

**РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИХ,
МОРФОМЕТРИЧЕСКИХ И ПОЛОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК
РЕМОНТНО-МАТОЧНОГО СТАДА БЕЛУГИ
(*HUSO HUSO* L., 1758), ВЫРАЩИВАЕМОГО В ТЕПЛОВОДНОЙ
АКВАКУЛЬТУРЕ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

**А.М. СЛУКВИН*, Н.А. БАЛАШЕНКО*, С.Е. ДРОМАШКО*,
Н.В. БАРУЛИН**, А.Е. БАРМИНЦЕВА*****

**Институт генетики и цитологии НАН Беларуси, Республика Беларусь,
г. Минск, ул. Академическая 27,
e-mail: A.Slukvin@igc.by*

***Белорусская Государственная сельскохозяйственная академия, Республика Беларусь,
Могилевская область, г. Горки, ул. Мичурина 5,
e-mail: barulin@list.ru*

****Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и
океанографии (ВНИРО), Российская Федерация, г. Москва, ул. Верхняя Красносельская 17,
e-mail: bae69@mail.ru*

**STUDY RESULTS OF MOLECULAR-GENETIC, MORPHOMETRIC AND
SEXUAL CHARACTERISTICS OF THE BELUGA (*HUSO HUSO* L., 1758)
REPLACEMENT BROODSTOCK CULTIVATED IN THE WARMWATER
AQUACULTURE OF THE REPUBLIC OF BELARUS**

**SLUKVIN A.M.*, BALASHENKO N.A. * DROMASHKO S.E. *,
BARULIN N.V.***, BARMINTSEVA A.E. *****

**Republic of Belarus, Institute of Genetics and Cytology of the National Academy
of Sciences of Belarus, Minsk,
e-mail: A.Slukvin@igc.by*

*** Republic of Belarus, Belarusian State Agricultural Academy, Horki,
e-mail: barulin@list.ru*

**** Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography, Moscow, Russia, e-mail::
bae69@mail.ru*

Статья поступила 30.11.2020 г.

Резюме: Методы ДНК – идентификации подтвердили чистоту вида в ремонтно-маточном стаде белуги (*Huso huso* (Linnaeus, 1758) отделения Белоозерское, ОАО «Опытный рыбхоз «Селец». При анализе D-петли мтДНК установлена каспийская популяционная принадлежность белуги, выращиваемой в хозяйстве. Установлен более низкий уровень генетического разнообразия в стаде белуги белорусского хозяйства, по сравнению с белугой из осетровых хозяйств РФ. Анализ морфометрических показателей и УЗИ сканирования показал, что условия содержания маточного поголовья белуги в рыбхозе «Селец» должны быть улучшены. Установлено, что стадо белуги, выращиваемое в хозяйстве, представлено в основном самками.

Ключевые слова: аквакультура, белуга, молекулярная генетика, межвидовые гибриды, генетический полиморфизм, морфометрические показатели, самки и самцы белуги, стадии зрелости гонад.

Abstract: DNA identification techniques confirmed the species purity in the Beluga (*Huso huso* (Linnaeus, 1758) replacement broodstock of Beloozerskoye Branch, OJSC “Experimental Fish Farm “Selets”. mtDNA D-loop analysis established the Caspian population belonging of the Beluga raised on the fish farm. A lower level of genetic diversity was established in the Beluga stock of the Belarusian farm as compared to the Beluga from the sturgeon farms of the Russian Federation. Analysis of morphometric parameters and an ultrasound scan showed that housing conditions of the Beluga breeding stock on the fish farm “Selets” should be improved. It was established that 69.5% of the Beluga stock raised on the farm is represented by females.

Keywords: aquaculture, beluga, molecular genetics, interspecific hybrids, genetic polymorphism, morphometric parameters, females and males of beluga, stages of gonad maturity.

Введение. Белуга (*Huso huso* (Linnaeus, 1758)), а также ряд других видов осетровых (Acipenseridae) внесены в Красный список МСОП как виды, находящиеся под угрозой исчезновения. Они также включены в Приложение II СИТЕС из-за катастрофического сокращения естественной численности популяций [1,2]. Белуга внесена в Красные книги России, Украины и др. стран.

Считается, что сокращение численности дикой белуги связано с незаконным промыслом, нарушением естественной среды обитания и строительством гидротехнических сооружений на нерестовых путях миграции. Последний раз белуга регистрировалась на территории Беларуси в 1907 году в реке Сож (Гомельская область) до строительства каскада Днепровских ГЭС. В 2008 году в целях расширения ассортимента осетровой рыбной продукции и в коммерческих целях в Республику Беларусь из Ростовской области Российской Федерации был импортирован малек белуги средней массой 5 граммов. Рыба выращивалась короткое время в условиях УЗВ на фирме ТМ (г. Минск), а затем была приобретена рыбхозом «Селец» (Брестская область). В хозяйстве часть молоди белуги была размещена на выращивание на тепловодном участке Белоозерское. К 2019 году в ОАО «Опытный рыбхоз «Селец» было сформировано единственное в стране ремонтно-маточное стадо осетра белуги (одиннадцатилетнего возраста) в количестве 877 экз., из них (256 экз.

выращивалось в тепловодной аквакультуре), чья видовая чистота, генетическое разнообразие, морфометрические показатели, половой состав и популяционная принадлежность оставались неизвестными.

Материалы и методы. Объект исследования: ремонтно-маточное стадо белуги 256 экз. (одиннадцати - 2019 г. и двенадцатигодовиков - 2020 г.), выращиваемое в бетонных бассейнах в тепловодной аквакультуре. Генетические исследования проведены у 122 экз. белуги. ДНК экстрагировали фенол-хлороформным методом из фрагментов грудных плавников. Фиксацию образцов проводили с использованием 96% этанола (соотношение ткань/этанол, 1:5 по объему). При сборе образцов тканей для генетических исследований проводили индивидуальное чипирование особей с помощью ленточных и электронных меток фирмы Hallprint (Австралия).

Для генетической оценки ремонтно-маточного стада белуги использовалось несколько молекулярно-генетических методов:

1) метод, основанный на известной видоспецифической панели STR-локусов (An20, AoxD161, AoxD165, AfuG41, Aox23, Spl106) с целью проверки чистоты вида и анализа сходства с другими видами осетровых [3-5]. Анализ STR-маркеров проводили с праймерами, представленными в табл. 1.

Таблица 1. – Характеристика 6-ти исследованных микросателлитных локусов у белуги *Huso huso* (n=122)

Темпе- ра- тура отжига (°C)	STR локус	Флуоресцентная метка	Последовательность, 5' > 3'	Повтор рисунка	Разме- ры алле- лей, п.о.
56	An20	Hexachlorofluoresc ein (HEX)	F:AATAACAATCATTACATGAGGCT R:TGGTCAGTTGTTTTTTATTGAT	(ATCT) _n (TG) _m	145, 149, 161
56	AoxD1 61	Fluorescein amidite (FAM)	F:GTTTGAAATGATTGAGAAAATGC R:TGAGACAGACACTCTAGTTAAAC AGC	(CTAT) _n	98, 102
56	AoxD 165	Carboxytetramethyl -rhodamine (TAMRA)	F: TTTGACAGCTCCTAAGTGATACC R:AAAGCCCTACAACAAATGTCAC	(CTAT) _n CTAC (CTAT) _m	178
56	AfuG 41	Fluorescein amidite (FAM)	F:TGACTCACAGTAGTATTATTTATG R:TGATGTTTGCTGAGGCTTTTC	(GATA) _n TA (GATA) _m	229, 237, 261, 269
52	Aox 23	Carboxytetramethyl -rhodamine (TAMRA)	F:TTGTCCAATAGTTTCCAACGC R:TGTGCTCCTGCTTTTACTGTC	(ATT) _n (ACT) _m (AAT) _p	123, 126,129, 135, 141
56	Spl106	Fluorescein amidite (FAM)	F:CACGTGGATGCGAGAAATAC R:GGGGAGAAAAGTGGGGTAAA	(TAGA) _n ((T/G)AA A) _m	219, 235 243

2) метод проверки чистоты вида (анализ межвидового гибридного присутствия в маточном стаде), основанный на использовании 3-х методик:

а) методика анализа 4 микросателлитных (STR) – маркеров (An20, AoxD161, AoxD165, AfuG41);

б) методика изучения полиморфизма специфичного для белуги единичного нуклеотида (SNP) во 2-м интроне ядерного рибосомного белка S6 (RP2S6) с использованием праймеров RP2S6_huso_F и RP2S6_groupA_R, предложенных в работе Boscari et al., 2017 [6];

в) методика изучения двух видоспецифичных позиций SNP для белуги и стерляди, используемых в качестве сайтов специфического связывания для диагностических праймеров. Мультиплексная смесь положительных праймеров HH/AR содержала праймеры 153_uni, 247_uni, 153_HHp, 247_ARp. Смесь отрицательных праймеров HH/AR содержала праймеры 153_uni, 247_uni, 153_HHn, 247_ARn [7].

3) метод секвенирования контрольной области 367 п.о. D-петли мтДНК для определения популяционной принадлежности белуги. Амплификацию области 367 п.о. D-петли мтДНК проводили с помощью праймеров LproF и DL651 [8].

Фрагментный анализ выполнен с использованием AppliedBiosystems 3500 GeneticAnalyzer. Длину аллелей определяли с помощью программы GeneMarker 5. Конкретные статистические параметры оценивали с помощью специализированного пакета программ GenAlEx v.6.5. (таблицы 3, 4). Все полученные последовательности нуклеотидов ДНК белуги рыбхоза «Селец» сравнивались с уже известными последовательностями для этого вида, представленными в базах данных ВНИРО (г. Москва) и в GenBank NCBI. Выравнивание и сравнение последовательностей выполнено с использованием программы MEGA X.

Морфометрические измерения у белуги (n=47) выполнены в 2020 г. при весенней бонитировке по 5 параметрам: масса тела (W, кг), длина тела L (см), длина тела l (см), охват тела (O, см), рост (H, см) [9]. Коэффициент упитанности определяли по Фультону.

Исследования по полу и стадиям развития гонад подвергнуты все чипированные особи белуги (n=256). Каждую особь исследовали по полу и с использованием УЗИ сканера польского производства Draminski iScan. Технические данные сканера: режим проецирования изображения - В, частота и тип датчика - электронный линейный 7,5 МГц (от 4 до 9 МГц), диапазон сканирования от 0 до 15 см. Неинвазивное УЗИ экспресс-исследование пола и стадий созревания гонад у белуги проводилось во фронтальной и поперечной плоскостях [10].

Результаты и обсуждение. Тестирование ремонтно-маточного стада белуги в рыбхозе «Селец» на чистоту вида и на наличие межвидовых гибридов.

Видоспецифичные аллельные варианты STR маркеров ДНК для видов осетровых, использованные в ходе проведенного исследования, представлены в табл.2.

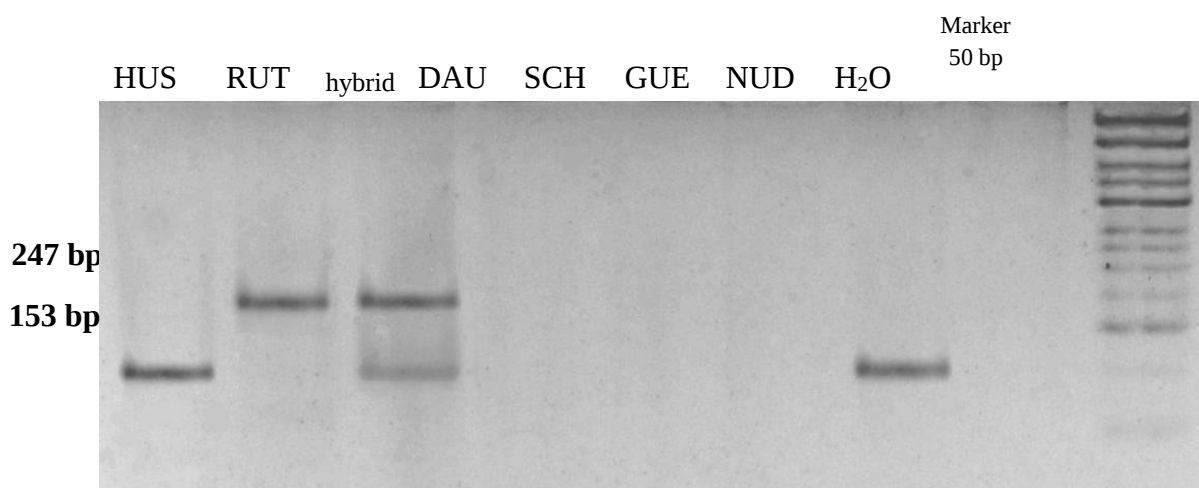
Таблица 2. – Четыре вида аллелей микросателлитных локусов осетровых видов рыб [3]

Название вида, (идентификационный код)	Размеры аллелей, п.о.			
	An20	AoxD161	AoxD165	AfuG41
Аллельные варианты	145, 149, 161	98, 102	178	229, 237, 261, 269
<i>Белуга (Huso huso)</i> (HUS)	145-153, 161-165, 173-177	98-106	174, 178, 182	225-277
<i>Калуга (Huso dauricus)</i> (DAU)	149, 165-169	118-126, 134-142	174, 186, 190, 194, 198, 202, 206, 210, 216	-
<i>Амурский осетр (Acipenser schrenckii)</i> (SCH)	137, 149-153, 161, 169-173	106-142	164, 172, 176, 180, 184, 188, 192, 196, 200, 204	185-213
<i>Русский осетр (Acipenser gueldenstaedtii)</i> (GUE)	137, 145-181	102-138	174-178, 182-198, 202	173, 193-249
<i>Тихоокеанский или зеленый осетр (Acipenser medirostris)</i> (MED)		114-126	182, 186-190, 198, 210, 230-254	193-205, 213-217, 225
<i>Сибирский осетр или ленский осетр (Acipenser baerii)</i> (BAE)	145-173, 185	102-134, 146	176-180, 184, 188, 192, 196, 200, 204, 208	197, 205-249
<i>Севрюга (Acipenser stellatus)</i> (STE)	129-145, 161, 169, 177-181	114-142	148, 152, 168-204, 208	193-233
<i>Стерлядь (Acipenser ruthenus)</i> (RUT)	149-181	102-138	164-168, 172, 176, 180-188, 192, 196	197-253
<i>Шип (Acipenser nudiventris)</i> (NUD)	149-153, 161-165	114-142	168, 180, 184, 196, 200, 204, 212	201, 213, 229-253
<i>Персидский, или иранский, или южнокаспийский, или куринский осетр (Acipenser persicus)</i> (PER)	161-181	102-142	156, 174-190, 194, 198, 202	173, 193-221, 229-241

При проведении молекулярно – генетических исследований отобранных биопроб (n=122) в ремонтно-маточном стаде белуги не выявили аллельных вариантов, не соответствующих виду – белуга (*Huso huso* L.). Сочетание встречаемости с высокой частотой специфичных для белуги аллельных вариантов (145 п.о. An20, 98 п.о. AoxD161, 178 п.о. AoxD165, 269 п.о. AfuG41) и отсутствия аллельных вариантов, специфичных для других видов осетровых, подтвердил видовую чистоту изученных особей белуги, выращиваемых в рыбхозе «Селец».

Известно, что гибриды белуги со стерлядью – бестер (*Huso huso* ♀ x *Acipenser ruthenus* ♂) являются высокопродуктивными межвидовыми гибридами в осетроводстве. Поэтому ремонтно-маточное стадо белуги в рыбхозе «Селец» в первую очередь было исследовано на наличие бестера в стаде [7] (рис. 1).

Смесь положительных праймеров



Смесь отрицательных праймеров

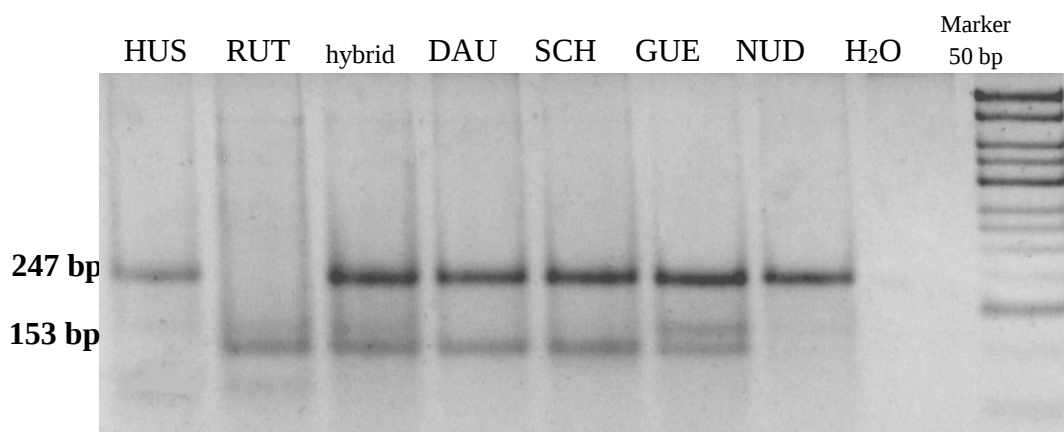


Рисунок 1. – Электрофореграмма образцов продуктов ПЦР осетровых видов рыб с положительными и отрицательными смесями праймеров. Аббревиатура: HUS – *Huso huso*; RUT – *Acipenser ruthenus*; hybrid – *Huso huso* x *Acipenser ruthenus*; DAU – *Huso dauricus*; SCH – *Acipenser schrenckii*; GUE – *Acipenser gueldenstaedtii*; NUD – *Acipenser nudiiventris*

Как свидетельствуют данные молекулярно-генетических исследований, представленные на рисунке 1, при использовании смеси положительных праймеров ДНК для исконных (чистых) видов осетровых, в образцах ДНК белуги они амплифицировались с образованием фрагмента длиной 153 п.о., а при использовании смеси отрицательных праймеров - с фрагментом длиной 247 п.о. У стерляди при использовании смеси положительных праймеров образцы ДНК амплифицировались с фрагментом длиной 247 п.о. и при использовании смеси отрицательных праймеров с фрагментом длиной 153 п.о.

В исследовании также были использованы ДНК межвидовых гибридов (*H. huso* x *A. ruthenus*), которые дали два продукта с использованием обеих смесей праймеров.

Получение двух продуктов ПЦР с использованием смеси отрицательных праймеров и отсутствием продуктов амплификации с использованием смеси положительных праймеров является видовым признаком для белуги и стерляди при сравнении с межвидовым гибридом бестером (*H. huso* x *A. ruthenus*) и с другими видами осетровых (например, с: калугой (*H. dauricus*, (DAU), амурским осетром (*A. schrenckii*, (SCH), русским осетром (*A. gueldenstaedtii*), (GUE) (рисунок 1).

Следует отметить, что данный метод не дал возможности корректного сравнения для двух видов: белуги (*H. huso*, HUS) и шипа (*A. nudiventris*, NUD).

Анализ мтДНК

Чтобы установить популяционную принадлежность ремонтно-маточного стада белуги в рыбхозе «Селец», была секвенирована область 367 п.о. митохондриальной D-петли с использованием праймеров LproF и DL651 [8]. Исследования были проведены у 36 экз. белуги.

Установленные в ходе секвенирования нуклеотидные последовательности соответствовали гаплотипу 3 для белуги по классификации внутренней базы данных ВНИРО (данные представлены к.б.н. А.Е. Барминцевой). Этот гаплотип соответствовал каспийской популяции белуги. Установлено, что полученные последовательности нуклеотидов также соответствовали последовательности (*Huso huso caspicus voucher* nC12 D-loop, partial sequence), представленной в GenBank AY846650.1 [11].

Изучение генетического разнообразия в маточном стаде белуги рыбхоза «Селец»

По результатам молекулярно-генетических исследований белуги (n=122) с использованием 6 STR маркеров были получены следующие аллельные варианты (табл.3).

Таблица 3. – Аллельные варианты, частоты и размеры аллелей для шести микросателлитных локусов ДНК белуги в рыбхозе «Селец»

Размеры аллелей, п.о.	Частота аллелей
An20	
145	0,4918
149	0,2664
161	0,2418
AoxD161	
98	0,74
102	0,26
AoxD165	
178	1
AfuG41	
229	0,0041
237	0,4754
261	0,2049
269	0,3156
Aox23	
123	0,2377
126	0,2787
129	0,0041
135	0,2746
141	0,2049
Spl106	
219	0,2541
235	0,4918
243	0,2541

Результаты, представленные в табл. 3, свидетельствуют о том, что пять из шести микросателлитных локусов ДНК у изученных особей белуги оказались полиморфными. Следует отметить, что аллели 229 п.о. (AfuG41) и 129 п.о. (Aox23) были зарегистрированы только у одной самки.

Рассчитанные с использованием модели Харди-Вайнберга ожидаемые частоты генотипов в популяции белуги представлены в табл. 4.

Таблица 4. – Ожидаемые величины критерия Хи-квадрат (χ^2) по модели Харди-Вайнберга

Локус	DF	χ^2	Prob	Statistically significant
An20	3	35,184	0,000	P<0.001
AoxD161	1	15,423	0,000	P<0.001
AoxD165	Мономорфный			
AfuG41	6	36,666	0,000	P<0.001
Aox23	10	116,266	0,000	P<0.001
Spl106	3	30,534	0,000	P<0.001

Сокращения: DF, степень свободы = $[Na(Na-1)]/2$; Prob - вероятность случайного отклонения наблюдаемых чисел от ожидаемых значений; Statistically significant – степень достоверности

Представленные в табл. 4 результаты свидетельствуют о существенном различии между наблюдаемым и ожидаемым числом аллельной дисперсии. Учитывая тот факт, что основное разнообразие аллельных вариантов в анализируемой группе было ограничено 1-4, вероятно, что большинство особей белуги, являются потомками, полученными при нересте одной пары производителей, а, следовательно, обладают низкой степенью генетического полиморфизма. Дополнительно степень генетического разнообразия маточного стада белуги в рыбхозе «Селец» была оценена путем сравнения с популяциями domesticiрованной белуги, выращиваемой в осетровых хозяйствах РФ. Результаты статистической обработки полученных данных о генетической структуре популяции белуги в рыбхозе Селец и domesticiрованной белуги в осетровых хозяйствах РФ, представлены в табл. 5.

Таблица 5. – Результаты сравнительного анализа генетической структуры популяций белуги в рыбхозе «Селец» (РБ) и в ряде осетровых хозяйств РФ

Обра- зец	Белуга в рыбхозе «Селец», Республика Беларусь				Доместичированная белуга в осетровых хозяйствах Российской Федерации			
локус	An20	AoxD16 1	AoxD16 5	AfuG41	An20	AoxD161	AoxD16 5	AfuG41
Na	3	2	1	4	12	5	8	14
Ne	2,693	1,631	1,000	2,720	4,036	2,008	2,664	9,640
I	1,045	0,575	0,000	1,065	1,950	1,005	1,303	2,433
Ho	0,746	0,525	0,000	0,795	0,577	0,327	0,442	0,788
He	0,629	0,387	0,000	0,632	0,752	0,502	0,625	0,896
uHe	0,631	0,389	0,000	0,635	0,760	0,507	0,760	0,905
F	-0,186	-0,356	-	-0,257	0,233	0,349	0,292	0,120

Сокращения: Na = № разных аллелей; Ne = № эффективных аллелей = $1 / (\sum p_i^2)$; I = информационный индекс Шеннона = $-1 * \sum (p_i * \ln(p_i))$; Ho = наблюдаемая гетерозиготность = $No. of Hets / N$; He = ожидаемая гетерозиготность = $1 - \sum p_i^2$; uHe = непредвзятый ожидаемый тип гетерозиготности = $(2N / (2N-1)) * He$; $F \{FCT\}$ = мера дифференциации популяции, обусловленная генетической структурой, которая оценивается по данным генетического полиморфизма, как частный случай F - статистики Райта. (= $(He - Ho) / He = 1 - (Ho / He)$).

Сравнительный анализ популяций белуги в белорусском хозяйстве и российских осетровых хозяйствах по величинам ряда изученных генетических критериев (табл. 5) указывает на недостаточное генетическое разнообразие генофонда в ремонтно-маточном стаде белуги рыбхоза

“Селец”. Ряд выявленных аллельных вариантов (Na) у белуги в рыбхозе “Селец” к domesticiрованной белуге (/) выглядит следующим образом: An20 3/12, AoxD161 2/5, AoxD165 1/8, AfuG41 4/14. Установлено, что белуга в рыбхозе «Селец» имеет отрицательные величины по данным генетического полиморфизма в отличие от положительных величин аналогичного показателя для domesticiрованной популяции белуги, выращиваемой в осетровых хозяйствах в РФ. Полученные результаты свидетельствуют, что в популяции белуги рыбхоза “Селец” наблюдается смещение генетического баланса в сторону избытка гетерозигот и показывает на неравномерное распределение аллелей в популяции, что еще раз подтверждает тесное родство в маточном стаде. Проведение скрещивания изученных особей в будущем может приводить к снижению гетерозиготности, что увеличивает вероятность возникновения рецессивных генетических аномалий у их потомства.

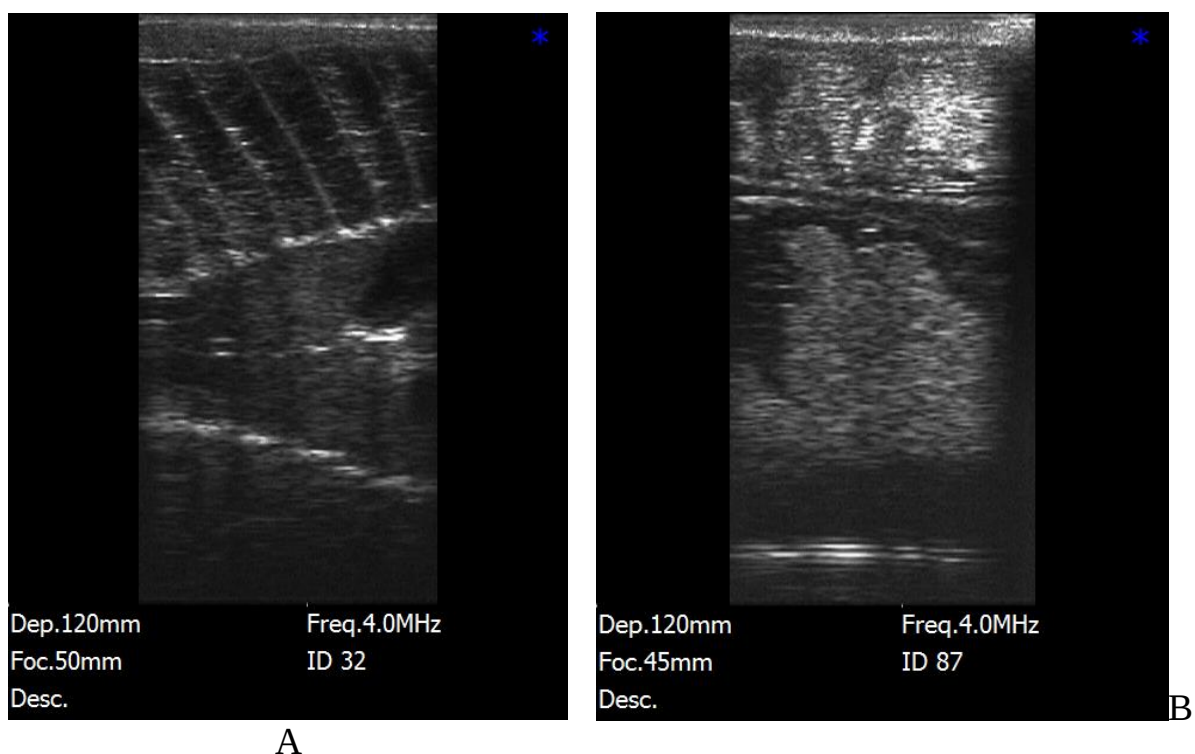
Морфометрический анализ

Морфометрический анализ белуги осетровой (n=47) из маточного стада рыбхоза “Селец” выявил их неудовлетворительное физиологическое состояние после зимовки и в период кормления. Сравнительно высокая вариабельность (Cv) массы тела (18,3%), коэффициента упитанности по Фультону (27,2%) и изученных внешних меристических признаков может быть следствием неблагоприятных условий кормления, поскольку генетические данные свидетельствуют о низкой аллельной вариабельности в ремонтно-маточном стаде белуги в рыбхозе «Селец».

УЗИ сканирование ремонтно-маточного стада по полу

С помощью ультразвукового сканирования в ремонтно-маточном стаде белуги в рыбхозе «Селец» (n=256) было установлено, что маточное поголовье белуги в рыбхозе представлено на 69,5% из самок (178 шт. ♀) и на 30,5% из самцов (78 шт. ♂). Ультразвуковое исследование у одиннадцати - и двенадцатигодовиков белуги проводилось на портативном ультразвуковом сканере соавтором статьи Барулиным Н.В. При проведении исследований определения пола и состояния гонад в маточном стаде белуги были установлены следующие стадии зрелости гонад: II, III и IV стадии у самцов; II, II полужирные, II жирные, II-III стадии у самок. Начиная со II-ой стадии зрелости, генеративная ткань хорошо просматривалась на продольных и поперечном срезах гонад (рис. 2).

На рис. 2 видно (А), что семенник гиперэхогенный, с четкими краями. Жировая часть недоразвита или слабо развита с медиальной стороны и практически не видна. Края гонады плавно изогнуты, при этом отчетливо была видна яркая гиперэхогенная оболочка семенников.



А

В

Рисунок 2. – Ультразвуковые изображения фронтальных срезов самца (А) и самки (В) белуги на II стадии зрелости

На III стадии зрелости эхогенность генеративной ткани значительно возрастала. На эхограммах семенники представляли собой однородную структуру светло-серого (в некоторых случаях белого) цвета с отчетливыми гиперэхогенными краями. В некоторых случаях были хорошо различимы две четкие гиперэхогенные линии, края гонад и слизистая оболочка брюшины. Семенники IV стадии выглядели как яркие, гиперэхогенные, мелкозернистые однородные структуры с четкими краями и четко очерченными оболочками. Гиперэхогенность семенников достигла максимума на IV стадии. Состояние зрелости и готовность самцов к нересту оценивали по яркости изображения семенников.

На эхограмме ткань яичника (стадия II) у самки (рис. 2, В) представляла собой зернистую «облачную» структуру смешанной эхогенности с неровными границами. Жировая часть яичника была небольшой и визуализировалась в виде более темных участков в отличие от более светлой ткани яичника.

На II полужирной стадии зрелости единичные яйценосные пластинки проявлялись как участки с более высокой эхогенностью, чередующиеся с гипозэхогенными (темными) жировыми участками. Таким образом, яйценосные пластинки «разрастались» от латеральной к медиальной части гонады. На II жировой стадии зрелости, в отличие от предыдущих стадий, соотношение видимой гипер- и гипозэхогенных участков было другим. Ткань

яичника была окружена жиром, как с медиальной, так и с латеральной стороны (темные области). Между мышцами и гонадами хорошо различался темный анэхогенный жировой слой.

На II-III стадии зрелости яичник, видимый на эхограмме, имел умеренную эхогенность. Яйцеклеточные пластинки «проникали» в тело гонады и представляли собой вертикальную структуру («коралловидную» или «бахромчатую» по форме) более высокой эхогенности, распространяющуюся на темную гипозоногенную область (жировую ткань).

Заключение

1. Установлена чистота вида в ремонтно-маточном поголовье белуги (*Huso huso* L.) в рыбхозе “Селец” (Брестская область, Республика Беларусь).

2. Отсутствие межвидовых гибридов и видовая чистота в исследуемой группе белуги были подтверждены тремя молекулярно-генетическими методами. Гибридов в ремонтно-маточном стаде белуги, выращиваемом в хозяйстве, не обнаружено.

3. Последовательность 367 п.о. в области D-петли мтДНК была идентифицирована как гаплотип № 3, соответствующий каспийской популяции белуги (по классификации ВНИРО).

4. Результаты молекулярно-генетических исследований белуги в рыбхозе «Селец» свидетельствуют о близком родстве проанализированных особей. Сравнительный анализ генетического разнообразия белуги в рыбхозе «Селец» с генофондами одомашненных осетровых белуги ряда осетровых рыбоводных хозяйств РФ показал, что генофонд белуги в белорусском хозяйстве беднее, чем в хозяйствах РФ. Рекомендуются в дальнейшем приобретение биологического материала белуги из других осетровых хозяйств.

5. УЗИ сканирование белуги в рыбхозе “Селец” показало, что у самцов гонады находятся на II, III и IV, у самок на II, II полужировой, II жировой, II-III стадиях.

6. Коэффициенты вариации морфометрических параметров и результаты УЗИ сканирования свидетельствуют о необходимости улучшения условий кормления и содержания маточного поголовья белуги в рыбхозе “Селец”.

7. Маточное поголовье белуги в рыбхозе “Селец” представлено в основном самками, превышающими в 2,3 раза по численности самцов.

8. Ряд чипированных самцов белуги, по результатам УЗИ сканирования, могут быть рекомендованы для гибридизации со стерлядью и сибирским осетром.

Список использованных источников

- 1 Raymakers C. CITES, the Convention on International Trade in Endangered Species of wild fauna and flora: its role in the conservation of Acipenseriformes // J. Appl. Ichthyol. – 2006. – Vol. N 22(1). P. 53–65.
- 2 Birstein V.J., Bemis W.E., Waldman J. The threatened status of Acipenseriform species: a summary in Sturgeon Biodiversity and Conservation. // Dordrecht: Kluwer Academic Publishers – 1997. P. 427–435.
- 3 Барминцева А.Е., Н.С. Мюге. Использование микросателлитных локусов для установления видовой принадлежности осетровых (Acipenseridae) и выявления особей гибридного происхождения // Генетика животных – 2013. – Т. 49. №9. – С. 1093–1105.
- 4 King, T.L., B.A. Lubinski, A.P. Spidle. Microsatellite DNA variation in Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus*) and cross-species amplification in Acipenseridae // Journal of Conservation Genetics – 2001. – Vol. 2. P. 103–119.
- 5 Fopp-Bayat, D., Kuciński M., Liszewski T., Teodorowicz T., Łaczyńska B., Lebeda I. Genetic protocol of Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus* (L.) fry for restocking the Vistula river, Poland // Journal of Survey in Fisheries Sciences – 2015. – Vol. 2 (1). P. 1–10.
- 6 Boscari, E. Species and hybrid identification of sturgeon caviar: a new molecular approach to detect illegal trade. / E. Boscari [et al.] // Mol. Ecol. Resour. – 2013. – Vol. 14. – N 3. P. 489–498.
- 7 Havelka, M. Nuclear DNA markers for identification of Beluga and Sterlet sturgeons and their interspecific Bester hybrid / M. Havelka [et al.]. Scientific Reports – [Электронный ресурс]. – 2017. – URL: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-01768-3> (дата обращения: 13.01.2020).
- 8 Н.С. Мюге, А. Е. Барминцева, С. М. Расторгуев, В. Н. Мюге, В. А. Барминцев. Полиморфизм контрольного региона митохондриальной ДНК восьми видов осетровых и разработка системы ДНК-идентификации видов // Генетика. – 2008. – Т. 44. №7. – С. 913–919.
- 9 Правдин И. Ф. Руководство по изучению рыб (с акцентом на пресноводных рыбах). М.: Пищевая промышленность. 1966. – 376 с.
- 10 М.С. Чебанов и Е.В. Галич. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб. – Анкара: Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН. Технический доклад ФАО по рыбному хозяйству. №558. 2013. 370 с.
- 11 Doukakis, P., Birstein, V.J. and De Salle, R. Intraspecific structure within three caviar producing sturgeons (*Acipenser gueldenstaedtii*, *A. stellatus*, and *Huso huso*) based on mitochondrial DNA analysis // Journal of Applied Ichthyology – 2005. – Vol. 21. P. 457–460.