокаций, поэтому они могут сохраняться в селекционируемой популяции, приводя к нежелательным явлениям. При высоком уровне хромосомной aberrации увеличивается эмбриональная смертность. Совокупность теоретических и экспериментальных данных (в основном в животноводстве) показала, что в практике селекции животных, в том числе и рыб, возможно использование маркированных aberrантных хромосом для цитогенетического контроля.

При селекции происходит дрейф генов, что впоследствии нашло подтверждение в трудах многих отечественных и зарубежных ученых [17]. Предстоит установить, затрагивает ли этот процесс структуру хромосомного аппарата.

Вместе с тем В. С. Кирпичников [4] отмечает, что транслокации происходят достаточно часто, так как даже близкие виды рыб отличаются по структуре кариотипа и эти отличия во многих случаях являются результатом эволюционного закрепления транслокаций, которые могут сопровождаться уменьшением или увеличением числа хромосомных плеч. Довольно часты так называемые Робертсоновские транслокации или центрические слияния. Например, происходит разрыв одной акроцентрической хромосомы около центромеры, к месту разрыва присоединяется другая (целая или почти целая) хромосома, также акроцентрическая. В результате две акроцентрические хромосомы превращаются в одну метацентрическую. Число плеч в этом случае остается неизменным. При обратном процессе — центрическом разделении — нужна лишняя центромера, что вполне возможно при прямом делении центромеры на две дочерние [7].

Сравнительный анализ данных, представленный в таблице, дает представление о достаточно высокой изменчивости структуры хромосомного аппарата. Количественный набор хромосом (за исключением данных по Турции и территории бывшей Югославии)

| Характеристика хромосом у сома обыкновенного в разных экологических зонах | | | | | | |
|---|----------------|-----|----------------------|----|----|----|
| Автор, страна | Хромосомы, шт. | | | | | |
| | 2n | NF | Гаплоидный набор (n) | | | |
| | | | m | sm | st | a |
| Aygin, 2005, Турция [9] | 58 | 110 | 13 | 13 | | 3 |
| Meszaros et al., 1975, Венгрия [18] | 60 | 100 | 20 | | | 10 |
| Krasznai, Miriin, 1978, Венгрия [19] | 60 | 100 | 20 | | | 10 |
| Rab, 1981, Чехословакия [20] | 60 | 120 | 14 | 13 | 3 | |
| Sofradzija, 1982, Югославия [21] | 60 | 98 | 19 | | | 11 |
| Vujosevic et al., 1983, Югославия [22] | 60 | 94 | 8 | 9 | 7 | 6 |
| Al-Sabti, 1987, Югославия [23] | 48 | 78 | 15 | | 9 | |
| Васильев, 1985, Россия [24] | 60 | 110 | 9 | 16 | | 5 |
| Rab., Maug, Roth, 1991, Чехословакия [18] | 60 | 120 | 11 | 19 | | |

Примечание: NF — число плеч хромосом, sm — субметацентрики, m — метацентрики, st — субтелоцентрики, a — акроцентрики.

находится в пределах $2n=60$, в то время как количество плеч и соотношений типов хромосом достаточно изменчивы.

Например, результаты исследований показали, что у сомов, обитающих на территориях Венгрии [19] и бывшей Чехословакии [20], количество хромосом ($2n=60$) одинаково. Однако количество хромосомных плеч у венгерских и чехословацких сомов различно: 100 и 120 шт., соответственно. Очевидно, произошло разделение метацентрических хромосом: их количество уменьшилось до 14 (против 20), а также появились субметацентрики и субтелоцентрики. Необходимо отметить, что у венгерских сомов [18, 19]

не были выявлены субметацентрические и субтелоцентрические хромосомы. В бывших Югославии [23] и Чехословакии [18, 20] у сомов акроцентриков не обнаружили.

Изменчивость структуры хромосомного аппарата у сомов из разных стран, вероятно, связана с различиями в условиях сред их обитания. Анализ таблицы показывает необходимость унификации классификации хромосом в кариограммах рыб.

Вышеизложенное дает основание полагать, что селекционный процесс рыб, в частности сома обыкновенного, можно контролировать по хромосомным изменениям с помощью цитогенетических исследований.

Литература

1. Петухов В. Л., Эрнст Л. К., Гудилин И. И. и др. Генетические основы селекции животных. — М.: Агропромиздат, 1989. — 448 с.
2. Геодакян В. А. О структуре эволюционирующих систем // Проблемы кибернетики. — М.: Наука, 1972. — № 25. — С. 81–91.
3. Ларкин Д. М. Закономерности эволюции хромосом млекопитающих // Вестник ВОГиС. — 2007. — Т. 11. — №2. — С. 353–362.
4. Кирпичников В. С. Генетика и селекция рыб. — Л.: Наука, 1987. — 520 с.
5. Красильников В. А. Хромосомные рекорды муравьев // Биология. — 2005. — № 18.
6. Levan A., Fredga K., Sandberg A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes // Hereditas. — 1964. — V. 52. — P.201–220.
7. Imai H. T., Crozier R. H. Quantitative analysis of directionality in mammalian karyotype evolution // Amer. Nat. — 1980. — V. 116. — P. 537–569.
8. Volckaert F. A., Agnese J. F. Evolutionary and population genetics of Siluroidei. The biology and culture of catfishes // Aquat. Living Resour. Hors serie. — 1996. — V. 9. — P. 81–92.
9. Aygin D. Kizilirmak (Kayseri) ta yasayan Silurus glanis L. 1758 in karyotip analizi // Ulusal su gunleri (Trabzon). — 2005. — Eylul. 28–30. — S.585-587.
10. Макоедов А. Н. Карелолия, биохимическая генетика и популяционная фенетика лососевидных рыб Сибири и Дальнего Востока: сравнительный аспект. — М.: УМК «Психология», 1999. — 291 с.
11. Алтухов Ю. П. Генетические процессы в популяциях. 2-е изд. — М.: Наука, 1989. — 328 с.
12. Бакай А. В., Перчихин Ю. А., Семенов А. С. и др. Влияние уровня кариотической изменчивости на репродуктивные качества коров черно-пестрой породы // Цитогенетика и биотехнология: материалы 2-й Всесоюз. конф. по цитогенетике с.-х. животных. — Л.: Пушкин, 1989. — С. 23–31.

13. Кирпичников В. С. Генетические основы селекции рыб. — Л.: Наука, 1979. — 391 с.
14. Пенкин М. А. Цитогенетические аспекты хронического воздействия мутагенных факторов на гидробионтов // Автореф. на соиск. уч. степ. канд. биол. наук. — М., 2008. — 23 с.
15. Митрофанов Ю. А. Особенности изменчивости наследственного аппарата костных рыб // Тезисы докладов III Всесоюзного совещания по генетике, селекции и гибридизации рыб. — Тарту, 1986. — С. 139–141.
16. Hongbin Y., Zhongwu S., Weizhi P. Shuichan xuebao, 1996. — V. 2. — P.178–182.
17. Wright S. Modes of selection // Amer. Nat. — 1956. — V. 9. — P. 5–24.
18. Rab P., B. Mayr, P. Roth Chromosome banding study of European catfish, *Silurus glanis* (Pisces, Siluridae) // Genetica. — 1991. — V. 83. — P. 153-157.
19. Krasznai Z. Id., Miriin T. Results of karyological and scrological investigations on *Silurus glanis* // 1 International seminar on increasing the productivity by selection and hybridisation, 19-23 September, Svarvas, Hungary, 1978. — P. 112–120.
20. Rab P. Karyotype of European catfish *Silurus glanis* (Siluridae, Pisces), with remarks on cytogenetics of siluroid fishes // Fol. Zool. — 1981. — V. 30. — P. 271–286.
21. Sofradzija A. Chromosomes of the species *Silurus glanis* L. 1758. (Siluridae, Pisces) // Genetics. — 1982. — V. 14. — P. 103–110.
22. Vujosevic M., Zikovic S., Rimsa L. et al. The chromosomes of 9 fish species from Dunav basin in Yugoslavia // Ichthologia. — 1983. — V. 15. — P. 29–40.
23. Al-Sabti K. Cytogenetic studies on five species of Pisces from Yugoslavia // Cytobios. — 1987. — V. 49. — P. 198–199.
24. Vasiljev V. P. Evolutionary karyology of fishes // Nauka Publishers, Moscow, 1985. — 300 p.

N. I. Maslov, A. B. Petrushin, G. I. Pronin

PROSPECTS OF CYTOGENETICS APPLICATION IN FISH BREEDING IN THE CASE OF SILURUS GLANIS L. AS AN EXAMPLE

The selection process considerably has effect on the structure and composition of the chromosomal apparatus, which reflects on the karyotype characteristics. The number of chromosomes and their arms (for a fixed number of chromosomes) is changing. Because of selection the drift gene, mutations (which are most often seen in translocations) take place. However, there are deletions, duplications, inversions. Cytogenetic studies will not only evaluate and predict the results of selection, but also guide this process.

Key words: *cytogenetics, breeding, chromosome apparatus, genomic analysis, mutation, chromosome arms, genetic drift.*

ГИСТОЛОГИЧЕСКАЯ ЛАБОРАТОРИЯ



СТАНЦИЯ ДЛЯ ЗАЛИВКИ ПАРАФИНОМ LEICA TP 1020 И АППАРАТ ГИСТОЛОГИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКИ ТКАНЕЙ LEICA EG 1160

Назначение: заливка гистологических срезов в парафин (соответствует современному научно-техническому уровню и международному стандарту ИСО 9000, обеспечивает быстрое изготовление высококачественных парафиновых блоков, что в свою очередь облегчает изготовление качественного информативного среза, свободного от артефактов).

Лаборатория стандартизации и сертификации в пищевой промышленности
в составе Центра инструментальных методов и инновационных технологий анализа веществ и материалов РУДН,
117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 8/2, аграрный факультет РУДН.