

Биохимические маркеры в селекции и разведении объектов пресноводной аквакультуры: опыт ВНИИПРХа

Канд. биол. наук Н.В. Демкина – Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства

Биохимические маркеры (белковые продукты аллельных вариантов генов) позволяют изучать генетическую структуру популяций и стад рыб, следить за ее изменениями в процессе эксплуатации этих стад, доместикиции (одомашнивания) новых видов, а также в процессе селекции. Поддержание генетического разнообразия как природных популяций, так и культурных стад – непереносимое условие успешного выживания любой группы рыб.

С конца 60-х годов XX в. начался новый этап в развитии популяционных исследований, обусловленный широким использованием метода электрофоретического разделения белков. Исследования биохимического полиморфизма объектов пресноводной аквакультуры в лаборатории генетики и селекции ВНИИПРХа начаты с 1971 г. Помощь в выполнении работ в разные годы оказывали на хозяйственных началах сотрудники Московского Государственного университета, Киевского университета, Института общей генетики РАН. Основные критерии выбора биохимических маркеров для генетического мониторинга селекционного материала – это возможность прижизненного сбора проб; высокий уровень генетической изменчивости по данному локусу (существование достаточно большого числа аллельных вариантов); отсутствие псевдополиморфизма, значительной сезонной и возрастной изменчивости в активности ферментов; подтверждение характера наследования с помощью гибридологического анализа. Желательными являются простота расшифровки полученных электрофореграмм (т.е. использование локусов, продукты которых – белки-мономеры или димеры) и невысокая стоимость работ (дешевизна реактивов и возможность получить одновременно электрофоретические спектры продуктов нескольких локусов).

В качестве биохимических маркеров у карпа и сазана использовали белок сыворотки крови – трансферрин (локус *Tf* – 8 аллелей, характер наследования которых проверен с помощью гибридологического анализа), неспецифические эстеразы, про-

являющие активность в сыворотке крови (*Est-1*) и мышцах (*Est-1*, *Est-2*, по 4 аллеля в каждом локусе), структурный белок скелетных мышц – миоген (*Mu-3*, 2 аллеля) (Демкина Н.В., Шарт Л.А., Баранова Н.А. *Использование биохимических маркеров для оценки генетического разнообразия стад карпа // Сб. науч.-техн. и метод. документации по аквакультуре. М.: ВНИРО, 2001, с. 133–149*). Биохимические маркеры нашли применение для генетического маркирования отводок среднерусского карпа. Группы с разными типами чешуйного покрова были помечены еще и генотипами трансферрина (AA или CC). В каждом поколении селекции индивидуально метили и прижизненно тестировали рыб старших ремонтных групп при переводе в маточное стадо. При этом особей, имеющих несвойственные данной отводке генотипы трансферрина, выбраковывали. Проверяли также и генотипы трансферрина у полученной молодежи. Это позволило не только выявлять на протяжении пяти поколений селекции случайное засорение племенных отводок, но зачастую и определять происхождение чужеродного материала.

Создана генетически маркированная линия амурского сазана. Амурский сазан был завезен в Подмоскowie в 1975 г. и прошел несколько поколений воспроизводства в местных условиях, без проведения отбора. К середине 90-х годов в группе сазана изредка стали появляться особи с иными вариантами чешуйного покрова, что свидетельствовало о попадании в стадо сазано-карповых гибридов. Для того чтобы восстановить генетическую чистоту имеющегося племенного стада амурского сазана и обеспечить возможность ее надежного контроля в дальнейшем, в 1996–1997 гг. была заложена генетически маркированная линия амурского сазана (АСМ), гомозиготная по двум маркерным системам: доминантному аллелю гена чешуйного покрова (S) и рецессивному (нулевому) аллелю локуса миогенов (*Mu-3^{aa}*), что свойственно амурскому сазану из естественных водоемов. Использование двойной генетической метки (SS, *Mu-3^{aa}*)

дает возможность с высокой степенью надежности контролировать «чистоту» племенного материала, исключая его случайное засорение. Интересно, что в результате маркирования экстерьер рыб и частоты полиморфных аллелей изменились в сторону усиления черт, свойственных амурскому сазану (Катасонов В.Я., Поддубная А.В., Демкина Н.В. *Формирование и рыбоводно-биологическая характеристика генетически маркированной линии амурского сазана (АСМ) // Сб. научн. трудов «Вопросы генетики, селекции и племенного дела в рыбоводстве». М.: ВНИРО, 2001. Вып. 76, с. 59–68*).

Анализ многолетних данных по биохимическому полиморфизму пород и породных групп карпа селекции ВНИИПРХа (среднерусского – начиная с 1972 г., англинских – с 1973 г. и внутривидовых типов парского – с 1986 г.) позволил охарактеризовать изменения генетической структуры этих групп. Выявлено увеличение гетерозиготности по локусам трансферрина и сывороточной эстеразы в селекционных поколениях карпа, при этом доля гетерозигот у производителей всегда выше, чем у сегадетков. У среднерусского карпа доля гетерозигот по локусу *Est-1* у производителей разных племенных групп 4-го поколения селекции достигла 55–65 % (Катасонов В.Я., Поддубная А.В., Дементьев В.Н., Демкина Н.В. *Основные итоги селекции среднерусского карпа // Сб. научн. трудов «Вопросы генетики, селекции и племенного дела в рыбоводстве». М.: ВНИРО, 2001. Вып. 76, с. 47–58*). На примере пород карпа селекции ВНИИПРХа показано, что причиной снижения генетической изменчивости в селекционных группах служит малое число производителей, использованных для воспроизводства, когда коэффициент инбридинга превышает 15 %. А ведь селекция идет более успешно в группах рыб, характеризующихся высоким уровнем генетического разнообразия.

Исследования биохимического полиморфизма новых объектов акклиматизации – растительноядных рыб, канального сома и буффало – позволили разработать мето-

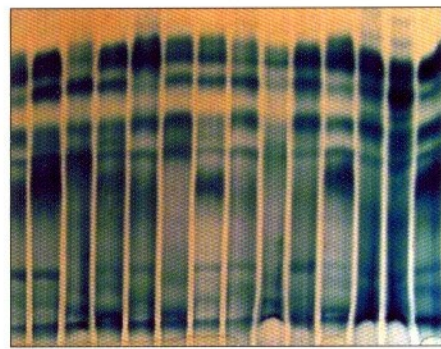


Рис. 1. Электрофоретические спектры белков скелетных мышц (миогенов) форели

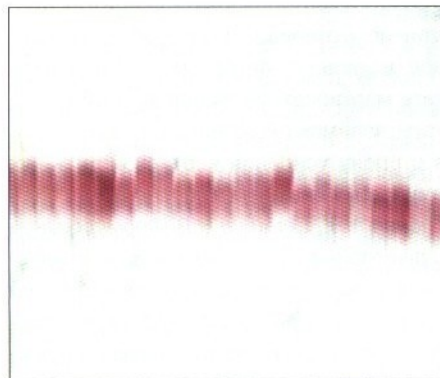


Рис. 2. Электрофоретические спектры неспецифических эстераз сыворотки крови карпа

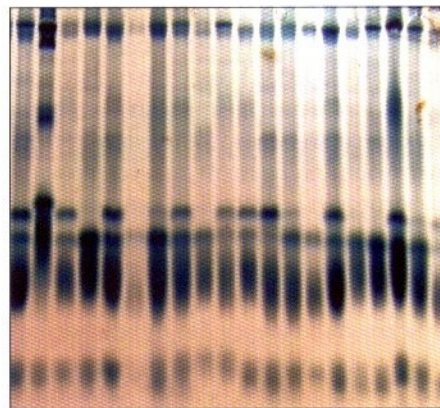


Рис. 3. Электрофоретические спектры белков сыворотки крови карпа

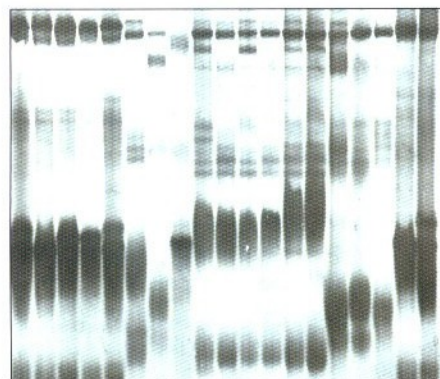


Рис. 4. Электрофоретические спектры белков сыворотки крови белого и пестрого толстолобиков

дические указания по использованию биохимических маркеров в генетике и селекции этих видов рыб. Найдены полиморфные и мономорфные белковые и ферментные локусы, которые можно использовать при разведении и селекции этих видов. Так, для идентификации межвидовых гибридов между белым и пестрым толстолобиками предложено использовать мономорфные локусы: преальбумины (белки сыворотки крови), 2 локуса миогенов (белки мышц) и ферменты – супероксиддисмутазу и щелочную фосфатазу (Паюсова и др., 1988). Эти маркеры уже более 15 лет применяются в практике рыбоводства. Отсутствие сцепления между пятью используемыми локусами увеличивает вероятность выявления межвидовых гибридов 2-го поколения до 99 %. Количество биохимических маркеров, пригодных для генетического мониторинга стад белого толстолобика, крайне невелико: это лактатдегидрогеназа печени и эстераза мышц; у пестрого толстолобика их практически нет (Паюсова А.Н. и др. *Использование биохимических маркеров в генетических исследованиях и селекции растительноядных рыб (Рекомендации)*. М.: ВНИИПРХ, 1988. 33 с.).

У белого амура полиморфными являются локусы супероксиддисмутазы, эстеразы сыворотки крови и эстеразы мышц.

Биохимические маркеры, рекомендованные для идентификации межвидовых гибридов трех видов буффало – миогены, гемоглобин, трансферрин, преальбумины, лактатдегидрогеназа и несколько локусов эстераз (Паюсова А.Н. и др. *Использование биохимических маркеров в генетических исследованиях и селекции буффало (Рекомендации)*. М.: ВНИИПРХ, 1990. 29 с.) и для генетического мониторинга при разведении канального сома – миогены, трансферрин, супероксиддисмутазу, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназу, эстеразу (Паюсова А.Н. и др. *Использование биохимических маркеров в разведении канального сома (Рекомендации)*. М.: ВНИИПРХ, 1988. 16 с.), мало применяли в практике рыбоводства в связи с ограниченным использованием этих объектов аквакультуры.

С 1990 г. начато исследование биохимического полиморфизма другого объекта акклиматизации – веслоноса. Уровень генетической изменчивости у этого вида не высок (6 %). Проанализировав 35 локусов из разных тканей (мышцы, печень, почки, сердце, глаза), мало пригодных для целей прижизненного тестирования, американские авторы не исследовали сыворотку крови. Нашими исследователями обнаружен полиморфизм локусов альбумина (3 аллеля) и эстеразы сыворотки крови (3 аллеля). Изучение сыворотки крови проводили у

веслоносов, выращенных на базе рыбхоза «Горячий Ключ», на специализированном рыбозаводном заводе растительноядных рыб и заводе «Икрыное» НПЦ «БИОС». Несмотря на единое происхождение всех маточных стад, их выращивание в неодинаковых условиях определило формирование различий по частотам аллелей и генотипов полиморфных локусов (Мельченков Е.А., Демкина Н.В. *Гетерогенность маточных стад веслоноса* // «Рыбоводство и рыболовство», 2001, № 1, с. 77–78).

Поиск биохимических маркеров, пригодных для прижизненного тестирования заводских стад стерляди и сибирского осетра, был начат в 1998 г.; изучали по 15 ферментных систем у каждого из этих видов. Впервые удалось проверить характер наследования продуктов полиморфных ферментных локусов у сибирского осетра и стерляди с помощью гибридологического анализа.

Проведенная работа позволила подготовить методические указания по использованию биохимических маркеров для оценки генетического разнообразия стад сибирского осетра и стерляди. В качестве биохимических маркеров у стерляди рекомендованы лактатдегидрогеназа, глицерол-3-фосфатдегидрогеназа, малатдегидрогеназа, 6-фосфоглюконатдегидрогеназа и глюкозо-6-фосфатизомераза (Рябова Г.Д., Политов Д.В., Офицеров М.В. и др. *Использование биохимических маркеров для оценки генетического разнообразия стад стерляди*. / Сб. науч.-технол. и метод. документации по аквакультуре. М.: ВНИРО, 2001, с. 118–132). У сибирского осетра предлагается использовать фосфоглюкомутазу, 6-фосфоглюконатдегидрогеназу, лактатдегидрогеназу и малатдегидрогеназу (Рябова Г.Д., Политов Д.В., Офицеров М.В. и др. *Использование биохимических маркеров для оценки генетического разнообразия стад сибирского осетра*. Сб. науч.-технол. и метод. документации по аквакультуре. С. 106–118).

Таким образом, за прошедшие десятилетия исследователями ВНИИПРХа не только создана методическая база для проведения генетического мониторинга стад различных видов рыб – объектов пресноводной аквакультуры, но и получен практический опыт применения этих разработок.

