

ОЦЕНКА ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ РЕМОНТНО-МАТОЧНОГО СТАДА РУССКОГО ОСЕТРА ДОНСКОГО ОСЕТРОВОГО ЗАВОДА ПО МИКРОСАТЕЛЛИТНЫМ ЯДЕРНЫМ МАРКЕРАМ

^{1,2}Воробьева А.В., ^{1,2}Головинов И.В., ^{1,3}Алимова А.Ш., ^{1,2}Гайдамаченко В.Н.,
¹Небесихина Н.А.

¹ Азово-Черноморский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («АзНИИРХ»), г. Ростов-на-Дону

² Южный федеральный университет, Академия биологии и биотехнологии им. Дмитрия Иосифовича
Ивановского, Ростов-на-Дону, Россия

³ Донской государственный технический университет, г. Ростов-на-Дону

Аннотация. В статье представлено исследование генетического разнообразия русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) ремонтно-маточного стада (РМС) Донского осетрового завода (ДОЗ) с помощью анализа микросателлитных ядерных маркеров. В ходе исследования установлено общее снижение гетерозиготности популяции по четырем локусам из пяти исследованных, также при исследовании популяции РМС за последние два года выявлены редкие группы аллелей, не обнаруженные в выборке 2014 г. Полученные данные могут быть использованы заводом при составлении схем скрещивания для сохранения общего аллельного (генетического) разнообразия популяции.

Ключевые слова. Русский осетр, *Acipenser gueldenstaedtii*, микросателлиты, ремонтно-маточное стадо.

ASSESSMENT OF THE GENETIC DIVERSITY OF THE RUSSIAN STURGEON BROOD STOCK OF THE DONSKOY STURGEON PLANT BY MICROSATELLITE NUCLEAR MARKERS

^{1,2}Vorobieva A.V., ^{1,2}Golovinov I.V., ^{1,3}Alimova A.Sh, ^{1,2}Gaidamachenko V.N., ¹Nebesikhina N.A.

¹Azov Fisheries Research Institute (AzNIIRKH), Rostov-on-Don, Russian Federation

²Southern Federal University, The Academy of Biology and Biotechnology named after D. I. Ivanovsky,
Rostov-on-Don, Russian Federation

³Don State Technical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

Abstract. The article presents a study of the genetic diversity of the Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) of the brood stock (RMS) of the Donskoy sturgeon hatchery (DOZ) using the analysis of microsatellite nuclear markers. In the course of the study, a general decrease in the heterozygosity of the population for four of the five loci studied was established, and in the study of the RMS population over the past two years, rare groups of alleles were identified that were not found in the sample for 2014. The data obtained can be used by the plant when drawing up crossbreeding schemes to preserve the overall allelic (genetic) diversity of the population.

Keywords. Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii*, microsatellites, repair and breeding stock.

Популяции осетровых Азово-Черноморского бассейна были вторыми по величине после каспийских. По данным литературы в период с 1988 по 2007 г. численность *Acipenser gueldenstaedtii* сократилась с 14 млн до 208 тыс. особей [1]. Первопричиной снижения численности азовских осетровых является широкомасштабное браконьерство и активное строительство дамб и плотин, что привело к уничтожению естественных нерестилищ осетровых видов рыб.

С 1956 года началось искусственное выращивание осетровых в бассейне Азовского моря. Разведения молоди производили на рыбоводных заводах реки Дон (Донской осетровый завод, Рогожинский, Аксайско-Донской и «Взморье») и на заводах реки Кубань (Темрюкском, Ачучевском и Гривенском) [2]. Единственным действующим рыбоводным заводом Дона на сегодняшний день является – Донской осетровый завод.

Молекулярно-генетические исследования производителей русского осетра показали утрату ряда редких групп аллелей у рыб, содержащихся в РМС [3,4]. Что подчеркивает важность подбора производителей с использованием генетического анализа особей ремонтно-маточных стад осетровых заводов при искусственном воспроизводстве популяций.

Цель исследования заключалась в оценке генетического разнообразия ремонтно-маточного стада Донского осетрового завода по микросателлитным ядерным маркерам за последние 8 лет.

Объектом исследования служили 349 особей ремонтно-маточного стада русского осетра, взятых на исследование в Донском осетровом заводе в 2014 г. (выборка 1) и в 2021-2022 гг. (выборка 2). Плавники отбирали прижизненно, фиксировали в 96% этаноле и далее хранили при -20°C. Экстракцию тотальной ДНК из проб проводили с использованием коммерческого набора «ДНК ЭКСТРАН-2» (Синтол, Россия).

Для генетического анализа использовали пять микросателлитных локусов (Afug41, Afug51, AoxD161, AoxD165, An20). Генотипирование анализируемых STR-маркеров проводили при помощи мультиплексной ПЦР, затем продукты амплификации разделяли методом капиллярного электрофореза на устройстве секвенирования ДНК «Нанофор05» (ЭЗАН, Россия).

В таблице 1 представлены результаты микросателлитного анализа особей ремонтно-маточного стада *Acipenser gueldenstaedtii* за 2014 г. и 2021-2022 гг.

В результате генотипирования пяти полиморфных локусов было выявлено - 59 аллелей за 2014 гг., 63 аллеля за 2021-2022 гг.

Все исследуемые локусы показали достаточно высокий полиморфизм. В ремонтно-маточном стаде ДОЗ за 2014 г. наибольшее количество аллелей обнаружено в локусе Afug41, в выборке за 2021-2022 гг. наибольшее количество аллельных вариантов выявлено в локусе Afug51. Наименее разнообразным по вариантам аллелей в двух исследуемых выборках оказались локусы AoxD161 и An20.

При исследовании аллельного разнообразия ремонтно-маточного стада за 2021-2022 гг. были выявлены аллели, не обнаруженные при анализе выборки за 2014 г. (AoxD161 – 106 п.н., Afug51 – 244, 292 п.н., An20 – 181 п.н., AoxD165 – 188 п.н.). По данным литературы аллели данной длины встречаются в популяции с наименьшей частотой, что объясняет редкое появление данных аллелей в исследуемых выборках: AoxD161 – 106 п.н. (1 особь из 253 исследованных), Afug51 – 244, 292 п.н. (20 и 1 особь соответственно), An20 – 181 п.н. (3 особи), AoxD165 – 188 п.н. (20 особей)[5].

Наибольшее снижение уровня гетерозиготности выявлено для выборки 2, где дефицит гетерозигот (-D) наблюдается по 4 локусам из 5 исследованных (AoxD161, AoxD165, Afug41, Afug51). В то время как в выборке 1 дефицитом гетерозигот характеризуется только локус Afug51.

При исследовании ремонтно-маточного стада выборки 1 по локусам AoxD161, An20 и Afug41 – полных гомозигот не обнаружено, на сегодняшний день (выборка 2) можно наблюдать некоторое повышение доли гомозиготных особей. Однако при сравнении двух выборок между собой статистически значимые различия в частоте полных гомозигот были выявлены только по локусу Afug41 ($T(p) = 2,030$ ($p < 0,05$)). При сравнении выборок по доли слабых гетерозигот статистически значимые различия выявлены только при исследовании локуса – AoxD165 ($T(p) = 3,334$ ($p < 0,001$)).

Таблица 1 - Показатели генетического разнообразия естественной популяции русского осетра по данным STR-анализа

Локус	Выборка	N	L	M	Ho	He	D	AAAA, %	AAAB, %
Afug41	Выборка 1	96	16	3,42	1,000	0,996	0,004	0	2,1
	Выборка 2	253	16	3,2	0,970	0,996	-0,026	1,6	9,9
Afug51	Выборка 1	96	13	2,35	0,893	0,995	-0,102	10,4	22,9
	Выборка 2	253	15	2,5	0,907	0,996	-0,089	8,7	19,8
An20	Выборка 1	96	10	2,91	1,000	0,980	0,020	0	16,7
	Выборка 2	253	10	3,0	0,992	0,979	0,013	0,8	14,6
AoxD161	Выборка 1	96	9	3,10	1,000	0,991	0,009	0	7,3
	Выборка 2	253	10	3,5	0,990	0,996	-0,006	1,2	7,5
AoxD165	Выборка 1	96	11	2,74	0,936	0,935	0,001	6,3	22,9
	Выборка 2	253	12	2,6	0,904	0,977	-0,073	9,5	30,8

Примечание: N – количество особей в выборке; L - количество аллелей; M - среднее число аллелей на локус; HO - наблюдаемая гетерозиготность; HE - ожидаемая гетерозиготность; D – коэффициент отклонения наблюдаемой гетерозиготности от ожидаемой; AAAA - количество гомозиготных особей; AAAB - количество слабо гетерозиготных особей.

Согласно проведенному исследованию, можно сделать следующие выводы: при исследовании двух выборок русского осетра из РМС ДОЗ по 5 микросателлитным ядерным маркерам, было выявлено заметное снижение уровня гетерозиготности ремонтно-маточного стада завода в настоящее время по 4 исследуемым локусам (AoxD161, AoxD165, Afug41, Afug51). Было обнаружено статистически значимое увеличение доли полных гомозигот и слабых гетерозигот по микросателлитным локусам: Afug41 и

AoxD165, что говорит о снижении генетического разнообразия популяции. Также в выборке за 2021-2022 гг. были обнаружены редкие аллели, не выявленные при исследовании выборки за 2014 гг., эти данные могут быть использованы рыбоводным заводом при составлении схем скрещивания, для правильного подбора производителей при выпуске молоди с целью сохранения генетического разнообразия.

Список использованных источников

1. Рубан Г. И., Ходоревская Р. П., Кошелев В. Н. О состоянии осетровых в России // Астраханский вестник экологического образования. – 2015. – №. 1 (31). – С. 42-50.
2. Матишов Г. Г., Лужняк В. А. Особенности выживаемости заводской молоди осетровых рыб в условиях Азовского бассейна // Вестник южного научного центра РАН. – 2012. – Т. 8, №. 4. – С. 76-80.
3. небесихина, Н. А. Оценка генетического разнообразия производителей русского осетра из ремонтно-маточных стад / Н. А. небесихина, Н. Н. Тимошкина // Основные проблемы рыбного хозяйства и охраны рыбохозяйственных водоемов Азово-Черноморского бассейна Сборник научных трудов (2012-2013 гг.). – Ростов-на-Дону: Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, 2014. – С. 261-270.
4. Оценка генетического разнообразия производителей русского осетра из ремонтно-маточного стада ФГБУ "Аздоррыбвод" Донской осетровый завод / Н. А. небесихина, А. Г. Лепешков, Е. А. Иванова, Н. Н. Тимошкина // Труды АзНИИРХ (результаты рыбохозяйственных исследований в Азово-Черноморском бассейне: Сборник научных трудов по результатам исследований за 2014-2015 гг. / Ответственный редактор В.Н. Белоусов. – Ростов-на-Дону: Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства, 2017. – С. 244-249.
5. Барминцева А. Е., Мюге Н. С. Использование микросателлитных локусов для установления видовой принадлежности осетровых (Acipenseridae) и выявления особей гибридного происхождения // Генетика. – 2013. – Т. 49, №. 9. – С. 1093-1093.