

Министерство образования и науки Российской Федерации

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «БАЛТИЙСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ ИММАНУИЛА КАНТА»

(ФГАОУ ВО БФУ им. И. Канта)

УТВЕРЖДАЮ

Ректор ФГАОУ ВО «БФУ им. И. Канта»

д. фил. н., профессор

\_\_\_\_\_ А.А. Федоров

«    » \_\_\_\_\_ 2023 г.

**Отчет об эффективности метода отсекающего отбора для генетического  
оздоровления аквакультурных видов рыб (на примере карпа)**

Выполнен в рамках реализации Федеральной научно-технической программы  
по направлению генетические технологии для развития сельского хозяйства,  
соглашение о предоставлении гранта в форме субсидии № 2-365/21 от 26 ноября 2021 г.

“Создание панели геномных маркеров высокой продуктивности и  
болезнеустойчивости как основа для геномной селекции и геномного редактирования  
при создании новых отечественных пород и линий семги, форели и карпа”.

Руководитель:  
директор Центра геномных исследований  
БФУ им. Канта, к.б.н.

\_\_\_\_\_ Попадьин К. Ю.  
подпись, дата

Калининград 2023

## **СОДЕРЖАНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ	3
РЕЗУЛЬТАТЫ	4
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	6

## **ВВЕДЕНИЕ**

Процесс одомашнивания связан с деградацией геномов, характеризующейся увеличением числа, частоты и тяжести слабо-вредных вариантов. Эта деградация вызвана уменьшением эффективного размера популяции в результате эффекта “бутылочного горлышка”, усиления инбридинга и сцепления слабо-вредных вариантов с аллелями, подвергающимися искусственному отбору.

Дополнительные факторы, используемые в сельском хозяйстве в качестве инструментов для создания отсекающего отбора, могут помочь очищению генофонда одомашненных популяций от слабо-вредных и вредных вариантов. В данном отчете представлены результаты эффективности разработанной методики применения теплового шока в качестве фактора отсекающего отбора для аквакультур на примере карпа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Методика отсекающего отбора при помощи теплового шока была проверена в нескольких экспериментах на разных породах *Cyprinus carpio*. Для того, чтобы оценить различия в выживаемости после воздействия тепловым шоком на особей с повышенным генетическим грузом слабо-вредных и вредных вариантов (экспериментальную группу) и контрольную группу, был использован дополнительный фактор, индуцирующий возникновение мутаций. В экспериментальной группе перед оплодотворением сперматозоиды подвергались воздействию мутагена (N-этил-N-нитрозомочевина, ENU).

Первый эксперимент, проведенный в чашках Петри, показал статистически значимое взаимодействие между применением теплового шока и мутагеном. Особи с большим генетическим грузом были менее устойчивы к воздействию теплового шока на стадии фарингулы, чем особи в контрольной группе. Результат взаимодействия двух факторов оценивался по вылуплению особей из икры и был проанализирован при помощи полиномиальной логистической регрессии (коэффициент взаимодействия -0,03277,  $p = 0,00355$ ). При этом было также показано, что на выживаемость особей влияет эффект семьи (отдельно взятые самки и самцы), что согласуется с предположением о сильном неравенстве накопленного генетического груза в ограниченной популяции с ослабленным естественным отбором. Семья 1x1 продемонстрировала шумное и не ожидаемое увеличение процента вылупившихся икринок после теплового шока, тогда как семьи 1x2, 2x1 и 2x2 продемонстрировали статистически значимую тенденцию к снижению относительной доли вылупившихся икринок. Относительные доли были подсчитаны с помощью метрики RelativeDecrease (Kuzmin et al. 2023) и затем сравнивались при помощи парных двухсторонних U-тестов Манна-Уитни между различными концентрациями мутагена (между 0 и 1,5 ммоль ENU  $p = 0,074$ ; между 0 и 2 ммоль ENU  $p = 0,004$ ; между 1,5 и 2 ммоль ENU  $p = 0,055$ ).

Второй эксперимент проводился в аппаратах Вейса, где было расширено применение методики к промышленному масштабу выращивания особей карпа. Также, в данном эксперименте была скорректирована стадия применения теплового шока до стадии 22х сомитов. При оптимальных параметрах концентрации ENU = 2 ммоль и воздействия тепловым шоком при 38 °C в течение 40 минут было также показано значимое взаимодействие факторов теплового шока и мутагена. При взятии количества особей, вставших на плав, в группе без какого-либо воздействия в качестве 100 %, был оценен ожидаемый уровень взаимодействия между мутагеном и тепловым шоком по формуле ((шок / контроль) \* (мутаген / контроль) \* контроль), который составил 19,5287 %. В свою очередь реальная выживаемость в этой группе составила 5,3872 %. Также, взаимодействие факторов было статистически подтверждено при помощи точного теста Фишера (коэффициент = 0,276,  $p < 0.00001$ ).

Третий эксперимент был повторен для стадии 22х сомитов на чашках Петри для того, чтобы учесть влияние эффекта семьи на выживаемость (оценивалась по

количеству вставших на плав) особей. Применение метрики RelativeDecrease показало снижение выживаемости мутагенизированных особей, подвергшихся воздействию тепловым шоком, на стадии вылупления из икринок для 2 из 4 семей и после становления на плав для 3 из 4 семей. Статистически значимый эффект относительного снижения выживаемости плавающих особей при взаимодействии двух факторов наблюдался только для одной семьи 1x1 (точный тест Фишера, коэффициент = 0,363,  $p = 1,440 \cdot 10^{-4}$ ). Предположительно, данный эффект возник потому, что самец 2 и самка 2 изначально имели меньший генетический груз по сравнению с самцом 1 и самкой 1. В подтверждение этого было замечено, что отдельно от применяемого экологического стресса воздействие мутагена и теплового шока не привело к значительному снижению процента выживаемости потомства.

Четвертый эксперимент проводился параллельно с третьим, но с выращиванием особей в аппаратах Вейса. Потомство двух семей, показавшее лучшие и наименее диспергированные результаты по выживаемости в третьем эксперименте (1x1, 2x1), было высажено в пруды для дальнейшего роста, развития и наблюдения. Для высаживания были взяты только 4 группы, подвергшиеся воздействию теплового шока, но не мутагена. Через несколько месяцев потомство было выловлено из прудов и подсчитано. В прудах с особями после воздействия тепловым шоком наблюдалось значительное снижение численности по сравнению с прудами, заселенными особями из контрольных групп, в том числе с учетом численности особей фонового контроля (*Carassius carassius*).

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В настоящем отчете мы описали создание и эффективность методики применения отсекающего отбора при помощи теплового шока, которая преимущественно устраняет эмбрионы карпа, загруженные вредными мутациями, тем самым уменьшая груз вредных мутаций в генофонде карпа. Разработанная методика показала высокую эффективность и может быть внедрена в культивируемые популяции рыб для восстановления и поддержания высокого качества генофонда, что будет способствовать повышению экономической ценности рыбоводческих хозяйств.