

АКВАКУЛЬТУРА И ИСКУССТВЕННОЕ ВОСПРОИЗВОДСТВО

УДК 575:639.371.2:639.31-97

ФОРМИРОВАНИЕ МАТОЧНОГО СТАДА СИБИРСКОГО ОСЕТРА *ACIPENSER BAERI BRANDT* ОБСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ В ИНДУСТРИАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ И ОЦЕНКА ЕГО ГЕНЕТИЧЕСКОЙ ГЕТЕРОГЕННОСТИ

© 2008 г. С.А. Нефедов¹, Н.В. Демкина², Е.В. Новикова¹, И.В. Нефедова¹

1 – Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства»,

2 – ФГОУ ВПО «Астраханский Государственный Технический Университет»
Дмитровский филиал, Московская обл., п. Рыбное 141821

Поступила в редакцию 04.07.2007 г.

Впервые сформировано гетерогенное маточное стадо обского осетра, получено потомство от производителей I поколения доместикиции в условиях тепловодного бассейнового хозяйства. Содержание коллекционных стад осетровых рыб связано с необходимостью сохранять генетическую гетерогенность материала. Анализ частот генотипов полиморфных локусов ферментов и сывороточных белков у молоди и производителей обского осетра позволяет констатировать факт поддержания генетической изменчивости в изученной выборке.

ВВЕДЕНИЕ

Одними из древнейших представителей мировой ихтиофауны являются осетровые рыбы, основные запасы которых на протяжении многих веков были сосредоточены в водоемах России. При их этом вылов относительно недавно, около 35 лет назад, превышал 30 тыс. т. К настоящему времени официальный вылов осетровых резко снизился и составляет менее 1 тыс. т. Многие виды этих рыб, обитавших в различных водоемах России, находятся на грани исчезновения. Из-за своей малочисленности сибирский осетр не имеет промыслового значения. Это относится и к обской популяции (Ruban, 1996; Рубан, 1999). Максимальные уловы сибирского осетра приходились на 30-е годы, когда его добывали ежегодно от 1 280 до 1 770 т. С перекрытием р. Оби гидростроительными сооружениями производители лишились около 40% основных нерестилищ, что повлекло за собой резкое снижение запасов и воспроизводства этого вида (Крохалевский, 1997). С 1998 г. обская популяция сибирского осетра была занесена в Красную книгу Российской Федерации.

Один из путей сохранения запасов обсуждаемого вида связан с формированием гетерогенных маточных стад, организацией его расширенного воспроизводства в хозяйствах индустриального типа, выращиванием посадочного материала с целью реакклиматизации в естественные водоемы (Кривцов, Козовкова, 1997). Это позволит не только снизить промысловую нагрузку на естественную популяцию, но и будет способствовать сохранению генофонда за счет создания живых коллекций.

В 1999 г. из Абалакского осетрового завода Тюменской области на установку с замкнутым циклом водообеспечения Всероссийского научно-исследовательского института пресноводного рыбного хозяйства (УЗВ ВНИИПРХ) была завезена оплодотворенная икра обского осетра.

Впервые в практике отечественного осетроводства были изучены особенности роста обского осетра в новых искусственно созданных условиях, определены оптимальные

режимы, обеспечивающие нормальное физиологическое развитие рыбы на всех этапах онтогенеза. Сформировано гетерогенное маточное стадо обского осетра на Конаковском заводе товарного осетроводства (КЗТО), получено потомство от производителей I поколения доместикации в условиях тепловодного бассейнового хозяйства.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Инкубацию икры и подращивание молоди обского осетра до массы 50-100 г осуществляли в УЗВ, затем рыбу в количестве 1 000 шт. массой от 50 до 100 г передали на КЗТО, где было продолжено выращивание обского осетра с целью определения его рыбоводно-биологических показателей и формирования маточного стада.

Выдерживание свободных эмбрионов, перевод на активное питание и подращивание молоди до массы 100 мг осуществляли в лотках ейского типа площадью 3 м². До массы 10 г осетра выращивали в бассейнах ИЦА площадью 1 м², затем молодь отсортировали, пересадили в бассейны площадью 4 м². Выращивание ремонтного и старших возрастных групп проводили в бетонных бассейнах площадью 10 м², расход воды обеспечивался на уровне 0,03-0,04 л с/кг.

Полиморфизм ферментов и белков в пробах мышц и крови 50 экз. молоди обского осетра исследовали в 2000 г. (Рябова и др., 2002), прижизненное тестирование производителей провели в 2006 г. Поскольку пробы отбирали прижизненно, были исследованы лишь сыворотка и сгустки крови 33 особей.

Электрофоретический анализ проб молоди проводили в полиакриламидном и крахмальном геле. Использовали методы приготовления проб, проведения электрофореза и окраски гелей согласно стандартным прописям (Aebbersold et al., 1987) с внесенными изменениями (Рябова и др., 2001). Электрофорез проб производителей проводили только в блоках полиакриламидного геля в непрерывной трис-ЭДТА-боратной системе (Peacock et al., 1965). Обозначения локусов даны согласно номенклатуре Шэкли с соавторами (Shaklee et al., 1990).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При выращивании молоди обского осетра на УЗВ в первую очередь необходимо было определить влияние плотности посадки, качества кормления, гидрохимического режима на основные рыбоводно-биологические показатели. Инкубация оплодотворенной икры и выращивание ранней молоди, особенно личинок, наиболее чувствительных к различным изменениям внешней среды, является самым уязвимым этапом рыбоводства, поэтому особое внимание было уделено этому технологическому процессу.

Инкубацию икры изучаемого вида проводили при температуре воды 16-17 °С в аппаратах «Вейса». Процент оплодотворения завезенной икры составил более 90%. Вылупление предличинок при температуре воды 16-17 °С началось через 5 дней и продолжалось 2 дня.

Личинки перешли на активное питание при 16-18 °С 8 суток. В это время личинки начинают активно передвигаться в толще воды. Корм в лоток вносили за день до предполагаемого перехода личинок на смешанное питание. В начальный период вносили живые корма (декапсулированные или инкубированные яйца артемии) – 20% от общей массы

задаваемого корма. Через 25 дней масса молоди достигла 1,34 г, еще через 30 дней – 10 г. Через три месяца после перехода на активное питание молодь достигла массы 50-100 г.

При изучении темпа роста рыбы установлено, что уже в конце первого вегетационного периода в условиях УЗВ обский осетр имел массу 3 кг, равную массе двухлетков из КЗТО.

Высокий темп роста в УЗВ обеспечивается за счет продолжительного вегетационного периода с оптимальной температурой воды (18-24 °С). При выращивании в КЗТО температура может колебаться: летом от 26 до 30 °С, зимой до 8-12 °С.

На втором году выращивания в условиях КЗТО масса двухлетков составила 1,2-1,6 кг. Одновременно в УЗВ на выращивании находились осетры в возрасте семи месяцев средней массой 3,3 кг.

Выживаемость двухгодовиков после зимовки составила 92,6%, трехлетков за летний период выращивания – 98%. В зимний период выращивания накопление массы тела было минимальным (в 2000 г. – в среднем 25 г – 1,6%, в 2001 г. – 149 г – 5,3%), в летние месяцы прирост был выше (в 2000 г. – 160 г. – 10%, в 2001 г. – 999 г – 35%).

Сравнительный анализ данных по темпу роста обского осетра, выращенного в условиях УЗВ и КЗТО показал, что наиболее высокой скоростью роста отличались осетры, выращиваемые в условиях УЗВ, их масса в среднем превышала аналогичные показатели, полученные в КЗТО (рис. 1).

При выращивании старшего ремонта и производителей обского осетра в КЗТО наиболее эффективное использование кормов было у ремонта массой от 3 до 5,5 кг, средний прирост составил 59%.

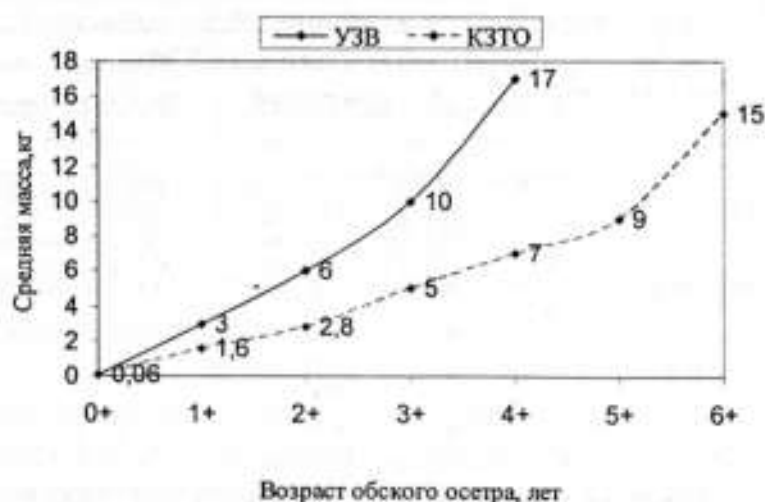


Рис. 1. Темп роста обского осетра в разных условиях выращивания.

Fig. 1. Tempo development Ob sturgeon several rearing condition.

В 2002 г. отмечено наличие особей обского осетра с «брачным нарядом» (самцы). Для участия в нерестовой кампании были отобраны особи массой 5,2-5,5 кг, длиной 92-96 см. В следующем году эти самцы вновь созрели, что свидетельствует об их ежегодном созревании. Данное обстоятельство дало возможность использовать особей для получения внутривидовых гибридов сибирского осетра.

В 2005 г. на КЗТО в результате проведения бонитировки и взятии биопсии обнаружено созревание самок в возрасте 6 лет.

Прирост самок за 2005-2006 гг. составил 2,6 кг, самцов – 1,5 кг, как видно, самки крупнее самцов, что связано с наличием икры. На это указывает также большая толщина тела рыбы. У всех самок 4 стадия зрелости, коэффициент поляризации находился в пределах 7,5-22%.

Количество градусодней, которое понадобилось набрать производителям обского осетра за период выращивания до половозрелости в условиях промышленных хозяйств бассейнового типа (КЗТО, УЗВ), приведено в таблице 1.

Таблица 1. Сумма тепла, необходимая для первого созревания обского осетра.

Table 1. Quantity it is warm for maturation Ob sturgeon.

| Вид | Сумма тепла, градусодни | | |
|--------------|-------------------------|-------|-------|
| | самцы | | самки |
| Обский осетр | УЗВ | 17063 | 28300 |
| | КЗТО | 17192 | 28430 |

Возраст полового созревания у обского осетра из естественного ареала обитания и выращенного в промышленных хозяйствах бассейнового типа значительно различаются. Самцы в промышленных хозяйствах созревают на 7-9 лет, самки на 8-15 лет раньше особей, обитающих в естественных условиях (табл. 2).

Таблица 2. Созревание обского осетра в естественных и промышленных условиях.

Table 2. Maturation Ob sturgeon under natural and controlled conditions of a warm water farm.

| Возраст первого созревания, месяц | | | | | |
|-----------------------------------|----------------------|------|----------------------|----------------------|------|
| Самцы | | | Самки | | |
| Естественные условия | Промышленные условия | | Естественные условия | Промышленные условия | |
| 120-144 | УЗВ | КЗТО | 180-240 | УЗВ | КЗТО |
| | 28 | 33 | | 50 | 80 |

При искусственном воспроизводстве естественных популяций рыб возникает большая вероятность близкородственного скрещивания – инбридинга, что ведет к потере внутривидового и межвидового разнообразия.

В коллекции Конаковского завода товарного осетроводства имеются представители трех популяций сибирского осетра: ленской, байкальской и обской. Целью генетического мониторинга этих групп являлся контроль за изменениями генетической структуры каждого из коллекционных стад на различных этапах разведения и акклиматизации. Это позволяет поддерживать уровень генетической изменчивости в искусственно созданных стадах и обеспечить тем самым выживание, сохранение численности и основных (в первую очередь, продукционных) показателей каждой из групп (Аллендорф, Риман, 1991; Алтухов, 1995).

Для сохранения биологического разнообразия осетровых при товарном производстве и поддержании коллекции требуется создание базы данных по генетической изменчивости вида, причем желательно выявление маркеров, определяемых прижизненно. Для оценки генетической гетерогенности стада обского осетра были

исследованы следующие ферментные системы: аспаргатаминотрансфераза (AAT), глицерол-3-фосфатдегидрогеназа (G3PDH), глюкозо-6-фосфатизомераза (GPI), изоцитратдегидрогеназа (IDH), лактатдегидрогеназа (LDH), малатдегидрогеназа (MDH), малик-энзим (MEP), фосфоглюкомутаза (PGM), 6-фосфоглюконатдегидрогеназа (PGDH), супероксиддисмутаза (SOD) (Рябова и др., 2002).

Оказалось, что система AAT, является мономорфной, G3PDH, GPI, GPI, LDH, MDH, MEP, PGDH, PGM, – полиморфны. Не было получено удовлетворительного разрешения при электрофорезе продуктов систем SOD при электрофорезе сгустков крови. Был изучен и полиморфизм сывороточных белков обского осетра: гемоглобинов, трансферринов и альбуминов. Спектр гемоглобинов содержит 6 фракций, изменчивости не наблюдалось. Спектр трансферринов представлен 6-13 фракциями, в зоне альбуминов отмечено 10 фенотипов (от 1 до 5 фракций с разной электрофоретической подвижностью).

В результате электрофоретического анализа в полиакриламидном и крахмальном геле экстрактов мышц и крови 50 экз. молоди обского осетра полиморфизм был обнаружен в 8 ферментных системах; 11 из 29 исследованных локусов (т.е. 37,9%) полиморфны. Следует, однако, учесть относительность этих данных, поскольку значительная часть мономорфных локусов просто не была исследована. Три ферментных системы обского осетра (PGM, PGDH, GPI) оказались пригодны для прижизненного анализа крови производителей и молоди (Рябова и др., 2001, 2002).

Проведенные исследования проб крови 31-го самца и 2-х самок обского осетра позволили сравнить частоты аллелей полиморфных локусов в изученных выборках молоди и производителей (табл. 3).

Таблица 3. Частоты аллелей полиморфных локусов в заводском стаде обского осетра.

Table 3. Polymorphism of serum proteins in Ob sturgeon.

| Локус / аллель | Осетр сибирский обский | |
|------------------|------------------------|---------------|
| | молодь | Производители |
| <i>6-Pgd-1,2</i> | | |
| 1 | 0,318 | 0,380 |
| 2 | 0,470 | 0,426 |
| 3 | 0,212 | 0,194 |
| Гетерозиготность | 0,575 | 0,500 |
| <i>Gpi-1</i> | | |
| 1 | 0,420 | 0,417 |
| 2 | 0,580 | 0,583 |
| Гетерозиготность | 0,800 | 0,833 |
| <i>Pgm-1,2</i> | | |
| 1 | 0,187 | 0,667 |
| 2 | 0,740 | 0,222 |
| 3 | 0,073 | 0,111 |
| Гетерозиготность | 0,386 | 0,528 |

Результаты сравнения данных, полученных у молоди и производителей обского осетра показали, что частоты встречаемости аллелей полиморфных ферментных локусов несколько изменились в старших возрастных группах по сравнению с младшими, однако

общие тенденции в распределении частот аллелей локусов *6-Pgd-1,2* и *Gpi-1* сохранились. По локусу *6-Pgd-1,2* преобладающим по-прежнему остается аллель 2. А вот по локусу *Pgm-2,3* в изученной выборке самцов преобладали носители аллеля 1. Гетерозиготность по всем исследованным локусам превышает 50%, доля гетерозиготных по локусам *Gpi-1* и *Pgm-1,2* генотипов у особей старшей возрастной группы по сравнению с младшей увеличилась. Полученные данные позволяют сделать заключение о поддержании достаточно высокого уровня генетической изменчивости в заводском стаде ленского осетра обской популяции на КЗТО.

ВЫВОДЫ

Значимость выполненного исследования обусловлена необходимостью сохранения уникального генофонда в виде маточных стад осетровых рыб, в том числе редких и исчезающих видов, сформированных на базе индустриальных рыбоводных предприятий.

С 1999 по 2006 гг. в условиях Конаковского завода товарного осетроводства и экспериментального рыбоводства УЗВ ВНИИПРХ была проведена работа по созданию маточного стада в рамках выполнения мероприятий по сохранению исчезающих видов осетровых, к которым в полной мере можно отнести представителей сибирского осетра Обь-Иртышской популяции. Проведена оценка хозяйственно-полезных признаков, разработаны рыбоводно-технологические нормативы формирования маточного стада обского осетра в условиях индустриальных хозяйств бассейнового типа, определена сумма тепла, необходимая для первого созревания. По итогам проведенных исследований можно сделать вывод о гетерогенности созданного маточного стада обского осетра.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алтухов Ю.П. Внутривидовое генетическое разнообразие: мониторинг и принципы сохранения // Генетика. 1995. Т. 31. №10. С. 1333-1357.
- Аллендорф Ф.У., Рима Н. Генетическое управление искусственным воспроизводством рыбных стад. Сб. Популяционная генетика и управление рыбным хозяйством. М.: Агропромиздат, 1991. С. 177-198.
- Кривцов В.Ф., Козовкова Н.А. Производство посадочного материала различных видов осетровых. Сб. I конгресс ихтиологов России. М.: ВНИРО, 1997. 35 с.
- Крохалевский В.Р. Воспроизводство и запасы сибирского осетра в Обь-Иртышском бассейне. Сб. Тез. докл. Первого конгресса ихтиологов России. М.: ВНИРО, 1997. С. 116-117.
- Рубан Г.И. Сибирский осетр *Acipenser baeri* Brandt (структура вида и экология). М.: ГЕОС, 1999. 236 с.
- Рябова Г.Д., Политов Д.В., Офицеров М.В. и др. Использование биохимических маркеров для оценки генетического разнообразия стад сибирского осетра. Сборник технологических и методических документов по аквакультуре. М.: ВНИРО, 2001. С. 105-117.
- Рябова Г.Д., Демкина Н.В., Баранова Н.А., Илясов Ю.И. Исследование генетического полиморфизма сибирского обского осетра. Сб. Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры. М.: ВНИРО, 2002. С. 117-120.
- Aebbersold P.B., Winans G.A., Teel D.J. et al. Manual for starch gel electrophoresis: A method for the detection of genetic variation // NOAA Technical reports NMFS 61. 1987. Pp. 1-19.
- Peacock A.C., Bunting S.L., Queen K.G. Serum protein electrophoresis in acrylamide gel // Science. 1965. V. 147. Pp. 1451-1453.

Ruban G.I. The Siberian Sturgeon, *Acipenser baeri baeri*, population status in the Ob river // The sturgeon Quarterly. 1996. V. 4. Pp. 8-10.

Shaklee J.B., Allendorf F.W., Morizot D.C., Whitt G.S. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish // Trans. Amer. Fish. Soc. 1990. V. 199. Pp. 2-15.

GENERAL HETEROGENEITY OF SIBERIAN STURGEON BROODSTOCK FROM THE OB POPULATION REARED UNDER INDUSTRIAL CONDITIONS

© 2008 y. S.A. Nefedov¹, N.V. Demkina², E.V. Novikova¹, I.V. Nefedova¹

1 – Federal State Unitary Enterprise «All-Union Research Institute of Freshwater Fisheries»,

2 – FGOU VPO «Astrakhaner state Technical University» Dmitrov Branch, Moscow area, p. Rybnoe

Keeping of collection sturgeons stocks is bound up with the necessity to maintain the genetical heterogeneity of fish material. In the presented work, the polymorphism of serum proteins in Ob sturgeon (hemoglobins, transferrins and albumins) has been studied. The data received allowed to establish a fact of the genetical heterogeneity maintenance in the Ob sturgeon sample studied.