

УДК 639.3

БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ СОХРАНЕНИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ ПРИ ВОСПРОИЗВОДСТВЕ СИГОВЫХ РЫБ

М.А. Андрияшева,д-р биол. наук, Государственный научно-исследовательский институт озерного и речного рыбного хозяйства
ФГБНУ «ГосНИОРХ», Россия, Санкт-Петербург

E-mail: mariand12@yandex.ru

Аннотация. Показаны два биотехнических приема, направленных на сохранение уровня генотипического разнообразия при заводском воспроизводстве и разведении ценных видов сиговых рыб. Комплекс мер, предлагаемых для повышения эффективности воспроизводства наиболее ценных видов рыб, обеспечивает сохранение оптимальной генетической структуры в процессе искусственного воспроизводства сиговых рыб и приводит к повышению продуктивности маточных стад. Разработанная биотехнология может найти применение как при проведении природоохранных мероприятий по восстановлению рыбных запасов, так и для повышения эффективности заводского разведения ценных объектов аквакультуры.

Ключевые слова: ценные виды рыб, сиговые, воспроизводство, инбридинг, осеменение икры, самки, самцы, скрещивание.

BIOPROCESSING METHODS OF CONSERVATION OF GENETIC DIVERSITY AT REPRODUCTION OF WHITEFISH

M.A. Andrijasheva

Summary. Two biotechniques, directed on conservation of level of a genotypic diversity at factory reproduction and delution of valuable kinds whitefish fish are shown. Series of measures, offered for raise of efficiency of reproduction of the most valuable kinds of fish, ensures conservation of optimum genetic frame in the course of artificial reproduction сиговых fish and leads to raise of efficiency of ewe flocks. Developed biogeotechnology can find application as at carrying out of nature protection measures for restoration of fish stores, and for raise of efficiency of factory delution of valuable entities of an aquaculture.

Keywords: valuable kinds of fish, whitefish, reproduction, an inbreeding, fertilization of caviar, a female, males, mating.

В условиях постоянного сокращения рыбных запасов наиболее актуальной задачей рыборазведения является восстановление объемов воспроизводства ценных видов рыб, в том числе сиговых, многие виды которых являются национальным достоянием. Как показывает мировой опыт, традиционные меры по восстановлению запасов часто не только

не дают ожидаемого эффекта, но и усугубляют положение. Для того чтобы сделать эти меры действительно эффективными, необходимо создание принципиально новой – генетически обоснованной системы интенсивного воспроизводства как для рациональной эксплуатации природных ресурсов, так и для эффективного развития аквакультуры.

С целью комплексного решения этих проблем разработаны два биотехнических приема, направленных на сохранение уровня генотипического разнообразия при заводском воспроизводстве и разведении ценных видов сиговых рыб:

1. *Способ получения потомства* сиговых рыб [4].

2. *Метод оптимизации генетической структуры* одомашненных стад сиговых рыб [3, 2].

С целью повышения эффективности процесса искусственного воспроизводства сиговых рыб была скорректирована технология получения заводского потомства, а именно:

- ◆ усовершенствована технология осеменения икры;

- ◆ разработана специальная схема использования самок и самцов при воспроизводстве следующего поколения.

В процессе этой работы контролировали результаты различных вариантов получения потомства – наряду с индивидуальными скрещиваниями были проанализированы разные варианты массовых, при которых использовали смесь икры и спермы от разного количества самок и самцов. Результаты оценки индивидуальных и массовых скрещиваний пеляди по выживаемости (110 тыс. икринок) на разных стадиях развития (1-е, 10-е и 30-е сутки развития), а также по степени хромосомных нарушений в эмбриогенезе показали, что на качество потомства (при прочих равных) влияет сам *способ осеменения*.

Сравнение двух способов осеменения – традиционного, предусматривающего осеменение смеси икры от большого количества самок (30–40) смесью спермы от 30–40 самцов, и нового – с использованием «малых» порций как икры (от 3–5 самок), так и спермы (от 8–10 самцов), – показало, что разработанный метод оказался на 10% более эффективным, чем традиционный. Предложенный метод послужил основой для разработки конкретной схемы использования производителей в процессе заводского разведения разных видов сигов – пеляди, чудского и сямозерского сига. В результате многолетних исследований было показано, что качество заводского потомства зависит от *соотношения* самок и самцов, использованных при его получении. Наиболее эффективным оказалось преобладание самцов ($1♀ : 2♂$) – рыбоводный эффект при этом достигал 20–25% у разных видов. При равном соотношении самцов и самок ($1♀ : 1♂$) оплодотворяемость икры снижалась в среднем на 10%, а режим «экономии» самцов ($2♀ : 1♂$) приводил к падению выживаемости потомства в эмбриогенезе на 26–29% (табл. 1).

Для предупреждения негативных последствий часто практикуемого на рыбозаводах режима «экономии» самцов была предложена специальная схема использования производителей, которая предусматривает применение **при осеменении** каждой «малой» порции икры соотношения $1♀ : 2♂$; а также **многократное**

Таблица 1

Оценка выживаемости потомства пеляди при разном соотношении самок и самцов

Соотношение самок и самцов	Выживаемость эмбрионов, %	Аномальные эмбрионы, %	Выход личинок, %
2:1	65,2 ± 2,7	3,8	62,7 ± 2,7
1:1	76,3 ± 1,8	3,4	73,6 ± 1,9
1:2	83,6 ± 1,5	3,0	81,1 ± 1,7
1:3	82,4 ± 1,6	3,6	79,4 ± 1,7

(4-кратное) использование **одних и тех же** «малых» смесей спермы для осеменения **разных** смесей икры. Повторение этого приема в период нереста приводит к изменению фактического соотношения использованных производителей в маточном стаде в целом на $2\text{♀} : 1\text{♂}$. Это позволяет сократить долю самцов в маточном стаде и уменьшить расходы на его содержание без потери рыбоводного качества потомства (табл. 2).

Вместе с тем известно, что эффективность любого способа получения потомства при искусственном воспроизводстве не должна оцениваться только по рыбоводному эффекту. Важнейшим критерием качества заводского потомства являются показатели его генетической гетерогенности, которые традиционно оцениваются при изучении белкового полиморфизма. Один из них – уровень средней гетерозиготности – рассматривается как «индикатор генетических потенций популяции, лимитирующий продуктивные качества рыб» [5]. Сравнительная генетическая оценка потомств, полученных при разном соотношении самок и самцов, показала, что при использовании предложенного способа (опыт) величина

гетерозиготности (h_6) оказалась максимальной, что может характеризовать достигнутый при воспроизводстве уровень генетического разнообразия как оптимальный для вида (табл. 3).

Разработанная технология воспроизводства позволила обеспечить высокий уровень генетического разнообразия, сведя на нет негативные последствия уменьшения численности самцов. Это свидетельствует о том, что предлагаемая схема использования производителей при воспроизводстве разных видов сиговых рыб является эффективной не только по рыбоводным, но и по генетическим критериям. Она предусматривает поддержание как определенной численности самок и самцов и их соотношения при получении потомства, так и способ увеличения эффективной (реализованной в потомстве) численности сверх суммарного числа использованных производителей за счет интенсивной рекомбинации при осуществлении разработанной системы использования самок и самцов в процессе воспроизводства.

Актуальность разработки *конкретных* мер по сохранению оптимального уровня генетического разнообразия при разведении разных видов рыб вы-

Таблица 2

Оценка выживаемости потомства при разных схемах использования производителей

Вид	Варианты осеменения	Развивающиеся эмбрионы на 30-е сутки, %	Количество уродливых эмбрионов, %	Выход личинок, %
Пелядь	«малые» партии	82,3 ± 1,6	3,8	79,2 ± 1,7
	традиционное	68,6 ± 2,6	5,1	65,0 ± 2,7
Чудской сиг	«малые» партии	84,3 ± 1,5	1,8	82,7 ± 1,6
	традиционное	71,3 ± 1,9	3,4	68,9 ± 2,6
Сязозерский сиг	«малые» партии	83,1 ± 1,6	2,4	81,1 ± 1,6
	традиционное	68,3 ± 2,5	4,8	65,0 ± 2,8

Таблица 3

Показатели аллозимной гетерозиготности (h_6) в заводских стадах сиговых рыб

Вариант	Пелядь	Сязозерский сиг
Опыт	0,31 ± 0,032	0,19 ± 0,027
Контроль	0,12 ± 0,022	0,11 ± 0,022

звана необходимостью поддержания в процессе воспроизводства особенностей популяционной структуры вида, поскольку каждый вид имеет свой оптимум и любое отклонение от него нарушает нормальное функционирование популяционной системы [1].

С целью сохранения оптимального уровня гетерогенности стад при разведении сиговых рыб был разработан метод повышения аллозимной гетерозиготности одомашненных стад пеляди – *Coregonus peled* Gm. [2]. В результате комплексного исследования полиморфных белковых локусов и количественных признаков (морфологических, меристических, репродуктивных) был определен режим отбора молодежи пеляди по весу, который привел к повышению (на 10–15%) уровня гетерозиготности по 6–9 белковым локусам. В результате применения умеренного (50%-го) отбора годовиков у выращенных из них производителей на 25–30% увеличился ряд показателей, определяющих продуктивность маточных стад: плодовитость самок и самцов, общая жизнеспособность, выживаемость эмбрионов и гомеостаз развития. В итоге суммарный показатель продуктивности – количество личинок от 1 самки, на 35% превысил аналогичные значения у рыб, не проходивших отбор, направленный на повышение гетерозиготности.

В настоящее время разработанный метод используется для повышения продуктивности и стабилизации генетической структуры породы Ропшинской пеляди. Расширение области применения этого метода, а именно возможность его использования для компенсации потерь генетического разнообразия при воспроизводстве ценных видов рыб, потребовала оценки последствий длительного использования разработанной генетической технологии.

С этой целью с помощью электрофореза проводился мониторинг уровня средней гетерозиготности по 6 белковым локусам (H6) в племенных стадах пеляди разных поколений, а также исследовалась совокупность полигенных признаков, определяющих основные продуктивные качества у половозрелых рыб, с помощью методов многомерной статистики. Результаты мониторинга показали, что в ряду последовательных поколений происходит постепенное увеличение H6 – с 0,253 в F0 до 0,363 в F3 ($p < 0,01$). Однако при этом наблюдается закономерное снижение эффективности применяемого метода (с 28% в F6 до 5% в F3), которое свидетельствует о сохранении в одомашненных стадах регуляторных механизмов, поддерживающих оптимальный для данного вида уровень аллозимной гетерозиготности и лимитирующих его «излишнее» увеличение.

Аналогичный контроль динамики полигенных признаков с помощью компонентного анализа показал, что оптимизация уровня генетического разнообразия по белковым локусам привела и к стабилизации генетической структуры стад по комплексу количественных признаков, определяющих основные продуктивные качества рыб. При этом плодовитость самок возросла в ряду поколений с 38,1 тыс. шт. F1 – до 47,0 тыс. в F5, выживаемость эмбрионов – с 76,6 до 85,0% соответственно.

При сопоставлении параметров гетерогенности моногенных (H3) и полигенных (r_w) признаков с показателями продуктивности различных маточных стад было обнаружено явное преимущество селекционного стада, при формировании которого использовался метод повышения аллозимной гетерозиготности. В заводском стаде, которое бесконтроль-

Таблица 4

Показатели гетерогенности и продуктивности в стадах пеляди различного происхождения

Стадо	Гетерозиготность НЗ	Гетерогенность по плодовитости, гв		Плодовитость		Выживаемость эмбрионов, %
		рабочая	относительная	рабочая, тыс.шт.	относительная, шт./г	
Природное	0,24 ± 0,02	0,52 ± 0,12	0,56 ± 0,13	33,0 ± 1,2	61,3 ± 1,7	79,4
Заводское	0,19 ± 0,02	0,33 ± 0,10	0,40 ± 0,12	20,1 ± 0,8	52,8 ± 0,9	66,1
Селекционное	0,34 ± 0,03	0,48 ± 0,09	0,50 ± 0,08	45,2 ± 1,6	71,2 ± 1,7	85,1

но разводилось более 20 лет, эти же показатели были минимальными, а у рыб природного происхождения (из оз. Ендырь) – выше, чем у заводских, но ниже, чем у племенных (табл. 4).

Полученные данные свидетельствуют об отсутствии негативных последствий длительного использования генетической технологии для оптимизации генетической структуры стад сиговых рыб и позволяют рекомендовать ее как превентивную меру для сохранения генетического разнообразия при искусственном воспроизводстве видов, имеющих сходную с сиговыми внутриволюционную структуру. Таким образом, комплекс мер, предлагаемых для повышения эффективности воспроизводства наиболее ценных видов рыб, обеспечивает сохранение оптимальной генетической структуры в процессе искусственного воспроизводства сиговых рыб и приводит к повышению продуктивности маточных стад. Разработанная биотехнология может найти применение как при проведении природоохранных мероприятий по восстановлению рыбных запасов, так и для повышения эффективности заводского разведения ценных объектов аквакультуры. Вместе с тем разработанная технология может быть наиболее эффективна при решении проблем рационального использования генетических ресурсов толь-

ко тех видов, которые имеют сходную с сиговыми рыбами структуру популяций, в том числе отличаются высоким уровнем гетерозиготности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Алтухов Ю.П. Внутривидовое генетическое разнообразие: мониторинг и принципы сохранения // Генетика, 1995. – Т. 31. – №10. – С. 1333–1357.
2. Андрияшева М.А. Генетические аспекты разведения сиговых рыб. – СПб., изд. ГосНИОРХ, 2011. – 639 с.
3. Андрияшева М.А., Локшина А.Б. Популяционно-генетический подход в селекции пеляди (*Coregonus peled* Gm.). Сообщение I. Метод повышения гетерозиготности стад по белковым локусам // Генетика, 1987. – Т. 23. – №12. – С. 2085–2097.
4. Андрияшева М.А., Черняева Е.В., Кайданова Т.И., Ефанов Г.В. Метод повышения эффективности заводского воспроизводства сиговых рыб // Тезисы научно-практ. конф. «Пресноводная аквакультура: состояние, тенденции и перспективы развития». – Тюмень, 2008. – С. 6–8.
5. Hedrick P.W., Brussard P.F., Allendorf F.W., Beardmore J.A., Orsack S. Protein variation, fitness and captive propagation // Zool. Biol., 1986. – V. 5. – №2. – P. 91–99.