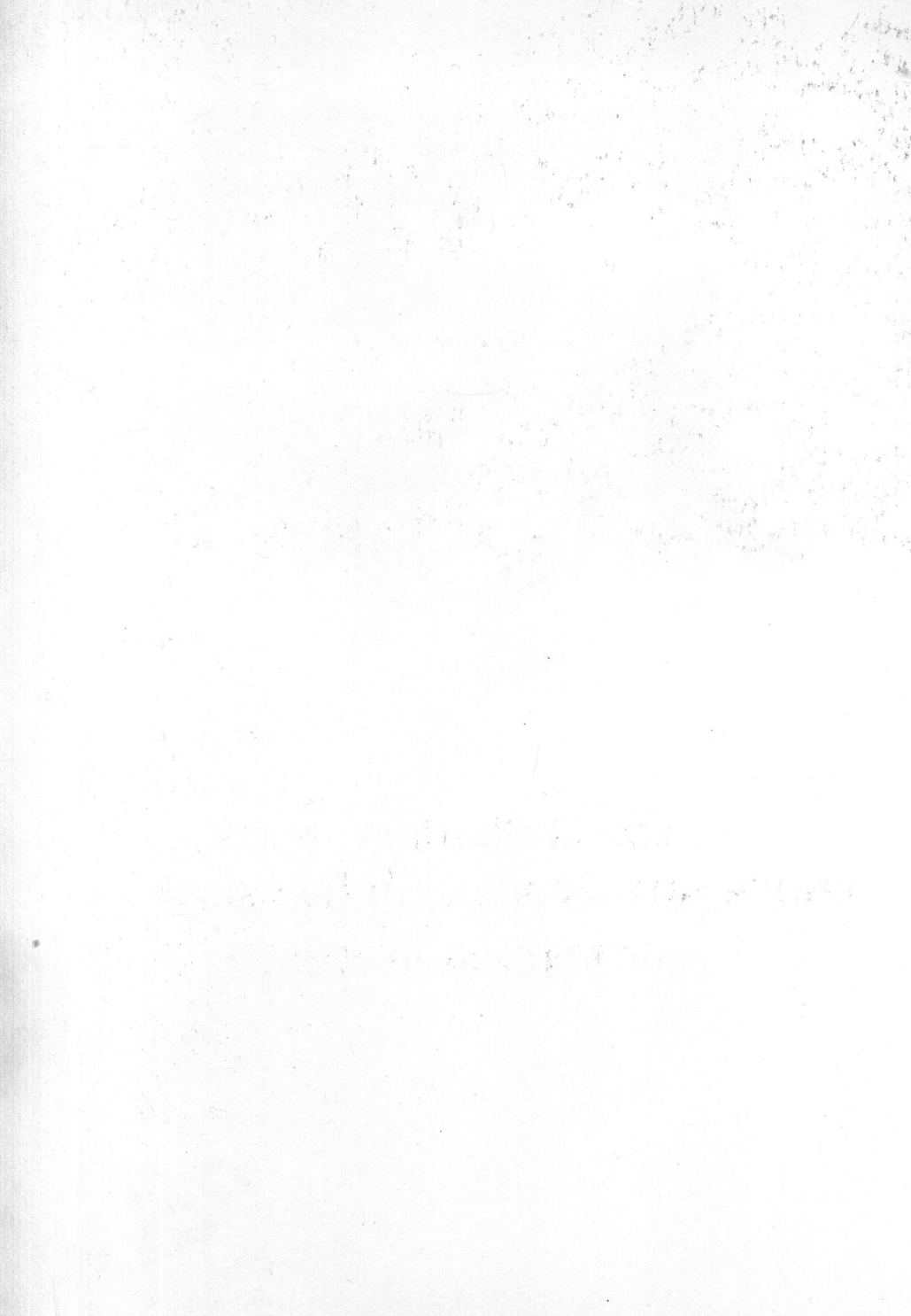




ВРЕМЕННАЯ ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПОЛУЧЕНИЮ СТЕРИЛЬНЫХ ГИБРИДНЫХ
ФОРМ ОСЕТРОВЫХ РЫБ



1989



Министерство рыбного хозяйства СССР

Всесоюзный научно-исследовательский институт
морского рыбного хозяйства и океанографии
ВНИРО

ВРЕМЕННАЯ ИНСТРУКЦИЯ
ПО ПОЛУЧЕНИЮ СТЕРИЛЬНЫХ ГИБРИДНЫХ ФОРМ
ОСЕТРОВЫХ РЫБ

Москва 1989

Разработана Всесоюзным научно-исследовательским институтом морского рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО)

Директор д-р геогр. наук, член-кор. ВАСХНИЛ С.А.Студенецкий

Составители:

к.б.н. И.А.Бурцев, к.б.н. Е.В.Серебрякова, к.б.н. А.И.Николаев,
О.П.Филиппова

Инструкция рассмотрена и одобрена:

Методическим советом (секция марикультуры) ВНИРО (протокол № 4 от 24 ноября 1988 г.),

Методическим советом отдела генетики, селекции и племенной работы ВНИО по рыбоводству (протокол № 8 от 29 ноября 1988 г.)

Утверждена Министерством рыбного хозяйства СССР 21.04.89 г.
Заместитель министра Б.Д.Монаков

В инструкции дано обоснование использования стерильных гибридов осетровых рыб и представлены методики их получения на осетровых рыбоводных хозяйствах для промышленного выращивания в случаях, когда использование плодovitых гибридных форм нежелательно, а также с целью расширения ассортимента продукции рыбоводства.

Зав. редакцией Т.Г.Таривердиева

Редактор Н.С.Беликова

Технический редактор И.В.Дубакина

Мл. редактор Н.Г.Зайцева

Наборщик О.В.Седельникова

Подписано к печати 10.09.89

Формат 60x84 1/16

Заказ 410

Объем 0,75 п.л. 0,87

уч.-изд.л.

Цена 15 к.

Тираж 300

Информцентр ВНИРО

107140, Москва, Верхняя Красносельская, 17

Участок оперативной печати

© Всесоюзный научно-исследовательский институт морского рыбного хозяйства и океанографии (ВНИРО), 1989 г.

Введение

Осетровые рыбы лишь недавно стали объектами интенсивной аквакультуры. Условия выращивания в рыбоводных хозяйствах во многом отличаются от условий их обитания в природе, к которым эволюционно адаптированы эти древнейшие представители ихтиофауны.

Повысить приспособляемость рыб к новым условиям и их продукционные качества позволяет метод отдаленной гибридизации. Его применение к осетровым рыбам, для которых еще не создано культурных пород, особенно актуально. К тому же для осетровых характерна высокая скрещиваемость, т.е. способность давать во многих сочетаниях скрещиваний жизнеспособных гибридов.

Использование гибридов, в первую очередь бестера, в большой мере способствовало введению осетровых в аквакультуру и развитию товарного осетроводства. Однако возможности гибридизации осетровых далеко не исчерпаны. До последнего времени основное внимание уделялось плодовитым формам, позволяющим применять их разведение "в себе" и вести селекционную работу по созданию культурных пород, тогда как возможность получения и выращивания стерильных гибридов практически не использовалась. Между тем, свойство стерильности (бесплодия) целого ряда отдаленных гибридов осетровых в ряде случаев имеет самостоятельную ценность. Прежде всего это свойство позволяет избежать "генетического загрязнения" чистых видов осетровых, особенно в случаях попадания гибридов в те же водоемы, где сохраняется эффективное естественное размножение чистых видов. Так, выращивание стерильных гибридов в садковых хозяйствах возможно на морских и пресных водоемах Каспийского бассейна, где использование бестера и других плодовитых гибридов недопустимо. Вследствие недоразвития половых желез стерильные гибриды могут обладать повышенными потенциалами роста, особенными питательными и деликатесными качествами.

Учитывая все возрастающий интерес к выращиванию товарной осетровой рыбы во многих странах мира, можно рекомендовать стерильные гибриды для экспортных поставок посадочного материала и товарной осетровой рыбы в живом виде. При этом обеспечивается "нераспростра-

нение" поставляемых на экспорт осетровых и стабильность экспортных поставок.

Настоящая инструкция частично заполняет имевшийся пробел. В ней кратко объяснены генетические причины и цитологический механизм гибридной стерильности, приведен перечень стерильных гибридов осетровых и изложена методика получения некоторых из них на осетровых рыбободных заводах и некоторых рыбхозах страны.

Инструкция основана на результатах исследований кариологии большинства видов осетровых, цитологии гаметогенеза и гистологического строения половых желез многих межвидовых гибридов, более чем 30-летнем опыте работ по гибридизации осетровых рыб, выполнявшихся под руководством проф. Н.И.Николюкина и продолженных по настоящее время. Были использованы также материалы "Сборника инструкций и нормативно-методических указаний по промышленному разведению осетровых рыб в Каспийском и Азовском бассейнах" (М.:ВНИРО, 1986).

ПРИРОДА ГИБРИДНОЙ СТЕРИЛЬНОСТИ

Бесплодие гибридов может быть вызвано нарушением репродуктивной функции на различных этапах ее становления: появления первичных половых клеток, их размножения, пролиферации гоний, в период мейотических преобразований в ядрах половых клеток, их формирования и роста, образования гамет, а также на постзиготических этапах, проявляясь в нежизнеспособности потомства.

Патология репродуктивной функции гибридов, как правило, является результатом различий кариотипов — по количеству, структуре и размерам хромосом, а также ядерно-плазменных аппаратов родительских видов.

Воспроизводительная способность гибридов по мере уменьшения родства между родительскими формами нарушается, как правило, первой из всех жизненных функций организма. Этим и объясняется существование вполне жизнеспособных, но бесплодных гибридов. В основе повышенной чувствительности репродуктивной системы лежит более сложный цитологический механизм размножения и развития половых клеток (мейоз) по сравнению с размножением соматических клеток (митоз).

По диплоидному числу хромосом все исследованные виды осетровых четко делятся на две группы: малохромосомную (белуга, севрюга, шип, стерлядь и атлантический осетр) и многохромосомную (русский, сибир-

ский и адриатический осетры). Виды первой группы имеют диплоидное число хромосом 118-120; второй - 240-248. Более чем вдвое различается у них и количество ДНК в ядрах. По отношению к "малохромосомным" видам виды "многохромосомные" можно рассматривать как тетраплоидные.

Гибриды между видами с равными (близкими) числами хромосом сохраняют плодовитость (между белугой и стерлядью, белугой и шипом, стерлядью и шипом, шипом и севрюгой и др.). Напротив, при скрещивании видов с двукратной разницей в количестве хромосом получаются только стерильные гибриды.

Числа хромосом у гибридов от "разнохромосомных" скрещиваний равны среднему арифметическому от чисел хромосом родителей, т.е. по существу являются триплоидными (1 набор диплоидного вида и 2 набора - тетраплоидного вида).

Это лишь в малой степени сказывается на жизнеспособности гибридов.

В эмбриогенезе триплоидных гибридов происходит возрастание митотических нарушений (отставание хромосом, мосты, фрагменты, мультиполярные митозы), но количество цитологически дефектных эмбрионов невелико (до 10-20%), и выживание гибридных эмбрионов немного отличается от нормы за счет гибели анеуплоидных икринок.

Однако триплоидия приводит к резкому нарушению развития половых клеток и к практически полной стерильности таких гибридов. Это подтверждено гистологическими исследованиями строения половых желез гибридов между русским осетром и диплоидными видами - белугой, стерлядью, севрюгой и шипом. Для большинства из них типичной патологией развития половых желез является пикнотическая гибель половых клеток в начальной фазе мейоза - в период "синаптного пути", когда происходит синанпсис (соединение) материнских и отцовских хромосом.

У гибридов осетра с белугой и некоторых особей осетра со стерлядью половые клетки не были обнаружены - гонады представлены только жировой и соединительной тканями.

У гибридов осетра со стерлядью отмечены единичные особи с развитыми гонадами III-IV стадий зрелости. Среди рыб, выращенных в эксперименте, обнаружен единственный созревший самец, давший молоки с большим количеством дефектных спермиев. Его потомство от скрещивания со стерлядью оказалось нежизнеспособным.

Таким образом, наличие единичных созревающих особей практически не дает какой-либо возможности дальнейшей репродукции триплоидных гибридов.

ВЫБОР ВАРИАНТОВ СКРЕЩИВАНИЯ

По степени изученности и значимости гибриды для практического использования в интенсивной аквакультуре располагают в следующем порядке:

Прямые скрещивания ^ж		Реципрокные скрещивания	
Самка	Самец	Самка	Самец
Русский осетр	x белуга	Белуга	x русский осетр
Русский осетр	x стерлядь	Стерлядь	x русский осетр
Русский осетр	x севрюга	Севрюга	x русский осетр
Русский осетр	x шип	Шип	x русский осетр
Русский осетр	x бестер	Бестер	x русский осетр
Сибирский осетр	x стерлядь	Стерлядь	x сибирский осетр

Указанные первыми в списке гибриды русского осетра со стерлядью и белугой не только наиболее полно исследованы в отношении жизнеспособности, но в какой-то мере были апробированы при экстенсивном выращивании в прудовых условиях.

Именно эти скрещивания рекомендуются для первоочередного практического применения.

По рыбоводно-биологическим показателям значительное преимущество имеют те гибриды, в которых осетр является материнским видом. Высокая пластичность осетра, свойственная полиплоидным видам, способность продуцировать икру в широком диапазоне температуры обеспечивает высокое выживание прямого гибридного потомства по сравнению с реципрокным. Производители осетра менее требовательны к условиям резервации, сроки их выдерживания ниже, а следовательно, и затраты на их содержание меньше, чем на резервацию самок белуги или севрюги.

К тому же для осетра характерен более широкий диапазон температур, благоприятных для выращивания личинок. Эта черта передается матроклинно гибриднему потомству, и только его отношение к освещенности, резко отличающееся от белуги и севрюги, требует дополнительных биотехнических приемов.

Среди всех представленных гибридов осетр x белуга наиболее перспективен, поскольку у него сочетаются такие ценные качества, как высокий темп роста с полной стерильностью.

^ж При обозначении гибридов через знак скрещивания (x) первым указывается материнский вид, вторым (после знака x) — отцовский.

При производстве промышленного скрещивания используются способы рыбоводных работ и процессов, принятые в настоящее время на осетровых рыбоводных заводах. Как показала практика товарного осетроводства, выращивание гибридной молоди для товарных хозяйств должно проводиться преимущественно бассейновым методом с использованием стартовых гранулированных кормов.

Посадочным материалом, поставляемым с рыбоводных заводов потребителям, могут быть: оплодотворенная икра; развивающаяся икра (перед вылушением); 1-2- дневные личинки; подрощенные личинки различной массы; стандартная молодь массой 3-5 г.

МЕТОДИКА ПОЛУЧЕНИЯ ГИБРИДОВ

Получение гибридов осетра с белугой

Гибриды могут быть получены на осетровых рыбоводных заводах Каспийского и Азово-Черноморского бассейнов. При этом следует учитывать некоторые различия температурных оптимумов нерестовых периодов скрещиваемых видов.

Так, оптимальные значения нерестовых температур белуги лежат в пределах 8-10°C, т.е. несколько ниже, чем у осетра (14-16°C). Верхние пределы нерестовых температур для белуги 14-16°C. Производителей белуги желательно резервировать в бассейнах с охлажденной водой.

Для получения гибрида осетра с белугой следует использовать производителей осетра начала нерестового хода. Выдерживают их кратко-временно в садках или бассейнах. В случае необходимости можно стимулировать созревание осетра при нижней границе его нерестовых температур.

Производство обеих реципрокных форм гибрида следует планировать в первом цикле работ (табл. I).

Гормональную стимуляцию созревания осетра и белуги производить по установленным методикам (Сборник инструкций, 1986).

Получение зрелых половых продуктов от белуги и осетра, осеменение и инкубация икры осуществляются способами, принятыми на осетровых заводах.

Т а б л и ц а I

Оплодотворяемость икры и выживаемость эмбрионов
реципрокных гибридов осетра с белугой, %

Вид и гибридная форма	Оплодотворенная икра	Выживание эмбрионов от оплодотворенной икры
Осетр х белуга	80,0	50,0
Осетр	90,0	60,0
Белуга х осетр	70,0	Нет данных
Белуга	90,0	60,0

Гибридное осеменение проводится в течение 5-6 мин полусухим способом, обесклеивание в аппаратах АОИ во взвеси ила, талька или разбавленном молоке - в течение 40 мин.

Нормы загрузки икры в I секцию аппарата "Осетр" гибрида белуга х осетр - 2 кг, осетр х белуга - 1,5 кг.

Норма посадки в бассейны личинок гибрида белуга х осетр - 4 тыс.шт/м², осетр х белуга - 5 тыс.шт/м².

При инкубации и выращивании гибрида осетр х белуга аппараты следует обязательно затенять. Освещенность икры не должна превышать 40 лк.

Продолжительность инкубации гибридов зависит главным образом от температуры воды.

Так, при 9-10°C инкубация гибрида белуга х осетр длится не менее 10-11 сут, при 14-15°C массовый выклев наблюдается уже на 7-8 сут.

У гибрида осетр х белуга при температуре 16°C выклев наступает через 6 сут.

По длине и массе гибридные личинки на выклев и стадии перехода на внешнее питание уклоняются в сторону материнского вида.

Личинки белуги держатся в толще воды, совершая активные движения и в группы не скапливаясь. Личинки осетра образуют плотные скопления, иногда в два слоя в углах лотков и у водосбросов. Гибриды собираются в небольшие редкие кучки в затемненных местах. К началу активного питания группы постепенно распадаются. Большая часть личинок осетр х белуга держится у дна. Реципрокная форма занимает средние и верхние слои воды.

Первые 3-е сут. после выклеывания личинки должны содержаться в затененных бассейнах при освещенности до 10 лк. На 4-5-е сут. увеличить освещенность до 30-40 лк.

При переходе на активное питание освещенность может быть до 100 лк.

Молодь обоих гибридов проявляет каннибализм, поэтому по мере роста их следует сортировать.

В качестве корма лучше всего использовать науплии или декапсулированные яйца артемии, затем через 2-3 дня вводить искусственный корм Ст-07 или Ст-04 Аз.

При выращивании гибридов и родительских видов в одинаковых аквариумных условиях на втором месяце выращивания гибрид осетр х белуга обгоняет в росте гибрида белуга х осетр и контрольного осетра. В четырехмесячном возрасте масса гибрида осетр х белуга (110 г) в два раза превышает массу реципрокной формы (45 г).

Гибрид осетр х белуга отличается также высокой жизнестойкостью.

Диагностические признаки. По морфологическим признакам гибриды занимают промежуточное положение. Не было отмечено экземпляров, повторяющих внешний вид белуги или осетра (случаи "ложной" гибридизации). Внешний вид гибридов близок осетру, однако рот значительно шире и несколько изогнутой формы. Уплощенные усики длиннее, чем у осетра, лопастей не имеют. Жаберные перепонки приращены к межжаберному промежутку, как у осетра. Первые из спинных лучек наименьшие, количество их увеличено по сравнению с исходными видами.

Гибриды осетра со стерлядью

Обе реципрокные формы гибрида могут быть получены на осетровых рыбоводных заводах Каспийского и Азово-Черноморского бассейнов.

Для получения гибридов следует заготавливать производителей осетра во второй половине апреля при температуре воды 8-12°, используя осетров раннего и массового хода.

Заготовку стерляди надо проводить заблаговременно - в сентябре-октябре - и оставлять на зимовку в прудах. Из числа отловленных рыб необходимо отобрать зрелых самок и самцов. Зрелых рыб отбирают по брачному наряду - серебристому налету на голове, рельефному роговистому утолщению кожного покрова черепной коробки матово-белого серебристого цвета. Зрелых самок от самцов легко отличить по выпукло-

му мягкому брюшку, посредине которого заметна черная полоска. Брачный наряд появляется уже к осени, но более ярко выражен весной.

Зимовку стерляди можно проводить в обычных зимовальных прудах при плотности посадки до 10 тыс. шт/га.

Дозы гипофиза и время созревания производителей определяются по данным, представленным в сборнике инструкций (1986).

При получении гибрида осетр х стерлядь гипофизаную инъекцию самцам стерляди следует делать на 5-10 ч позднее инъектирования самок осетра.

Получение спермы от стерлядей производится одновременно со взятием икры от осетра. Техника получения зрелых половых продуктов осетра хорошо освоена персоналом осетроводных заводов, тогда как опыт работы с производителями стерляди имеется далеко не везде.

Созревшая сперма накапливается у стерляди в семяпроводе в задней части полости тела в довольно небольшом количестве (10-30 см³) и выбрасывается струей из генитального отверстия при самом слабом нажатии на брюшко. Если рыбовод не имеет навыка в работе, сперму можно потерять, она может быть разбрызгана по сторонам. Обычно вся порция спермы вытекает сразу, одной струей, после этого удается выдавить лишь несколько капель. Сперма от каждого самца собирается в отдельную емкость.

С помощью повторных инъекций молоки от каждого самца в течение 5-6 дней можно получать по 2-3 раза. Для оплодотворения икры одной самки осетра необходимо 10-15 самцов стерляди.

Икру осетра получают принятыми на осетровых заводах способами. Разделенную на порции по 1,5-2 кг икру оплодотворяют смесью спермы от 5-6 самцов стерляди из расчета 10 мл спермы на 1 кг икры.

При получении гибрида стерлядь х осетр инъектировать самок стерляди следует партиями по 20-40 шт. одновременно, и при небольшой асинхронности их созревания икра от такой партии может быть получена за 2-3 ч. Средняя рабочая плодовитость самок составляет 20-30 тыс. шт. Время овуляции икры определяют по графику (Сборник инструкций, 1986). В том случае, когда планируется ежегодное получение гибрида, забивать самок при взятии икры не следует. Намного экономичнее их содержание в прудах после взятия икры. При интенсивном кормлении самок икру от каждой самки получают 4-5 раз через каждые 1-2 года без ухудшения ее качества (метод биопсии).

Самцов осетра следует инъектировать на 4-6 ч раньше. Спермой двух-трех самцов можно оплодотворить несколько больших партий икры, полученных от 30 стерлядей, 1 кг икры (от 4-5 стерлядей) оплодотво-

рсят смесью спермы 3 самцов. 10-15 мл спермы разводят в 2-3 л воды. Клейкость после осеменения проявляется у икры стерляди быстрее и сильнее, чем у других осетровых. Поэтому время оплодотворения следует сократить до 3-4 мин, после чего быстро вносят густую взвесь ила. Длительность отмывания - 50-60 мин. Для инкубации икры используется аппарат "Осетр". Загрузка икры гибрида осетр х стерлядь в одну секцию 1,5 кг, гибрида стерлядь х осетр - 1,0 кг.

Продолжительность инкубации икры гибрида осетр х стерлядь при температуре 13,3°C - 9 сут, гибрида стерлядь х осетр - 7 сут. Вылупление личинок обычно продолжается от нескольких часов до суток.

Длина вылупившихся личинок гибрида осетр х стерлядь - 9-II мм, а гибрида стерлядь х осетр - 6-7 мм. На третьи сутки после вылупления личинки гибрида осетр х стерлядь скучиваются плотным слоем на дне и в углах бассейнов, однако эта особенность выражена несколько слабее, чем у "чистого" осетра. Часть гибридных личинок держится в толще воды.

Спустя 7-8 сут, личинки гибрида реагируют на корм и их скопления начинают распадаться.

Для гибрида осетр х стерлядь характерен более высокий темп роста, гибрид стерлядь х осетр растет медленнее, однако превышает рост стерляди, а позднее и осетра.

Рассасывание желтка у личинок продолжается от 6 до 10 дней в зависимости от температуры (табл.2).

Т а б л и ц а 2

Оплодотворяемость икры и выживание эмбрионов
реципрокных форм, %

Вид и гибридная форма	Оплодотворенная икра	Вылупившиеся эмбрионы
Осетр х стерлядь	80,3	60,0
Осетр	90,0	60,0
Стерлядь х осетр	90,0	50,0
Стерлядь	90,2	60,0

Отход личинок до начала активного питания незначителен и составляет 3-5%.

Наибольший отход личинок наблюдается в первую пятидневку смешанного и активного питания (до 20-30%), а позднее значительно сни-

жается и за весь период подращивания (12-15 дней) при нормальных условиях не должен превышать 30%.

В первые два дня лучшим кормом являются декапсулированные яйца артемии (табл.3).

Т а б л и ц а 3

Расчет кормов для личинок гибрида осетр x стерлядь

Периоды активного питания, сут.	Среднесуточный прирост, мг			Среднее потребление кормов, мг/сут	
	всего	артемии	гранулирован- ного корма	артемии	гранулированного корма
I-5	12	8,4	3,6	50,4	7,2
6-10	40	16	24	96	48
10-12	75	22,5	52,5	135	105

Гибриды более жизнеспособны по сравнению с родительскими видами, лучше переносят перепады температур. Питаются при температуре 7°C, тогда как осетры прекращают брать корм.

Гибрид стерлядь x осетр растет значительно быстрее, чем гибрид реципрокного скрещивания.

Диагностические признаки. По внешнему виду гибриды занимают промежуточное положение между осетром и стерлядью ("ложной" гибридизации не отмечалось). По меристическим признакам гибрид осетр x стерлядь занимает промежуточное положение или близок к осетру. По всем исследованным пластическим признакам наблюдается матроклиния. Наиболее надежными признаками отличия обеих реципрокных форм гибрида от стерляди являются уменьшенное число боковых жучек - 48 (у стерляди их количество - 61) и недоразвитие бахромок на усиках, а от осетра - большая длина и острая форма рыла.

Контроль происхождения гибридной молоди. При производстве промышленного скрещивания и дальнейшей работе с гибридным материалом требования к соблюдению технологической дисциплины должны быть повышены. Особые требования предъявляются к контролю происхождения гибридной молоди.

При производстве скрещивания во избежание смешивания не допускается одновременное получение чистых видов. При любом перемещении икры, личинок и молоди все емкости должны снабжаться четкими этикетками, об этом также должны проводиться точные записи в журналах.

В особых случаях (например, при поставках посадочного материала на экспорт) принадлежность партий молоди к той или иной гибридной форме удостоверяется соответствующим свидетельством завода.

Список рекомендуемой литературы

Б у р ц е в И. А. О воспроизводительной способности гибрида осетра со стерлядью // Докл. АН СССР, 1962.- Т.144, № 6.- С.1377-1379.

Б у р ц е в И. А. Описание изобретения к авторскому свидетельству 244793. Способ получения икры от самок рыб. 1969 ЦНИИПИ Комитета по делам изобр. и откр. при Совете Министров СССР, М.

Б у р ц е в И. А. Гаметогенез и воспроизводительная способность межвидовых гибридов осетровых рыб. Автореферат диссертации на соискание уч.степ. к.б.н., 1971.- 30 с.

Н и к о л ю к и н Н. И., Б у р ц е в И. А. Инструкция по разведению и товарному выращиванию гибридов белуги со стерлядью. М.: ВНИРО, 1969.- 51 с.

Н и к о л ю к и н Н. И. Отдаленная гибридизация осетровых и костистых рыб.- М.:Пищевая промышленность, 1972.- 335 с.

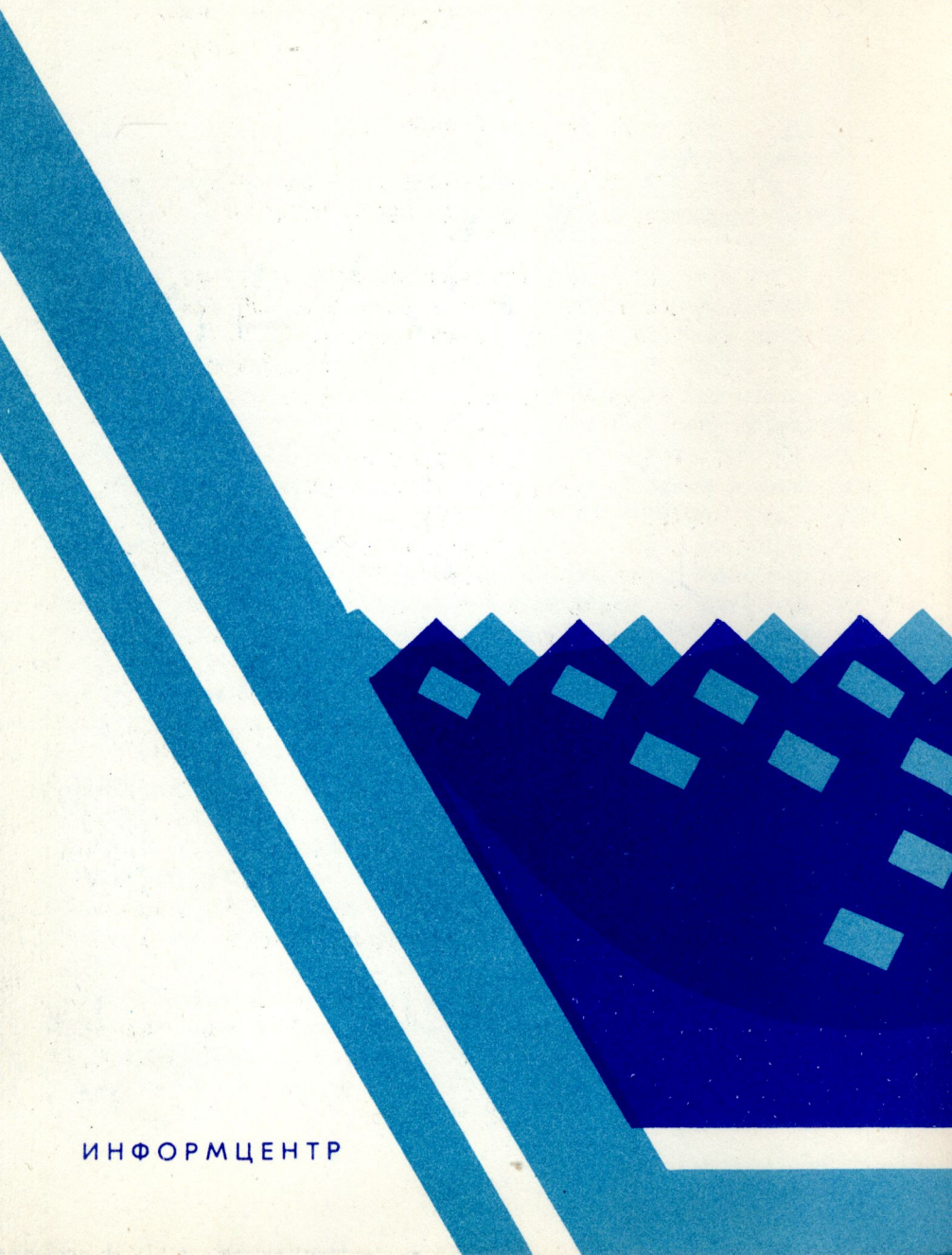
С б о р н и к инструкций и нормативно-методических указаний по промышленному разведению осетровых рыб в Каспийском и Азовском бассейнах.- М.:ВНИРО, 1986.

С е р е б р я к о в а Е. В. Изучение хромосомных комплексов и цитологии сперматогенеза гибридов осетровых рыб.-Л.:ГосНИОРХ,1964. Т.57.- С.279-285.

С е р е б р я к о в а Е. В. О возможности использования стерильных гибридов в осетроводстве.- М.:ВНИРО, 1979.- Т.138.-С.67-72, 271 с.

С е р е б р я к о в а Е. В., С о к о л о в Л. И., В а с и л ь е в В. П., А р е ф ь е в В. А. Некоторые вопросы эволюции осетрообразных // Тез.докл. П Всес.совещ. Генетика, селекция, гибридизация рыб.- 1981.-С.71-72.

Ч и х а ч е в А. С. Контроль за генетической структурой популяций и гибридизацией ценных пород рыб при искусственном разведении // Биологические основы рыбоводства: проблемы генетики и селекции.-М.:Наука, 1983.- С.91-101.



ИНФОРМЦЕНТР