

Федеральное агентство по рыболовству  
Государственный научный центр Российской Федерации  
Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт  
рыбного хозяйства и океанографии»



# **СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ И РАЦИОНАЛЬНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВОДНЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ РЕСУРСОВ**

Материалы II Международной научно-практической  
конференции

Москва, ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО», 18-22 ноября 2024 г.

Издательство ВНИРО

Москва, 2025

УДК 574.55:502:517.088.1

С 56

Рецензенты:

*Булатов О.А.*, доктор биологических наук, директор по научной работе ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО»

*Криксунов Е.А.*, чл.-корр. РАН, доктор биологических наук, профессор кафедры ихтиологии биологического факультета МГУ

С 56 **Современные методы оценки и рационального использования водных биологических ресурсов.** Материалы II Международной научно-практической конференции, Москва, ФГБНУ «ВНИРО», 18-22 ноября 2024 г. / Авторы-составители: Д.А. Васильев, А.Е. Бобырев, А.И. Михайлов, Н.Г. Западаева, В.Р. Соколовский. М.: Изд-во ВНИРО. 2025. 181 с.

ISBN 978-5-85382-561-1

© ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО», 2025

© Васильев Д.А., Бобырев А.Е., Михайлов А.И., Западаева Н.Г., Соколовский В.Р., 2025

## **ГЕНЕТИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ОСЕТРОВЫХ КАК ИНСТРУМЕНТ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА**

**Н.С. Мюге, А.Е. Барминцева**

*ГНЦ РФ ФГБНУ «ВНИРО», Москва, Россия*

E-mail: [muge@vniro.ru](mailto:muge@vniro.ru)

Ключевые слова: осетровые, аквакультура, митохондриальный гаплотип, искусственное воспроизводство, оценка эффективности

Значительное сокращение запасов осетровых, наблюдаемое в течение последних лет, требует принятия неотложных мер по повышению эффективности работ по восстановлению запасов этих ценных видов рыб. На сегодняшний день мероприятия по искусственному воспроизводству осетровых являются одним из основных, а в некоторых случаях единственным источником восстановления, сохранения и пополнения запасов этих ценных видов в водных объектах рыбохозяйственного значения. С 2015 года и по сегодняшний день ФГБНУ «ВНИРО» участвует в комплексной программе «Осетровые Каспия». Целью данной программы является разработка научно-обоснованной стратегии восстановления природных популяций осетровых видов рыб.

В связи с неравномерностью объемов выпуска молоди осетровых рыб в разные годы и различной долей участия в этом процессе ОРЗ возникает необходимость ежегодной оценки эффективности искусственного воспроизводства, контроля генетического разнообразия получаемого потомства, оценки вклада естественного размножения и заводского воспроизводства в пополнение популяций осетровых рыб, а также определение оптимальной массы молоди осетровых, выпускаемой рыбоводными заводами для увеличения ее выживаемости в естественных условиях. Все эти задачи были решены с помощью молекулярно-генетической идентификации на основе анализа митохондриальной и ядерной ДНК (метод генетического мечения). Метод генетического мечения предполагает предварительное генотипирование всех производителей (и самок и самцов), участвующих в нерестовой кампании, а также молоди, выловленной при мониторинговой съемке из естественной среды. Это дает возможность в дальнейшем определить для любого малька заводского происхождения, выловленного из природы, родительскую пару, и, соответственно, место и год выпуска [Шипулин и др., 2023].

Алгоритм данного метода включает в себя:

1. Определение генотипов самцов и самок, участвующих в нерестовой кампании;
2. Составление схем скрещивания производителей;

3. Определение генотипов молоди, выловленной в реке и в море;
4. Сопоставление генотипов молоди с генотипами производителей;
5. Идентификация происхождения молоди от конкретной пары производителей.

Преимущество данного метода заключается в возможности вовлечения в мониторинг всех производителей осетровых, используемых на осетровых рыбоводных заводах, точной идентификации происхождения заводской молоди, масштабном сравнении выживаемости, роста и миграций молоди стандартной и крупной массы.

За годы работы программы с 2015 года по настоящее время было прогенотипировано 6731 образцов осетровых видов рыб. Из них 3106 самок, 1093 самца, а также 2532 особи молоди, выловленной как в реке Волга, так и в Каспийском море в различных мониторинговых рейсах, проводимых «КаспНИРХ».

Так как митохондриальная ДНК наследуется по материнской линии, то определялся митохондриальный гаплотип самки и молоди по участку последовательности контрольного региона (Д-петли) [Таанман, 1999]. Выделение и последующую очистку ДНК из фиксированных в этаноле фрагментов плавников осетровых рыб проводили на адсорбционных колонках PALL 5051 (AcroPrep™ 96 1 ml filter plate with 1.0 µm Glass Fibermedia, natural housing) в соответствии с протоколом Канадского центра по ДНК-штрихкодированию ([http://www.ccdb.ca/docs/CCDB\\_DNA\\_Extraction.pdf](http://www.ccdb.ca/docs/CCDB_DNA_Extraction.pdf)) [Ivanova et al., 2006]. Анализ полиморфизма митохондриальной ДНК проводился методом ПЦР с использованием праймеров: DL651 (ATCTTAACATCTTCAGTG) и M13AHR3 (TCACACAGGAAACAG-CTATGACATACCATAATGTTTCATCTACC) [Мюге и др., 2008]. Секвенирование контрольного региона митохондриальной ДНК проводилось с одной цепи с универсального праймера M13(-22) - TCACACAGGAAACAGCTATGAC на капиллярном генетическом анализаторе «ABI 3500 Genetic analyzer», с использованием набора реактивов BigDye™ Terminator Kit v.3.1. Анализ и выравнивание последовательностей проводилось с помощью биоинформационного пакета программ SeqMan®. Version 12.0. (DNASTAR, USA). Также для каждой особи был определен митохондриальный гаплотип и полученные данные сравнены с имеющейся коллекцией гаплотипов данного вида, созданной на базе ФГБНУ «ВНИРО».

Микросателлитный анализ проведен по 5 локусам, используемым для стандартной генетической паспортизации осетровых [Мюге, Барминцева, 2020]. Следует учитывать, что русский осетр является тетраплоидом, то есть каждая особь несет от 1 до 4-х аллелей на locus, поэтому информативность 5 микросателлитных локусов достаточно высока для определения происхождения потомства [Барминцева, Мюге, 2013]. На основании анализа электрофореграмм по каждому из локусов были выявлены аллели, характерные для

исследуемых особей. Электрофоретическое разделение продуктов амплификации проводили в системе капиллярного электрофореза “ABI 3500 Genetic analyzer”, определение длин аллелей осуществляли с применением программного обеспечения GeneMarker v.1.2 (Softgenetics, USA).

Для определения происхождения молоди – искусственное или природное – была использована разработанная в отделе молекулярной генетики программа определения родительской пары для исследуемой молоди для тетраплоидных видов рыб Tetraploid Parentage Analyze ver. 02 (TPA v.02) (операционная система MS Windows).

Код программ написан на языке программирования Pascal, отлажен и компилирован в исполняемый файл в среде Delphi 10. Тестирование работоспособности пакета программного обеспечения проводилось как на смоделированных выборках, так и на выборках из реальных кроссов, аквакультурных стад и природных популяций, генотипирование которых проводится в отделе молекулярной генетики ФГБНУ «ВНИРО».

Программа TPA\_v.02 производит последовательно для каждой особи из списка молоди (kids.txt) перебор всех возможных генотипов потомства для всех самцов и самок и при полном совпадении по всем локусам производит приписывание данной особи к потомкам данной пары производителей.

Входные файлы следующие.

Dams.txt – состоит из ID участвующих в нерестовой компании самок, аллельного состава по шести микросателлитным локусам и мт-ДНК гаплотипа.

Sires.txt – файл состоит из ID самцов, участвующих в нерестовой кампании, аллельного состава по шести локусам и мт-ДНК гаплотипа.

Kids.txt - список и генотипы анализируемого потомства.

Число особей, указываемых в файлах родителей и в файле потомков, может быть до 1000, что определяется ограничением объема оперативной памяти, скоростью процессора и, соответственно, временем вычислений. При необходимости размер входного файла может быть увеличен. Программа последовательно для каждой особи из списка потомства вычисляет, может ли данная особь являться непосредственным потомком каждой возможной пары родителей. Результат (вероятность быть потомком конкретной пары) записывается в файл Results.txt. В случае, когда искомая пара родителей найдена, данные записываются в файл PositiveResults.txt, который и является главным информационным файлом.

Подводя итоги 9-летней программы «Осетровые Каспия» можно сказать, что основные научные задачи, поставленные перед данной программой, были решены:

1. Искусственное воспроизводство на Каспии – это основной и эффективный источник пополнения естественной популяции русского осетра. Около 80 % исследованной молодежи были приписаны к определенной родительской паре с определенного ОРЗ (осетрового рыбозаводного завода).

2. Генетическое мечение – это эффективный инструмент для прослеживаемости происхождения молодежи осетровых как на Каспии, так и в других водных бассейнах России.

3. С помощью метода генетического мечения возможна оценка эффективности работы каждого ОРЗ, точное определение размерно-весовых характеристик с учетом точного знания возраста особи, изучение кормовых и нерестовых миграций.

4. В дальнейшем возможна оценка вклада Российской Федерации в восстановление каспийской популяции осетровых в рамках работ по Всекаспийской осетровой съемке.

5. Искусственное воспроизводство на Каспии смещено в сторону выпуска русского осетра. 98 % всего выпускаемого материала составляет русский осетр. Выпуск севрюги и белуги составляет доли процентов, данные виды в мониторинговых съемках практически не встречаются (единичные случаи за 9 лет мониторинга), что неизбежно приведет к потере этих видов в ближайшем будущем.

6. Определено, что выживаемость особей укрупненной навески (6-8 г) втрое эффективнее, чем стандартной навески, которую планово выпускают осетровые заводы (3 г).

7. Генетическое мечение позволяет определять происхождение как младших возрастных групп, так и старших (на настоящий момент до 9+ возраста), массово представленных в ННН продукции.

8. Созданы рыбозаводно-биологические базы данных на производителей осетровых рыб, которые можно использовать для улучшения и корректировки технологий выращивания, получения и подращивания молодежи на ОРЗ.

#### Список литературы

- Барминцева А.Е., Мюге Н.С. 2013. Использование микросателлитных локусов для установления видовой принадлежности осетровых (Acipenseridae) и выявления особей гибридного происхождения // Генетика. Т. 49. № 9. С. 1093. DOI: 10.7868/S0016675813090038.

- Мюге Н.С., Барминцева А.Е., Расторгуев С.М. и др. 2008. Полиморфизм контрольного региона митохондриальной ДНК восьми видов осетровых и разработка системы ДНК-идентификации видов // Генетика. Т. 44. № 7. С. 913-919.
- Мюге Н.С., Барминцева А.Е. 2020. Геномные исследования для сохранения осетровых: анализ наследования полиплоидных локусов и разработка панели маркеров для идентификации гибридов осетровых и продукции из них // Вестник Российского фонда фундаментальных исследований. № 2(106). С. 78-87. DOI: 10.22204/2410-4639-2020-106-02-78-87.
- Шипулин С.В., Власенко С.А., Кириллов Д.Е. и др. 2023. Биологические показатели и прослеживаемость происхождения молоди русского осетра в низовьях реки Волга и северо-западной части Каспийского моря // Труды ВНИРО. Т. 192. С. 5-16. DOI: 10.36038/2307-3497-2023-192-5-16.
- Ivanova N.V., Dewaard J.R., Hebert P.D.N. 2006. An inexpensive, automation friendly protocol for recovering high quality DNA // Molecular Ecology Notes. № 6. P. 998–1002. DOI:10.1111/j.1471-8286.2006.01428.x
- Taanman J.-W. 1999. The mitochondrial genome: structure, transcription, translation and replication. // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics. № 1410(2). P. 103–123. DOI:10.1016/s0005-2728(98)00161-3.