

СИСТЕМА МЕТОДОВ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ПРОГРАММАХ ПО СОХРАНЕНИЮ И ВОССТАНОВЛЕНИЮ ПОПУЛЯЦИЙ И ВИДОВ ОСЕТРОВЫХ РЫБ

К.В. Ковалев¹, А.С. Грунина², А.В. Рекубретский¹, Л.И. Цветкова¹

¹*Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства, Московская обл., пос. Рыбное*

²*Институт биологии развития РАН им. Н.К. Кольцова, Москва*

Еще недавно число живых коллекций осетровых и количество содержащихся в них рыб были явно недостаточными. Теперь же, из-за дефицита диких производителей, все осетровые рыборазводные предприятия, занимающиеся искусственным воспроизводством, приступили к формированию собственных маточных стад. Таким образом, исчезновение с лица Земли многим видам осетровых уже не грозит. Однако это не касается таких видов как шип или представителей рода лжелопатоносов, а также отдельных популяций разных видов, которые остаются под угрозой полного исчезновения.

Сохранение биоразнообразия осетровых рыб подразумевает не только сохранение видов как таковых, но, по возможности, полное сохранение и поддержание того генетического разнообразия, той сложной популяционной и расовой структуры, которая обеспечила благоденствие осетровым рыбам на протяжении многих миллионов лет.

В искусственных условиях трудно обеспечить необходимую репродуктивную численность, и уже в первом поколении одомашнивания начинает действовать отбор, направленный на приспособление рыб к новым, необычным условиям жизни. В результате генетическая структура одомашненных стад может претерпевать существенные изменения.

Другая проблема, с которой сталкиваются предприятия при эксплуатации производителей, выращенных в искусственных условиях, заключается в ухудшении у них, по сравнению с дикими производителями, репродуктивной функции.

Проблема получения полноценных половых продуктов особенно остро встает также в том случае, когда для воспроизводства имеется ограниченное число самок, пойманных в дикой среде.

Кроме того, уже бывали и могут быть случаи, когда спермии и яйцеклетки восстанавливаемого вида оказываются доступными в разное время.

1. Криоконсервация спермиев

К первоочередным неотложным мерам в программах по сохранению исходного генетического разнообразия относятся работы по развертыванию сети криобанков и созданию коллекций образцов криоконсервированной спермы разных видов, рас и популяций диких производителей и производителей начальных стадий одомашнивания.

Необходимо также совершенствовать методы криоконсервации, которые были разработаны ранее применительно к сперме диких производителей. Так как спермии, полученные от одомашненных рыб, хуже поддаются криоконсервации, в них чаще возникают повреждения. Использование в составе криозащитных сред антифризных гликопротеинов может улучшить результаты криоконсервирования спермиев. Предполагается испытать новые криозащитные среды с введением в них антифризных гликопротеинов (АФГП), выделенных из баренцевоморской трески. Будут также разрабатываться методики крупномасштабного получения потомства с использованием криоконсервированной спермы.

Возникает вопрос, каким образом могут быть восстановлены генотипы, сохранившиеся в криоконсервированных спермиях? Очевидно, что прямой путь, т.е. осеменение размороженной спермой яйцеклеток, полученных от самок из живой коллекции, не может привести к желаемому результату, поскольку фактически означает гибридизацию. Причины этого изложены выше и заключаются в неизбежном изменении генотипов при одомашнивании. Решить эту проблему можно с помощью метода диспермного андрогенеза.

2. Диспермный андрогенез

Метод диспермного андрогенеза, который мы разработали для осетровых рыб, включает следующие этапы: (1) генетическая инактивация хромосомного аппарата яйцеклеток с помощью рентгеновского или гамма-облучения; (2) использование для осеменения облученных яйцеклеток концентрированной спермы, что вызывает их полиспермное оплодотворение; (3) применение к эмбрионам на ранних стадиях развития теплового шока, что способствует слиянию мужских пронуклеусов. Если генотипы андрогенетических особей образованы хромосомными наборами спермиев, привнесенных разными самцами, то уровень генетической изменчивости в потомстве сохраняется таким же, как и при обычном скрещивании. С помощью данного метода были получены и исследованы андрогенетические потомства русского и сибирского осетров, севрюги, стерляди, шипа, белуги, а также андрогенетические ядерно-цитоплазматические гибриды между севрюгой и белугой, персидским и русским, русским и сибирским осетрами.

Также было показано, что возможно успешное сочетание методов криоконсервации спермиев и диспермного андрогенеза. С использованием криоконсервированной спермы были получены жизнеспособные гетерозиготные потомства сибирского осетра и андрогенетические гибриды между сибирским и русским осетрами.

В последние годы накапливается все больше данных, что, по крайней мере, некоторые виды осетровых имеют мужскую гомогаметность. В этом случае андрогенетическое потомство должно оказаться однополо-мужским и его самостоятельное воспроизводство будет невозможным. В таких

случаях самок можно получить с помощью метода гормональной инверсии пола в женском направлении.

3. Гормональная инверсия пола

В настоящее время этот метод уже отрабатывается нами на ряде видов осетровых (определяются наиболее эффективная концентрация гормона, начало и длительность его воздействия и способ введения). Получены первые весьма обнадеживающие результаты переопределения пола в женском направлении у бестера, русского и сибирского осетра. Для инверсии пола использован женский половой гормон 17бета-эстрадиол. Длительный период полового созревания осетровых рыб не позволяет испытать репродуктивные свойства инвертированных самок, это предполагается сделать в дальнейшем.

Данная методика может быть использована при формировании маточных стад осетровых, для товарного получения чёрной икры.

4. Индуцированный гиногенез

Для изучения механизма определения пола может быть использован метод индуцированного гиногенеза. Метод разработан нами для русского и сибирского осетров, севрюги, стерляди и белуги.

Индуцированный гиногенез состоит в подавлении с помощью температурного шока второго деления мейоза и использовании спермиев с инактивированным ядерным аппаратом. В результате гаплоидная яйцеклетка диплоидизируется, диплоидная зигота развивается только на основе материнского генома и обладает высокой гомозиготностью, которая ограничена только частотой кроссинговера. При мужской гетерогаметности гиногенетическое потомство будет состоять только из самок, при женской гетерогаметности – из самок и самцов в соотношении 1:1, при более сложном типе определения пола соотношения полов в потомствах могут быть иными.

В случае женской гетерогаметности индуцированный гиногенез может быть использован для получения бисексуального потомства даже при отсутствии спермы собственного вида.

Каждый из этих методов может быть использован в тех или иных природоохранных программах, однако, по нашему мнению, наиболее полезным будет комплексное применение разрабатываемых нами методов.

Литература

- Васильев В.П.** Эволюционная кариология рыб. – М.: Наука, 1985. 300 с.
- Рекубратский А.В., Грунина А.С., Барминцев В.А. и др.** // Онтогенез. 2003. Т. 32. № 2. С. 121–131.
- Detlaff T.A., Ginsburg A.S., Schmalhausen O.I.** Sturgeon Fishes: Developmental Biology and Aquaculture. В. Springer_Verlag, 1993. 300 p.

- Flynn S.R., Matsuoka M., Reith M. et al.** // Aquaculture. 2006. V. 253. P. 721–727.
- Henderson'Arzapalo A., King T.L.** // Mol. Ecol. Notes. 2002. № 2. P. 437–439.
- Omoto N., Maebayashi M., Adachi Sh. et al.** // Aquaculture. 2005. V. 245. P. 39–47.
- Van Eenennaam A.L., Van Eenennaam J.P., Medrano J.F., Doroshov S.I.** // J. Heredity. 1999. V. 90. P. 231–233.
- Welsh A.B., Blumberg M., May B.** // Mol. Ecol. Notes. 2003. № 3. P. 47–55.
- Zane L., Patarnello T., Ludwig A. et al.** // Mol. Ecol. Notes. 2002. № 2. P. 586–588.