

РГБ ОД

/ 3 МАЙ 1993

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ

ПРУДОВОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА (ВНИИПРХ)

На правах рукописи

Демкина Наталья Викторовна

БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ РАЗЛИЧНЫХ ПОРОДНЫХ

ГРУПП КАРПА

03.00.10 - ихтиология

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва -1993

ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ

ПРУДОВОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА (ВНИИПРХ)

На правах рукописи

Демкина Наталья Викторовна

БИОХИМИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ РАЗЛИЧНЫХ ПОРОДНЫХ

ГРУПП КАРПА

03.00.10 - икhtiология

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва -1996

С. С. Сидорова

Работа выполнена во Всероссийском научно-исследовательском институте прудового рыбного хозяйства (ВНИИПРХ)

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Ю. И. Ильясов

Официальные оппоненты: доктор биологических наук;
профессор А. А. Яржомбек

кандидат биологических наук
А. Н. Пахсова

Ведущее учреждение - Государственный научно-иссле-
довательский институт озерного и реч-
ного рыбного хозяйства (ГосНИОРХ)

Защита диссертации состоится 25 мая 1993 г. в 11 час. на
заседании специализированного совета Д 117.04.01 во Всерос-
сийском научно-исследовательском институте прудового рыб-
ного хозяйства (ВНИИПРХ) по адресу: 141821 Московская обл.,
Дмитровский р-н, пос. Рыбное, ВНИИПРХ.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИПРХ.

Автореферат разослан "23" апреля 1993 г.

Ученый секретарь
специализированного совета
кандидат биологических наук

С. П. Трямкина

Актуальность исследований. Одним из условий увеличения производства товарной рыбы является проведение работ по улучшению существующих и созданию новых пород рыб, в первую очередь карпа, как основного объекта прудовой аквакультуры. Генофонд карпов и сазанов в нашей стране достаточно велик, ведь здесь встречается два подвида сазанов (*Cyprinus carpio carpio* и *C. carpio haematopterus*) и множество локальных популяций карпа, как беспородного, так и прошедшего несколько поколений селекции. Появление многочисленных работ по изучению биохимического полиморфизма карпа и сазана продиктовано необходимостью оценить генетический потенциал существующих групп (Кирпичников, 1987). Использование электрофоретических вариантов полиморфных белков в качестве генетических маркеров позволяет идентифицировать отдельные популяции, маркировать стада, отводки или потомства индивидуальных скрещиваний, выявлять родственные связи между группами, следить за изменениями, происходящими в процессе селекции, эксплуатации или акклиматизации различных групп рыб.

Цели и задачи работы. Целью настоящей работы являлось изучение биохимического полиморфизма нескольких породных групп карпа - среднерусского, парского, краснодарского и белорусского. В задачи исследований входило:

- описание фенотипического и аллельного разнообразия по локусам трансферринов (Tf), сывороточных эстераз (Est-1) и миогенов (My) различных породных групп карпа,
- использование данных биохимического тестирования для выявления засорения в маркированных отводках среднерусского карпа,
- анализ изменений в генетической структуре групп на протяжении нескольких поколений селекции,
- сравнение групп карпа разного происхождения по частотам полиморфных белковых локусов.

Научная новизна и практическая значимость работы. В работе проанализированы результаты многолетнего изучения полиморфизма по локусам Tf и Est-1 различных отводок среднерусского и краснодарского карпов (непосредственно автором исследования проведены в течение семи и четырех лет соответственно). Описан биохимический полиморфизм у парского и белорусского кар-

пов. Показана целесообразность и эффективность использования данных биохимического тестирования для поддержания "чистоты" селекционируемого материала, для оценки генетических преобразований в группах, вызванных отбором или изменением места обитания. Подтверждена возможность установления родственных связей на основании анализа частот полиморфных локусов Tg и Mu у карпа. Даны рекомендации по генетическому маркированию линий белорусского карпа.

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на Всесоюзной конференции молодых ученых, Москва, 1978, на 2-м Всесоюзном совещании по биохимической генетике, кариологическому полиморфизму и мутагенезу у рыб, Ленинград, 1979, на 2-м Всесоюзном совещании по генетике и селекции рыб, Ростов-на-Дону, 1981, на 3-м Всесоюзном совещании по генетике, селекции и гибридизации рыб, Тарту, 1986, на методическом совете и коллоквиумах селекционно-генетического центра ВНИИПРХ.

Объем работы. Диссертация изложена на 118 стр. машинописного текста и состоит из введения, девяти глав, заключения и выводов. Работа содержит 4 рисунка и 23 таблицы. Список литературы включает 264 публикации, в том числе 57 на иностранных языках.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работу проводили в селекционно-генетическом центре ВНИИПРХ в 1976-1991 гг.

Материалом для изучения послужили карпы различных породных групп: среднерусской, краснодарской, парской и белорусские беспородные карпы. Отводки среднерусского карпа, а также немецкий карп, амурский сазан и потомки японских цветных карпов были исследованы на центрально-экспериментальной базе (ЦЭБ) ВНИИПРХ "Якоть". В 1980 г. сюда же из рыбхоза "Пара" Рязанской обл. личинками были завезены парские карпы, где и были впоследствии взяты на анализ. Сбор проб сыворотки крови краснодарских карпов осуществлялся на Ангелинском опытном участке Краснодарского края. Местом изучения белорусских карпов были выбраны рыбхозы "Ляхва" и "Тремля", где в настоящее время начата направленная

селекционно-племенная работа с этими группами (Таразевич, Илясов, 1992).

Сбор проб сыворотки крови и мышц осуществляли, используя типовые методики (Лиланский и др., 1986, Пахсова и др., 1988), перевозили пробы в термосах или сосудах Дюара со льдом, хранили при температуре от -18 до -4 градусов Цельсия. Общее количество обработанных автором проб сыворотки крови - 2,5 тыс. шт., мышц - 370 шт.

Анализ полиморфных белковых локусов проводили методом вертикального диск-электрофореза в полиакриламидном геле по прописям Маурера (1971) с некоторыми модификациями. Пользовались камерой конструкции К. А. Трувеллера и Г. Н. Нефедова (1974). Для изучения полиморфизма локусов Tf и Est-1 применяли гель 7,5-8% концентрации, для Mv - 8-10%, использовали трис-глициновый буфер. Окраску на трансферрины и миогены производили 0,25% раствором амидочерного 10Б или кумасси блау в 10% трихлоруксусной кислоте или 7% уксусной кислоте. Эстеразы окрашивали прочным красным TR в присутствии альфа-нафтилацетата. Гели отмывали и хранили в 7% уксусной кислоте.

Для идентификации фракций Tf и Est-1 измеряли расстояние от них до старта и определяли относительную электрофоретическую подвижность. Буквенные названия фракциям присваивали в соответствии с системой обозначения трансферринов К. А. Трувеллера (Черфас, Трувеллер, 1978) и системой обозначения эстераз Н. В. Щегловой, Ю. И. Илясова (1979). Относительная электрофоретическая подвижность фракций трансферрина составляла: А - 1,00; В - 0,95; С' - 0,92; С - 0,90; D - 0,85; E - 0,80; Z - 1,05; Y - 1,10. Фракции Est-1 имели следующие подвижности: А - 1,00; В - 0,96; С - 0,92; Z - 1,04.

Для сравнения разных породных групп использовали частоты фенотипов и аллелей полиморфных локусов. О достоверности различий судили по критерию хи-квадрат (Плохинский, 1980). Для оценки степени межгрупповых различий рассчитывали показатель генетического подобия Нея (Nei, 1972).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Биохимический полиморфизм различных породных групп карпа.

Среднерусский карп. Работы по созданию породы среднерусского карпа начаты в 1963 г. (Головинская, 1969) на принципах синтетической селекции. Все отводки среднерусского карпа являются потомками четырех карповых групп: украинских (У), нивских (Н), курских (К) и загорских (З). Создание отводок, в каждой из которых сочеталась бы наследственность трех или четырех этих групп (З-НК, ЗУ-НК и др.) имело целью повысить генетическую гетерогенность исходного материала для селекции. Изучение генетической изменчивости отводок среднерусского карпа по локусам Tf и Est-1 начато в 1971 г. (Трувеллер и др., 1973, 1974, - Московкин и др. 1973).

Первоначально в отводках среднерусского карпа было выявлено 4 аллеля трансферрина: *a*, *b*, *c*, *d* и у одного карпа ЗУ-НУ найден Tf *c'*. Аллель *d* встречался в основном у загорских карпов. Во всех отводках преобладал аллель Tf *a*, вторым по частоте встречаемости был Tf *c*.

Полученные данные были использованы для генетического маркирования отводок. В качестве "генетических меток" были выбраны наиболее часто встречающиеся типы трансферринов. Уже при получении первого поколения селекции (F₁), в 1974 г., отводка ЗУ-НУ была маркирована фенотипом Tf AA, а отводка ЗУ-НК - Tf CC. В 1978 г. все производители З-НК, использованные для получения второго поколения селекции (F₂), были подобраны по фенотипу Tf AA. Между собой отводки с биохимическим маркером Tf AA различаются типом чешуйного покрова: карпы ЗУ-НУ чешуйчатые, а З-НК - разбросанные. Карпы ЗУ-НК были представлены разбросанными карпами, а среди загорских встречались чешуйчатые, линейные, разбросанные и даже голые особи. В 1977 г. была предпринята попытка "насыщения" загорской отводки трансферрином *d*. С этой целью отбирали преимущественно производителей первого поколения, несущих аллель Tf *d*, что привело к увеличению частоты встречаемости аллеля с 0,262 в родительской группе до 0,351 у

годовиков второго поколения селекции. У загорских производителей третьего поколения частота $Tf\ d$ достигла 0,484, что делает технически возможным полное маркирование этой отводки. Однако, целесообразность маркирования типом трансферрина, редко встречающимся в природных условиях, вызывает определенные сомнения.

Для того, чтобы исключить случайное "засорение" племенного материала, среднерусских карпов в каждом поколении селекции тестировали по биохимическим маркерам дважды: сеголетков (или годовиков) и производителей, отобранных для участия в воспроизводстве отводки. Единичные особи с несвойственными для этих отводок фенотипами Tf были обнаружены среди производителей З-НК в 1984г. и 1988 г., ЗУ-НК - в 1985 г. и 1989 г., ЗУ-НУ - в 1976 г. и 1979 г. По результатам прижизненного тестирования таких производителей выбраковывали из маточного стада. Кроме того, среди сеголетков ЗУ-НУ в 1979 г. было обнаружено сильное засорение (частота $Tf\ AA$ составляла лишь 0,14), вызванное, очевидно попаданием молоди из другого пруда. В связи с этим в 1980 г. было повторно осуществлено воспроизводство отводки ЗУ-НУ и выращенные сеголетки после проверки на чистоту были использованы для дальнейшей селекции.

Можно отметить, что использование генетического маркирования селекционных отводок среднерусского карпа позволило не только выявлять засорение племенного материала, но в ряде случаев, и определять его источник. Так, сочетание типа трансферрина OC с разбросанным типом чешуйного покрова у особи, обнаруженной среди карпов З-НК, позволило предположить, что источник засорения - карп из отводки ЗУ-НК. В отводке ЗУ-НК в 1985 г. был обнаружен один самец с фенотипом $Tf\ AA$ (скорее всего, З-НК), и 1989 г. - самец с фенотипом $Tf\ AD$ (в этот период такой фенотип был характерен только для загорских карпов).

Анализ динамики частот фенотипов Tf у загорских карпов показывает тенденцию увеличения доли гетерозигот у производителей каждого следующего селекционного поколения - от 45,4% в исходном стаде до 71,0% в F_3 ($p < 0,05$). Количество гетерозигот у рыб младших возрастных групп меньше (в F_2) или равно (в F_3) та-

ковому в родительских группах (табл. 1). Аллель $Tf\ b$, обнаруженный у загорских производителей первого поколения селекции и годовиков F_2 , позже найден не был. Полное исчезновение $Tf\ b$ у карпов F_3 всех возрастов является примером обеднения генофонда в процессе селекции.

Частоты аллелей и фенотипов эстеразы проанализированы во всех четырех отводках среднерусских карпов. В трех отводках - З-НК, ЗУ-НК и загорской обнаружено преобладание медленного аллеля, у карпов ЗУ-НУ выше частота встречаемости аллеля a . При этом в селекционных поколениях отмечены колебания частот аллелей, не достигающие уровня статистически достоверных. Во всех отводках наблюдается заметное увеличение гетерозиготности по локусу $Est-1$ от производителей первого поколения селекции ко второму и третьему. Единственным исключением является понижение ее у производителей ЗУ-НК в $F-2$ по сравнению с $F-1$. Возможно, это связано со слишком малым объемом выборок в обеих группах (26 и 13 рыб соответственно). Обращает на себя внимание тот факт, что у сегодеток доля гетерозигот по локусу $Est-1$ всегда ниже, чем у производителей родительской группы, но выше, чем у сегодетков предыдущего поколения (табл.1). Сравнение правомерно, так как каждое поколение селекции представлено только одной генерацией.

Выявленные тенденции увеличения доли гетерозиготных фенотипов по локусам $Est-1$ и Tf в селекционных поколениях среднерусского карпа связаны, видимо, с проведением отбора по массе тела. Сходные явления наблюдаются при селекции пеляди (Локшина, Андрияшева, 1981). На основе изучения последствий массового отбора различной напряженности по массе тела даже разработан метод повышения гетерозиготности популяций сиговых рыб (Андрияшева, 1987). Снижение количества гетерозигот у сегодетков по сравнению с родительской группой, очевидно, является отражением того, что на начальных этапах онтогенеза идет отбор в пользу гомозигот. Такая точка зрения подтверждается анализом распределения частот фенотипов Tf у загорских производителей F_1 и сегодетков F_2 . Соотношение фенотипов в потомстве отклонялось от теоретически ожидаемого и количество гетерозигот по локусу Tf составило 48,9% вместо ожидаемых 68%.

Таблица 1

Доля гетерозигот (%) по локусам Est-1 и Tf в селекционных поколениях
среднерусского карпа

| Отводка | Поклоение селекции (возраст) | | | | | | Достоверность различий |
|----------|--------------------------------|-------|---------|-------|-------|-------|------------------------------|
| | | | | | | | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | | | |
| | (7-9) | (5) | (0-1) | (5) | (0) | (5) | |
| 3-НК | - | 42,6 | 25,6 | 62,3 | 36,0 | 63,3 | * 2-4, 2-8, ** 3-4, 4-5, 5-6 |
| | | | Kat-1 | | | | |
| | | | 25,6 | | | | |
| 3У-НК | - | 53,8 | - | 48,2 | 33,6 | 76,8 | ** 4-6, *** 5-6 |
| 3У-НУ | - | - | - | 46,9 | 32,0 | 73,1 | * 4-6, ** 5-6 |
| 3 | - | 31,3 | - | 59,0 | 54,0 | 68,5 | ** 2-4, *** 2-8 |
| | | | If | | | | |
| 3 | 45,4 | 59,5 | 48,9 | 64,1 | 71,0 | 71,0 | * 1-6 |
| N группы | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | |

* - $p < 0,05$
 ** - $p < 0,01$
 *** - $p < 0,001$

* 2-4, 2-6, ** 3-4, 4-5, 5-6
 ** 4-6, *** 5-6
 * 4-6, ** 5-6
 ** 2-4, *** 2-6
 * 1-6

Явление балансирующего отбора, когда на ранних стадиях жизненного цикла идет отбор против гетерозигот по ферментным локусам, а в более старшем возрасте - в пользу гетерозигот, описано у горбуши (Животовский и др., 1987). Увеличение среднего уровня гетерозиготности с возрастом обнаружено в популяциях фундулка (Mitton, KoeHN, 1975) и камбалы (Beardmore, Ward, 1978). Уменьшение фенотипического разнообразия и увеличение гетерозиготности с возрастом в процессе развития и воспроизводства внутривидовых группировок диплоидных организмов охарактеризовано Л. А. Животовским и В. А. Духаревым как "сжатие" и "расширение" генетической изменчивости.

Коллекция ЦЭБ ВНИИПРХ "Якоть". Кроме основных отводок среднерусского карпа на центрально - экспериментальной базе ВНИИПРХ содержатся группы карпа, используемые в процессе селекции этой породы. Это немецкие карпы, амурский сазан, карпы-хромисты - гибриды с японскими карпами и контрольная популяция (Ко). Амурский сазан используется для получения промышленных гибридов при скрещивании с селекционными отводками среднерусского карпа. Японские декоративные и немецкие карпы послужили материалом для получения отводки Нем/У-НК, маркированной геном окраски D (Катасонов, Черфас, 1986).

Личинок немецких карпов привезли из Конаковского тепловодного хозяйства в 1976 г. Тестирование рыб проводили в возрасте сеголетков и производителей (табл. 2). Немецкие карпы обладают характерными для европейских карпов аллелями Tg a, b, c, причем частоты их в обеих возрастных группах очень близки. Вместе с тем у производителей заметно понизилась частота встречаемости фенотипа Tg AC, не найдено гомозигот BB, за счет этого увеличилось количество фенотипов CC, а также AB и BC. Эстеразы представлены фенотипами BB и AB, частота аллеля Est-1 b очень высока, что по мнению Т. К. Паавера (1983) характерно для европейских карпов. Немецкий карп обладает наивысшей среди исследованных групп частотой Mu A-, обычного для карпов и сазанов европейской части страны (Паавер, 1983).

Японские карпы - хромисты были завезены на ЦЭБ "Якоть" в шестидесятые годы в количестве 33 шт. Исследование меристических признаков цветных карпов и сравнение их с аналогичными по-

Таблица 2

Частоты аллелей Tf и Est-1 у карпов разного происхождения, выращенных на ЦЭБ "Якоть"

| Группа, возраст | Tf | | | | | | | | | | Est-1 | | |
|---------------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | y | z | a | a | b | c | c | d | e | | a | b | c |
| | q | q | q | q | q | q | q | q | q | | q | q | q |
| Немецкий карп | 0+ | - | - | - | 0,662 | 0,074 | 0,264 | - | - | - | - | - | - |
| | 4-5+ | - | - | - | 0,614 | 0,084 | 0,302 | - | - | - | 0,084 | 0,916 | - |
| Амурский сазан | 1+ | - | 0,200 | - | 0,150 | 0,250 | 0,325 | - | 0,075 | - | - | - | - |
| | 5+ | 0,115 | 0,010 | - | 0,374 | 0,115 | 0,256 | - | 0,104 | 0,025 | 0,302 | 0,645 | 0,052 |
| Гибриды с японским карпом | 5-6+ | - | 0,029 | 0,029 | 0,740 | 0,105 | 0,067 | - | 0,029 | - | 0,328 | 0,631 | 0,040 |
| Контрольная популяция 4+ | | 0,144 | 0,089 | 0,022 | 0,717 | 0,011 | 0,011 | - | 0,006 | - | 0,426 | 0,460 | 0,114 |
| Парский карп | 1-2+ | - | - | - | 0,621 | 0,225 | 0,154 | - | - | - | 0,552 | 0,429 | 0,019 |
| отводка М | 6+ | - | - | - | 0,300 | 0,467 | 0,166 | - | 0,087 | - | 0,393 | 0,607 | - |
| Парский карп | | | | | | | | | | | | | |
| отводка УМ | 1+ | 0,001 | - | - | 0,337 | 0,288 | 0,269 | 0,019 | 0,077 | - | 0,442 | 0,548 | 0,010 |

казателями европейского, среднеазиатского, амурского и вьетнамского сазанов позволило сделать вывод о близости карпов-хромистов к амурскому сазану (*C. carpio haematopterus*) (Катасонов, 1974). Нами в 1977 г. были исследованы гибриды японских цветных и обычных карпов в возрасте пяти лет (видимо, F₂). Трансферрины, кроме обычных аллелей *a*, *b* и *c*, были представлены аллелями *d*, *z* и *a'* (табл. 2). Аллель *a'* на электрофореграммах представлен фракцией с электрофоретической подвижностью очень близкой к подвижности фракции *A*. По мнению ряда авторов, наличие редких аллелей *y*, *z*, *a'* и аллеля *d* отражает присутствие наследственности амурского сазана (Сапрыкин, 1977а, г. 1980в; Киши, 1979). Кроме того, именно у гибридов с японскими карпами впервые была обнаружена сверхмедленная фракция Est-1, кодируемая аллелем *c* (Щеглова, Илясов, 1979), которая встречается и у амурских сазанов (табл. 2). Еще одним "маркером" наследственности амурского сазана принято считать повышенную встречаемость рецессивных гомозигот по локусу миогенов (*My aa*). Ранее даже предполагалось, что у амурского сазана встречаются исключительно *My aa* (Трувеллер и др., 1973). Однако более поздние исследования показали наличие полиморфизма по этому локусу и среди амурских сазанов (Паавер, 1979, 1983). У европейских (волжских и дунайских) сазанов преобладает *My A*. Результаты анализа локуса миогенов у гибридов с японскими карпами (табл. 3), а также локусов *Tf* и Est-1, с нашей точки зрения, соответствуют гипотезе о принадлежности карпов-хромистов к подвиду *C. carpio haematopterus*.

Амурский сазан был завезен из рыбхоза "Пара", тестировался в возрасте двухлетков (1976 г.) и пятигодовиков (1980 г.). Локус *Tf* представлен семью аллелями, в том числе и сверхмедленной аллелью *e* (табл. 2). Отсутствие у двухлетков *Tf y* и *e* и *My A* (табл. 3), объясняется, скорее всего, малым количеством исследованных рыб. У производителей по сравнению с двухгодовиками увеличилась частота встречаемости *Tf a* за счет появления гомозигот *AA*, при этом доля гетерозиготных фенотипов по локусу *Tf* уменьшилась с 80,0% до 58,6%. Найдено три аллеля Est-1 - *a*, *b* и *c*, чаще других встречается Est-1 *b*, в то время как у амурского сазана из реки Амур преобладает Est-1 *a* (Лаугасте и др., 1980, Паавер, 1983). Видимо, сказалось влияние отбора при выращивании

нескольких поколений в европейской части страны (в рыбхозе "Пара" и на ЦЗБ "Якоть"). У двухлетков амурского сазана (N=20 шт.), отмечен только фенотип Му аа, у рыб старшего возраста частота его составляет 0,583. В целом, амурский сазан обладает на-

Таблица 3

Частоты фенотипов Му у карпов разного происхождения

| Группа | Воз- раст | N | Частоты фенотипов | |
|---------------------------|--------------|-----|-------------------|-------|
| | | | Му А- | Му аа |
| СУ-НК | 2+ | 16 | 0,875 | 0,125 |
| СУ-НУ | 2+ | 20 | 0,900 | 0,100 |
| Б | 5' | 87 | 0,931 | 0,069 |
| Гибриды с японским карпом | 5' | 16 | 0,688 | 0,312 |
| Немецкий карп | 0+ | 83 | 0,892 | 0,108 |
| | 4-5' | 95 | 0,947 | 0,053 |
| Амурский сазан | 1+ | 12 | - | 1,000 |
| | 5' | 36 | 0,417 | 0,583 |
| Парский карп | М 1+ | 33 | 0,788 | 0,212 |
| | УМ 1+ | 45 | 0,867 | 0,133 |
| Лавинский карп | 0-1+ | 104 | 0,558 | 0,442 |
| Тремлянский карп | 1+ | 60 | 0,750 | 0,250 |

и большей генетической изменчивостью по локусам Tf (7 аллелей и 20 фенотипов) и Est-1 (3 аллеля и 6 фенотипов).

Контрольная популяция (Ko) - это смесь исходных групп среднерусского карпа. Была получена от производителей исходного стада и поддерживается без отбора по массе тела. Создана как контроль для оценки селекционных изменений в отводках (Головинская и др., 1975). Биохимический полиморфизм Ko впервые исследован в 1987 г. (F2). Найденные у карпов Ko аллели Tf у, z, а' (табл 2), отсутствуют у исследованных производителей исходных групп, нет у них и аллели Est-1 с, хотя она могла быть просто не идентифицирована в то время. Вместе с тем, различия между производителями исходных групп и карпами Ko очень значительны как по набору аллелей, так и по их частотам (например, в группе Ko необычно низка частота Tf с). Это ставит под сомнение возможность использования группы Ko как контрольной. Набор и частоты аллелей Tf и Est-1 в группе карпов Ko, свидетельствуют, с нашей точки зрения о засорении ее гибридами с амурским сазаном.

Парский карп. Порода парского карпа создана на базе рыбхоза "Пара" Рязанской обл. и состоит из двух отводок: М и УМ, первая из которых несет 50%, а вторая - 25% наследственности амурского сазана (Головинская, Еоброва, 1982; Еоброва, 1986). На ЦЭБ "Якоть" парский карп впервые был завезен заводскими личинками в 1980 г. Для обеих отводок парского карпа характерна высокая частота аллеля Tf b: у карпов УМ она близка к частоте Tf a, а у производителей М даже превышает ее (табл. 2). Это не совсем обычно, так как у культурных европейских карпов вторым по частоте встречаемости аллелем Tf обычно является аллель с. Всего у карпов отводки М обнаружено 4 аллеля и 6 фенотипов трансферрина, а у карпов УМ - 6 аллелей и 10 фенотипов. О наследственности амурского сазана у карпов УМ свидетельствует и наличие аллелей Tf у, с', d, у карпов отводки М из этого набора встречается только Tf d. Кроме того, в обеих отводках парского карпа найдены особи, несущие редкий аллель Est-1 с, который отмечен и у амурского сазана, завезенного из рыбхоза "Пара". Фенотип Му аа чаще встречается у карпов отводки М. В целом полученные нами данные соответствуют сведениям об участии амурского сазана в

формировании генофонда парского карпа. Однако уровень генетической изменчивости по локусу трансферрина у карпов отводки М ниже, чем у карпов УМ, хотя по имеющимся сведениям, доля наследственности сазана у них выше. Скорее всего, пониженная генетическая изменчивость по локусу Tf у исследованных нами карпов М является проявлением эффекта основателя, т.е. вызвана завозом партии личинок, полученных от небольшого числа производителей. Интересно, что у самок М доля гетерозигот выше, чем у ремонта, как по локусу трансферринов, так и по локусу эстеразы-1.

Полученные нами данные в целом совпадают с результатами исследований полиморфизма трансферрина у парского карпа, завезенного в рыбхоз "Сускан" (Ельцов и др., 1985) и рыбхоз Храпуново (Трувеллер и др., 1991). В обоих случаях отмечено присутствие аллелей *a*, *b*, *c*, *d*, при этом Tf *b* занимал второе по частоте встречаемости место. У карпов отводки М, выращенных в рыбхозе "Сускан", В.Г. Сапрыкиным найдены варианты Tf *a*′, *a*1′, *c*′, что подтверждает наше предположение о некотором снижении генетической изменчивости по этому локусу у исследованных нами рыб.

Краснодарский краснухостойчивый карп. Селекция карпа на устойчивость к краснухе ведется в условиях Краснодарского края с 1963 г. (Кирпичников и др., 1967). Порода представлена тремя группами: М - местными или ангелинскими карпами, Р - ропшинскими карпами и УР - украинско-ропшинскими карпами. Известно, что ропшинские карпы принадлежат к отводке В, имеющей 75% наследственности амурского сазана (Кирпичников, 1966). Изучение биохимического полиморфизма краснодарского карпа начато с 1972 г. (Шербенок, 1973; Шарг, Илясов, 1979 и др.). Тестировались преимущественно рыбы младших возрастных групп (от сеголеток до трехлеток), так как основной целью исследований был поиск корреляций между биохимическими маркерами и устойчивостью карпов к заболеванию краснухой. Подробный анализ данных (собственных и литературных) по каждой отводке отдельно был проведен впервые. На первых этапах селекции локус Tf в отводках Р и М был представлен аллелями *a*, *b*, *c*, *c*′ (рис.1), в отводке УР встречались также единичные особи, несущие аллель *d*. В каждой отводке было найдено по две аллели Est-1. Вместе с тем, различия по распре-

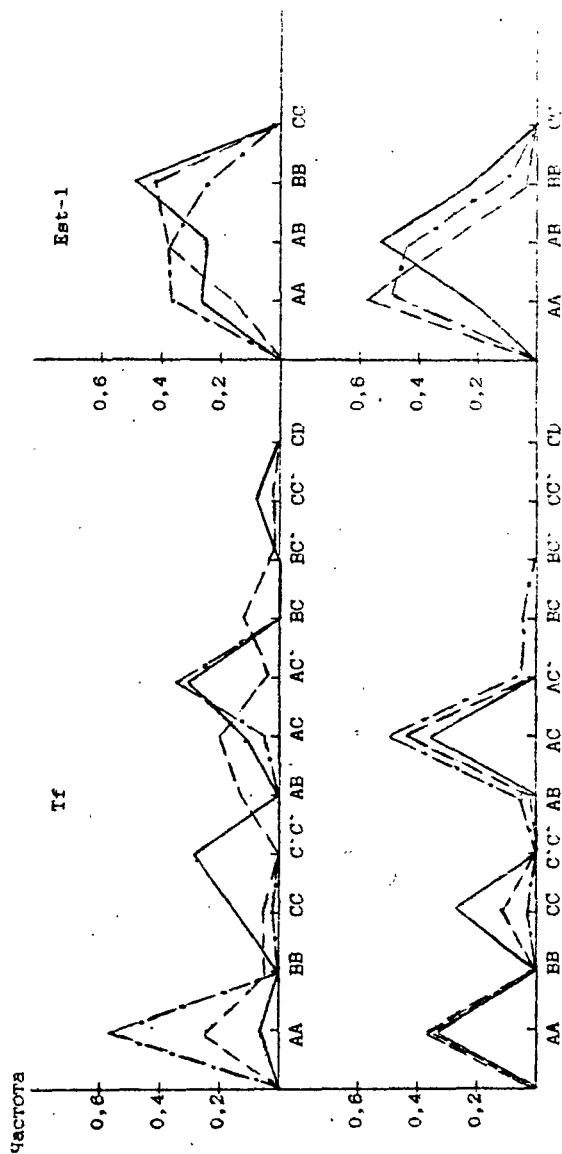


Рис. 1. Распределение частот фенотипов Tf и Est-1 у красноярских карпов: внутри 1977 г., внизу - 1991 г. Обозначение отводок: Р - внутри, ур - ур, Н - Н. АВ, СС - фенотипы.

делению частот аллелей и особенно частот фенотипов этих локусов были довольно значительны. Если у местных карпов наиболее часто встречались фенотипы Tf AA, AC, AB и BC, то у ропшинских карпов - CC' и AC' (влияние амурского сазана), а у карпов УР - AA и AC' (рис. 1). У местных и ропшинских карпов преобладал медленный аллель сывороточных эстераз и только у украинско-ропшинских - быстрый аллель. Каждое селекционное поколение краснодарского карпа представлено несколькими генерациями. Колебания, иногда значительные, частот аллелей и фенотипов трансферринов и эстераз наблюдались как между поколениями, так и внутри их (между генерациями). Часть из них была вызвана проявлением "эффекта основателя", а другая - действием массового отбора. Значительно снизилось фенотипическое разнообразие по локусу Tf во всех отводках. Вряд ли возможно объяснить практически полное исчезновение аллеля c', имевшего достаточно высокую частоту встречаемости, исключительно генетическим дрейфом. Преобладающим во всех трех отводках стал быстрый аллель Est-1 b. Частоты фенотипов и аллелей обоих локусов во всех отводках значительно сблизились (рис. 1), различия между ними стали недостоверными. Все это позволяет сделать вывод о происходящей консолидации породы по биохимическим маркерам.

Белорусские карпы. Изучен биохимический полиморфизм белорусских карпов из рыбхозов "Лахва" и "Тремля". И лахвинские и тремлянские карпы были представлены чешуйчатыми и разбросанными сеголетками и двухлетками нескольких генераций (табл. 4, 5). У карпов каждого из хозяйств присутствуют по семь аллелей: a, b, c, c', d, z и y и по 18 фенотипов Tf. Это свидетельствует как о высокой степени генетической гетерогенности по этому локусу, так и о доле наследственности амурского сазана, что подтверждается и данными о происхождении (Таразевич, Илясов, 1992). В локусе Est-1 часто встречаются аллели a и b, редко - аллель c.

По наборам фенотипов и аллелей Tf и Est-1 и частотам их встречаемости не выявлено значительных различий как между чешуйчатыми и разбросанными карпами внутри каждой группы, так и между лахвинскими и тремлянскими карпами в целом. Вместе с тем, колебания частот фенотипов и аллелей в отдельных генерациях, обусловленные "эффектом основателя", достаточно велики. В гене-

Таблица 4

Частоты аллелей Tf и Est-1 и доля гетерозигот по этим локусам у лавинских карпов

| Группа | Генерация | Возраст | N | Tf | | | | | | | Доля | | Est-1 | | | Доля | |
|--------------|-----------|---------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|---|-------|-------|-------|------|---|
| | | | | y | z | a | b | c | c' | d | ГТЗ, | % | a | b | c | ГТЗ, | % |
| | | | | q | q | q | q | q | q | q | | | q | q | q | | |
| Чешуйчатые | 1988 | 1+ | 30 | 0,033 | 0,067 | 0,400 | 0,283 | 0,200 | - | 0,017 | 56,6 | | 0,551 | 0,449 | - | 56,7 | |
| | 1989 | 0+ | 70 | 0,054 | 0,014 | 0,635 | 0,112 | 0,150 | - | 0,035 | 57,0 | | 0,584 | 0,416 | - | 49,3 | |
| | 1989 | 1+ | 30 | 0,017 | 0,017 | 0,567 | 0,216 | 0,183 | - | - | 48,6 | | 0,500 | 0,500 | - | 42,8 | |
| | 1990 | 1+ | 30 | 0,083 | 0,117 | 0,300 | 0,163 | 0,300 | 0,017 | - | 66,7 | | 0,517 | 0,467 | 0,016 | 56,7 | |
| | 1991 | 0+ | 30 | 0,033 | 0,033 | 0,650 | 0,117 | 0,107 | - | 0,050 | 53,4 | | 0,350 | 0,534 | 0,116 | 60,0 | |
| Разбросанные | 1989 | 1+ | 25 | 0,040 | 0,060 | 0,580 | 0,100 | 0,220 | - | - | 44,0 | | 0,385 | 0,615 | - | 61,5 | |
| | 1990 | 0+ | 49 | - | - | 1,000 | - | - | - | - | 0,0 | | 0,590 | 0,410 | - | 38,0 | |
| | 1990 | 1+ | 30 | - | 0,017 | 0,950 | 0,033 | - | - | - | 10,0 | | 0,567 | 0,400 | 0,033 | 60,0 | |
| | 1991 | 0+ | 30 | 0,033 | - | 0,650 | 0,200 | 0,100 | 0,017 | - | 40,0 | | 0,617 | 0,383 | - | 50,0 | |

Таблица 5

Частоты аллелей Tf и Est-1 и доля гетерозигот по этим локусам у тремлянских карпов

| Группа | Генерация | Возраст | N | Tf | | | | | | | | Est-1 | | | |
|--------------|-----------|---------|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|-------|-------|-------|-------------|
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| | | | | y | z | a | b | c | c' | d | Доля ГТЗ, % | a | b | c | Доля ГТЗ, % |
| | | | | q | q | q | q | q | q | q | | q | q | q | |
| Чешуйчатые | 1988 | 1+ | 30 | 0,083 | 0,033 | 0,467 | 0,250 | 0,117 | - | 0,050 | 70,0 | 0,308 | 0,682 | - | 30,8 |
| | 1989 | 0+ | 60 | 0,099 | 0,050 | 0,475 | 0,184 | 0,167 | - | 0,025 | 61,6 | 0,529 | 0,471 | - | 44,2 |
| | 1989 | 1+ | 28 | 0,125 | 0,071 | 0,339 | 0,197 | 0,268 | - | - | 64,2 | 0,339 | 0,661 | - | 46,4 |
| | 1990 | 1+ | 28 | 0,198 | - | 0,482 | 0,179 | 0,072 | - | 0,071 | 64,2 | 0,538 | 0,393 | 0,071 | 21,4 |
| | 1991 | 0+ | 34 | 0,088 | - | 0,529 | 0,118 | 0,206 | - | 0,059 | 41,1 | 0,428 | 0,559 | 0,015 | 28,4 |
| Разбросанные | 1989 | 1+ | 30 | 0,150 | 0,084 | 0,448 | 0,150 | 0,133 | - | 0,035 | 56,8 | 0,417 | 0,583 | - | 38,7 |
| | 1991 | 0+ | 30 | 0,100 | 0,018 | 0,517 | 0,183 | 0,167 | 0,017 | - | 49,9 | 0,417 | 0,551 | 0,032 | 43,3 |

17

рации лахвинских разбросанных карпов 1990 г. частота встречаемости аллеля Tf а приближается к единице. Технически несложно провести полное маркирование этой группы фенотипом Tf AA. Тенденция к увеличению количества гетерозигот у двухлетков по сравнению с сеголетками по обоим локусам наблюдается в двух исследованных генерациях из трех.

Результаты исследования локуса миогенов показывают повышенную частоту встречаемости Mu aa у лахвинских карпов, несколько ниже она у тремлянских (табл. 3), что также говорит о присутствии наследственности амурского сазана.

Гибридологический анализ наследования редких аллельных вариантов Tf и Est-1. Общее количество аллелей Tf, выявленное нами в различных группах карпа, девять: у, z, a, a', b, c', c, d, e. Аллели Tf a', c', d, e, z, у встречались только у амурских сазанов или у карпов гибридного происхождения, что соответствует литературным данным. Проведен гибридологический анализ наследования фенотипа Tf AA', ранее обозначавшегося нами как Tf W. Показано, что он состоит из двух независимо наследуемых фракций с близкой подвижностью, идентификация которых возможна при увеличении длины пробега (т.е. при изменении конструкции камеры). Выживаемость сегодеток с фенотипами Tf AA' и A'A' оказалась пониженной и составила соответственно 0,88 и 0,34 от выживаемости обладателей фенотипа Tf AA. В нескольких вариантах скрещиваний продемонстрирован кодоминантный характер наследования аллели Est-1 с, впервые описанной нами у гибридов с японскими карпами. В этой же группе обнаружен сверхбыстрый аллель Est-1 z, найденный также у сазанов (Паавер, 1983) и черепецкого и вьетнамского карпов (Шербенок, Пустовойт, 1981; Шербенок, 1986). Кодоминантный характер наследования аллеля Est-1 z проанализирован в двух отдельно выращенных потомствах одного скрещивания.

Сравнение групп карпа разного происхождения. Для сравнения групп использовали показатель генетического сходства, рассчитанный по формуле Ней (Nei, 1972). Расчет индексов генетического сходства проводили как по частотам локусов Tf и Est-1, так и по частотам фенотипов. Данные по локусу Mu не использовали, так как отсутствуют сведения о полиморфизме по этому локусу красно-

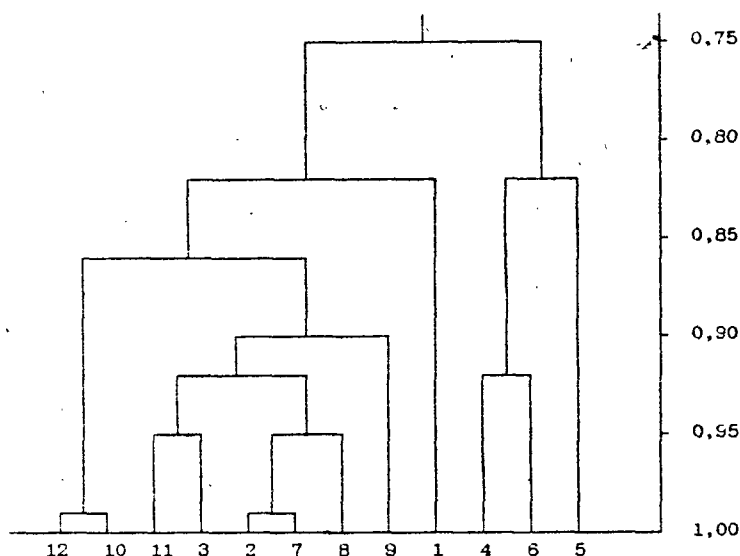


Рис.2. Дендрограмма, отражающая степень генетического сходства разных групп карпа по частотам аллелей локусов Tf и Est-1.

Группы карпа:
 1 - загорские карпы, 2 - парские, отводка М, 3 - парские, отводка УМ, краснодарские карпы отводок: 4 - М, 5 - УР, 6 - Р; 7 - лахвинские, 8 - тремлянские, 9 - немецкие карпы, 10 - гибриды с японскими карпами, 11 - амурский сазан, 12 - контрольная популяция.

дарских карпов. Значения, полученные при расчете индекса генетического сходства по частотам фенотипов, оказались меньше аналогичных, рассчитанных по частотам аллелей. Это объясняется тем, что число фенотипов всегда больше числа аллелей, а следовательно, вероятность полного сходства гораздо ниже.

Дендрограмма, построенная, на основании индексов генетического сходства, рассчитанных по частотам аллелей, изображена на рисунке 2. На схеме можно выделить два крупных блока, объединенных между собой примерно на одном уровне. Особняком стоят

три отводки краснодарского карпа (правая часть рисунка), что подтверждает наш вывод о происходящей консолидации этой породы. Остальные группы карпа объединены, как нам кажется, в зависимости от доли наследственности амурского сазана в их генофонде. Наиболее близки между собой карпы контрольной популяции и гибриды с японским карпом, а также парские карпы отводки М и лавинские. Наибольший индекс сходства с амурским сазаном имеют парские карпы отводки УМ. В целом результаты, полученные при сравнении карпов разного происхождения путем расчета показателей генетического сходства по частотам аллелей двух полиморфных локусов, хорошо совпадают с нашими представлениями об их генетической близости. Причиной этого соответствия, возможно, является то, что именно по наличию редко встречающихся аллелей трансферрина и эстеразы принято судить о родстве карпов с амурским сазаном.

Результаты, полученные при использовании для расчетов частот фенотипов T_f и $Est-1$, были во многом сходны с предыдущими, однако неожиданным оказалось объединение в один кластер амурского сазана и немецкого карпа. Причину мы видим в том, что только в этих двух группах наблюдалось резкое преобладание частоты встречаемости гомозигот $Est-1 BB$. В целом методика использования частот фенотипов полиморфных локусов для расчета индексов генетического сходства является, с нашей точки зрения, более чувствительной, однако полученные результаты отражают только сходство изученных выборок, а не степень их родства. При использовании частот фенотипов большее значение приобретает асортативность скрещиваний, что важно учитывать при сравнении групп карпа, полученных от малого числа производителей.

ВЫВОДЫ

1. Методом электрофореза в полиакриламидном геле исследован биохимический полиморфизм локусов Tf, Est-1 и Mu у разных отводок среднерусского, краснодарского и парского карпа, а также у лахвинских, тремлянских, немецких карпов, амурского сазана и гибридов с японским карпом. Наибольшей генетической изменчивостью по изученным локусам обладает амурский сазан, наименьшей - немецкий карп.

2. Генетическое маркирование отводок среднерусского карпа фенотипами Tf позволяет не только обнаружить засорение селекционного материала, но в ряде случаев, и определить его источник.

3. Анализ динамики частот фенотипов Est-1 в четырех отводках среднерусского карпа выявил повышение количества гетерозиготных особей от первого поколения селекции к третьему. Аналогичное увеличение гетерозиготных по локусу Tf фенотипов отмечено в селекционных поколениях загорских карпов, не маркированных типом Tf.

4. Повышение количества гетерозигот по локусам Tf и Est-1 у производителей по сравнению с рыбами младших возрастных групп отмечено во всех отводках среднерусского и отводке М парского карпа. Аналогичная тенденция наблюдается при сравнении сеголетков и двухлетков лахвинских и тремлянских карпов.

5. Изучение биохимического полиморфизма отводок парского карпа показало пониженную генетическую изменчивость по локусу Tf у карпов М по сравнению с отводкой УМ. Очевидно, это проявление "эффекта основателя".

6. Анализ литературных и собственных данных о полиморфизме локусов Tf и Est-1 в трех отводках краснодарского краснухоустойчивого карпа свидетельствует о понижении фенотипического разнообразия в ходе селекции и происходящей консолидации породы по частотам аллелей и фенотипов полиморфных локусов.

7. Лохвинские и тремлянские карпы довольно близки друг к другу по частотам фенотипов и аллелей трех локусов (Tf, Est-1, Mu). Обе группы высоко гетерогенны по локусу Tf и явно несут наследственность амурского сазана. Обнаружена генерация лахвинских разбросанных карпов, насыщенная гомозиготами Tf AA (90% фенотипов).

8. Анализ набора аллелей полиморфных локусов Tf, Est-1 и Mu и их частот позволяет выявить присутствие наследственности амурского сазана в отводках парского и краснодарского карпа, у белорусских карпов и в группе Ко, а также подтверждает данные о принадлежности карпов-хромистов подвиду *Cyprinus carpio haematopterus*.

9. В потомствах индивидуальных скрещиваний показан кодоминантный характер наследования аллелей с и z локуса Est-1 и аллеля Tf a'. Особи, гомо- и гетерозиготные по трансферрину A', обладают пониженной выживаемостью.

10. Использование частот фенотипов полиморфных локусов вместо частот аллелей для расчета индексов генетического сходства по Нью делает метод более чувствительным, однако полученные результаты отражают только сходство изученных выборок, а не степень их родства.

Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Щеглова Н.В. Биохимический полиморфизм у карпа. // Тезисы Всес. конференции молодых ученых "Научно-техн. прогресс и проблемы рыbn. хоз-ва". М., 1978. - С.21-23.

2. Щеглова Н.В., Ильясов Ю.И. К вопросу об эстеразах у карпа. // Биохимическая и популяционная генетика рыб. Л., 1979. - С.176-180.

3. Катасонов В.Я., Боброва Ю.П., Стояновский И.И., Щеглова Н.В. Состояние работ по селекции среднерусского карпа. // Сб. научн. трудов / М.: ВНИИПРХ - 1980. - Вып. 28. - С. 3-24.

4. Щеглова Н.В. О некоторых редких типах трансферрина у карпа. // Генетика, селекция и гибридизация рыб. Ростов-на-Дону, 1981. - С.155.

5. Катасонов В.Я., Ильина И.Д., Демкина Н.В., Трувеллер К.А. Использование биохимических маркеров в селекции среднерусского карпа. // Сб. научн. трудов / М.: ВНИИПРХ - 1986. - Вып. 46. - С. 130-133.

6. Катасонов В.Я., Ильина И.Д., Демкина Н.В., Трувеллер К.А. Сравнительная характеристика биохимического полиморфизма у среднерусского карпа 1-2 селекционных поколений. // Тез. докл. 3 Всес. совещ. по генетике, селекции и гибридизации рыб (9-11 сентября 1986 г., Тарту). / М., 1986. - С. 100-102.

7. Демкина Н. В. Биохимический полиморфизм отводки "М" парского карпа, выращенной в условиях ЦЗБ "Якоть". // Сб. научн. трудов / М.: ВНИИПРХ. - 1989. - Вып. 58. - С. 12-16.
8. Демкина Н. В., Катасонов В. Я., Ильина И. Д., Трувеллер К. А. Увеличение гетерозиготности по локусам эстеразы и трансферрина в селекционных поколениях среднерусского карпа. // Мат-лы VI съезда ВОГИС (23-27 ноября 1992 г.). / Минск, 1992. - С. 51.
9. Демкина Н. В., Катасонов В. Я. Увеличение гетерозиготности в селекционных поколениях среднерусского карпа по локусам сывороточной эстеразы и трансферрина. // Сб. научн. трудов / М.: ВНИИПРХ. - 1992. - Вып. 68. - С. 23-29.
10. Демкина Н. В., Таразевич Е. В. Биохимический полиморфизм трансферринов и сывороточных эстераз лахвинского и тремлянского карпов. // Сб. научн. трудов / М.: ВНИИПРХ. - 1992. - Вып. 68. - С. 48-55.