

ГЕНЕТИЧЕСКОЕ УЛУЧШЕНИЕ ГИГАНТСКОЙ УСТРИЦЫ *CRASSOSTREA GIGAS* TH. (BIVALVIA) КАК АСПЕКТ БИОТЕХНОЛОГИИ ЕЁ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ В ЧЁРНОМ МОРЕ

А.В. Пиркова

GENETIC IMPROVEMENT OF GIGANTIC OYSTER *GRASSOSTREA GIGAS* TH. (BIVALVIA) AS AN ASPECT OF ITS CULTIVATION BIOTECHNOLOGY IN THE BLACK SEA

A.V. Pirkova

*Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского, Севастополь, Россия
apirkova@ukr.net*

Генетическое улучшение и оптимизация условий культивирования – два аспекта единого процесса биотехнологии разведения *Crassostrea gigas*. Повышение выживаемости и устойчивости к болезням, увеличение темпа роста, увеличение соотношения веса мягких тканей к весу раковины, высокая степень усвоения пищи, – все эти количественные признаки поддаются улучшению [12]. Генетического улучшения можно достичь различными способами: селекцией, получением гетерозисных гибридов и полиплоидизацией. Селекция по определённому признаку может быть успешной, если известна наследуемость этого признака. Коэффициент наследуемости размера у гигантской устрицы составляет 0,2–0,4 [6]; т.е. реализации роста у потомков на 60–80 % зависит от условий их выращивания. Гетерозис и полиплоидизация – наиболее быстрые пути индуцирования генетических изменений. При гетерозисе у гибридов первого поколения усилен рост, продуктивность и выживаемость по сравнению с потомками каждой родительской линии. Высоким темпом роста и выживаемостью отличались гетерозисные гибриды *S. gigas*, полученные при скрещивании инбредных устриц методом подбора родительских пар [4; 7]. Эффект гетерозиса обнаружен у 20 % скрещиваний [4].

При искусственном разведении устриц в питомниках маточное стадо – это небольшое количество экземпляров, по сравнению с числом особей вида. В таком случае некоторые генетические варианты или вовсе отсутствуют, или присутствуют с нетипичной для вида частотой [12]. Пополнение маточного стада особями, отобранными из природных популяций, как это практикуется в питомнике SATMAR (Франция), частично восполняет генетическое разнообразие и позволяет избегать близкородственных скрещиваний [8]. Однако сознательное применение инбридинга при выведении чистых линий является общим приёмом селекции для улучшения пород [12].

Цель работы – изучение темпа роста и выживаемости личинок гигантской устрицы *S. gigas*, полученных при групповом скрещивании атлантической аутбредной когорты производителей с черноморской инбредной линией.

Материал и методы. Работа выполнена в устричном питомнике ИнБЮМ (г. Севастополь) в 1999–2006 гг. В 1998 г. из Карадагского отделения ИнБЮМ были переданы 25 экз. трёхлетних *S. gigas* в качестве производителей [2]. В 1999 г. в устричном

питомнике в результате группового скрещивания ($10 \text{♀} \times 1 \text{♂}$) получено потомство гигантской устрицы. Ежегодно, начиная с 2000 по 2005 гг., личинок получали от скрещиваний потомков одних родителей (сисбов) и (или) при возвратных скрещиваниях (родителей с потомками). В качестве маточного стада использовали до 50 экз. устриц, а для скрещивания отбирали около 30 экз. устриц возраста от 1 до 4 лет.

В марте 2004 г. из питомника SATMAR (Франция) был получен спат *C. gigas* высотой раковины около 15 мм. До половозрелости его дорастивали в выростном садке на мидийно – устричной ферме в бухте Карантинная (г. Севастополь). В 2006 г. были проведены скрещивания устриц черноморской когорты (№ 1, инбридинг), устриц атлантической когорты (№ 2, аутбридинг) и перекрестное скрещивание (№ 3).

Методы кондиционирования производителей, стимуляции их нереста и выращивания личинок описаны ранее [3]. Состав корма и концентрация микроводорослей были аналогичны во всех скрещиваниях. Начальная плотность посадки личинок в течение двух суток от момента оплодотворения составила 50 тыс./л. В скрещиваниях № 1 и № 2 личинок на стадиях велигера и педивелигера выращивали при оптимальной плотности посадки – 10 и 5 тыс. лич./л соответственно; в скрещивании № 3 – при 30 и 15 тыс. лич./л.

Гетерозисную силу гибридов вычисляли по формуле:

$$h = \frac{Q}{W} \quad (1)$$

где Q – двойное отклонение исследуемого признака от среднего родительского значения; W – разница между величинами признака родительских линий [5].

Индекс формы раковины производителей рассчитывали по формуле [10]:

$$IF = - \frac{(H + C)}{L} \quad (2)$$

где H – высота, мм; C – толщина, мм; L – длина, мм раковины устриц.

Результаты и их обсуждение. Сравнение метрических характеристик производителей, отобранных для скрещивания в 2006 году, показало, что у черноморской когорты устриц более плоская раковина, чем атлантической. Об этом можно судить как по индексу формы (IF), который равен 2,15 и 2,50 соответственно у черноморских и атлантических, так и по показателю отношения высоты к толщине раковины. Так, у 73 % черноморских производителей высота раковины больше толщины в 3,0–4,2 раза. Примерно такая же доля атлантических устриц, у которых высота раковины превышает толщину в 1,41–3,0 раза. Черноморская когорта инбредных устриц была получена в результате многолетнего искусственного отбора и близкородственных скрещиваний. Коэффициент инбридинга, определенный согласно графику [1], составил 0,50–0,75. Отход инбредных устриц, в основном, происходил на личиночных стадиях, поэтому слабо приспособленные особи не вовлекались в последующие скрещивания. Атлантическая когорта устриц получена в питомнике SATMAR при скрещивании маточного стада с устрицами, ежегодно отбираемыми из природных популяций по критерию формы и внешнего вида раковин. Для исключения близкородственных скрещиваний, маточное стадо ежегодно пополнялось устрицами из природных поселений [8].

Личинки, полученные при скрещивании черноморской когорты инбредных устриц с атлантической, по темпу роста и особенно выживаемости значительно превосходили потомков от скрещивания устриц атлантической или черноморской когорты. Продолжительность выращивания личинок, от момента оплодотворения до оседания на субстрат, в скрещиваниях черноморских (№ 1) и атлантических устриц (№ 2) составила 25 суток, а в перекрестном скрещивании (№ 3) – 21 сутки. За период выращивания среднесуточный прирост гибридных личинок в 1,2 раза превысил прирост личинок от двух других скрещиваний и составил 13 мкм/сут.

На стадии велигера (возраст 2–10 сут.) темп роста личинок во всех скрещиваниях был аналогичным. На стадиях поздней великонхи и педивелигера гибридные личинки превосходили в росте на 4,7 мкм/сут. не только инбредных, но и личинок от скрещивания № 2. В этот же период во всех скрещиваниях было отмечено максимальное варьирование размеров личинок. Так, коэффициент вариации размеров гибридных личинок составил 11,5 %, а в скрещиваниях № 1 и № 2 – 25,3 и 17,3 %.

На протяжении всего периода выращивания выживаемость гибридных личинок была максимальной. Если в скрещиваниях № 1 и № 2 максимальный отход (30 и 16,6 % соответственно) был отмечен на 7 сутки от момента оплодотворения, а на 14 сутки культивирования в инбредном скрещивании осталось 52,6 %; в аутбредном – 72,6 %, то в скрещивании № 3 насчитывалось 93,8 % личинок от исходного количества. Через три недели после скрещивания выживаемость личинок в опытах № 1 и № 2 составила соответственно 32,3 % и 56,3 %, а в № 3 – 86,4 %. Гетерозисная сила (h) гибридов по выживаемости, определенная для личинок на стадии педивелигера, составила 3,5. В этот период все гибридные личинки были готовы к оседанию. В двух других скрещиваниях до момента оседания личинок дорастивали ещё 4 суток. Не смотря на то, что выращивание гибридных личинок (скрещивание № 3) проходило при плотности посадки в три раза превышающей оптимальные значения, а выращивание личинок в опытах № 1 и № 2 – при оптимальных условиях, гибридные личинки по темпу роста и выживаемости превосходили не только потомков черноморской, но и атлантической когорты.

Преобладание гибридов первого поколения над родительскими линиями объясняется наследованием доминантных аллелей, скрывающих вредные рецессивные мутации многофункциональных генов [7; 9]. С физиологической точки зрения у гибридов, не зависимо от рациона, более эффективны энергетический и белковый обмен и усвоение пищи [4; 6; 7]. Гибридную силу возможно объяснить ещё и тем, что у потомков, полученных в результате эколого-географического скрещивания, норма реакции на изменяющиеся условия среды расширяется до пределов исходных популяций [1], что было показано на примере жемчужной устрицы [11].

Ранее методом подбора инбредных родительских пар в одном из пяти скрещиваний *S. gigas* были получены гетерозисные потомки [4]. Инбредные линии были выведены в результате самооплодотворения криосохранённой спермой после инверсии пола. Известно, что инверсия пола у гигантской устрицы может происходить в период между двумя нерестами. Сложность метода получения инбредных линий таким способом привела к засорению маточного стада на 60 % [4].

Заключение

Предложенный нами способ получения гетерозисных личинок гигантской устрицы *C. gigas* в питомнике превосходит по эффективности другие скрещивания в 6,7–8,2 раза. Эффективность в данном случае – это суммарное значение показателей превосходства личинок по скорости роста (в 1,2 раза) и выживаемости (в 2,5 и 4 раза) при плотности их посадки в три раза превышающей оптимальные значения, при которых выращивали личинок от других скрещиваний.

Список использованной литературы

1. Дубинин Н.П. Генетика. Кишнев: Штиинца, 1985. 526 с.
2. Орленко А.Н. Методы стимуляции созревания и нереста гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Thunberg) в искусственных условиях // Рыбное хозяйство Украины. 2006. № 1. С. 12–13.
3. Пиркова Г.В., Ладигина Л.В. Пат. № 76680 С2, UA, МПК А01 К 61/00. Спосіб вирощування гігантської устриці *Crassostrea gigas* у Чорному морі / Пиркова А.В., Ладыгина Л.В.(UA); заявитель Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины (UA). № а 200507328; Заявл. 22.07.05; Опубл. 15.08.2006, Бюл. № 8.
4. Bayne B.L. Feeding behavior and metabolic efficiency contribute to growth heterosis in Pacific oysters *Crassostrea gigas* (Thunberg) / B.L. Bayne, D.Hedgecock, D. McGoldrick, R. Rees // Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 1999. Vol. 233, № 1. P. 115–130.
5. Hedgecock D. Hybrid vigor in Pacific oysters: An experimental approach using crosses among inbred lines / D. Hedgecock // Journal of Shellfish Research. 1994. Vol. 13, № 1. P. 278–279.
6. Hedgecock D. Genetic improvement of farmed Pacific oysters on the U.S. west coast by selection and crossbreeding / D. Hedgecock // Aquaculture'98 Book of Abstracts. 1998. P. 236.
7. Hedgecock D. Improving Pacific oyster brood stock through crossbreeding / D. Hedgecock, J.P. Davis // Journal of Shellfish Research. 2000. Vol. 19, № 1. P. 614–615.
8. Kuczer J.-C. Rapport de Stage. C.F.P.P.A. de Coutances session BPAM. 1993–1994. 79 p.
9. Launey S. High Genetic Load in Pacific Oyster *Crassostrea gigas* / S. Launey, D. Hedgecock // Genetics. 2001. Vol. 159, № 1. P. 255–265.
10. Oheix J. Essai d'affinage en mer d'huitres creuses *Crassostrea gigas* issus de l'étang de thau / J. Oheix, D. Coatanea // Rapports internes de la Direction des Ressources Vivantes de l'IFREMER. RIDRV – 93 024 RA / Palavas. 1993. 36 p.
11. Sakaguchi Rinzo. Culturing Pearl Oyster. // Publication number: JP2000354434; Application number: JP19990167046 19990614; Classification: – international: A01K61/00; A01K61/00; (IPC1–7): A01K61/00.
12. Wilkins N.P. The rationale and relevance of genetics in aquaculture an overview / N.P. Wilkins // Aquaculture. 1981. №. 22. P. 209–228.