

УДК 639.512.032:[595.384.12-146:57.089]
ББК 47.285:28.691.86-6

Нгуен Тхи Туэт, В. Н. Крючков

**ПРОИЗВОДСТВО «ПСЕВДОСАМОК»
У ГИГАНТСКИХ ПРЭСНОВОДНЫХ КРЕВЕТОК
MACROBRACHIUM ROSENBERGII
УДАЛЕНИЕМ АНДРОГЕННОЙ ЖЕЛЕЗЫ**

Nguyen Thi Tuyet, V. N. Kryuchkov

**PRODUCTION OF "NEOFEMALES"
OF GIANT FRESHWATER PRAWN
MACROBRACHIUM ROSENBERGII
BY THE REMOVAL OF ANDROGENIC GLAND**

Излагаются преимущества монокультуривования самцов гигантских пресноводных креветок. Предложен усовершенствованный метод образования «псевдосамок» креветок путём удаления андрогенной железы у самцов. Спустя три месяца после выполнения микрохирургии были получены положительные результаты по транссексуализации самцов в самок. Показано, что у «фальшивых» самок не проявлялись вторичные мужские половые признаки и гонопоры были расположены на основании третьей пары переоподов. Их ячники были развиты в возрасте 7 месяцев после метаморфоза. Результаты исследования позволяют определить стадии, на которых пол креветок может быть наиболее успешно изменён с образованием зрелых «фальшивых» самок.

Ключевые слова: гигантская пресноводная креветка, псевдосамка, транссексуал креветок, андрогенная железа, монокультуривование самцов, десятиногие раки, *Macrobrachium rosenbergii*.

The advantages of monocultivation of males of giant freshwater prawns are described. The improved method of formation of "neofemales" of prawns by removing androgenic gland of males is proposed. Three months later, after microsurgery the positive results on sex reversal from males to females were obtained. It is shown that the "neofemales" had no secondary masculine sexual characters and gonophore complexes were located on the third pair of pereopods. Their ovaries were developed at the age of 7 months after metamorphosis. The results of the study help determine the stages, at which prawn sex can be more successfully changed to form mature "false" females.

Key words: giant freshwater prawn, neofemale, prawn sex reversal, androgenic gland, male monocultivation, decapod, *Macrobrachium rosenbergii*.

Введение

Креветки играют важную роль в экономике мирового рыболовства, особенно в странах, имеющих ресурсы креветочного промысла или условия для их разведения (Вьетнам, Таиланд, США, Бразилия и др.). Это связано с их высокой стоимостью и устойчивым ростом спроса на эту продукцию [1]. Гигантская пресноводная креветка *Macrobrachium rosenbergii* – один из наиболее изученных видов, имеющий огромное значение для аквакультуры. Одним из путей повышения рентабельности выращивания гигантских пресноводных креветок является производство однополых популяций, состоящих из самцов. Самцы креветок заметно отличаются от самок более интенсивным ростом массы и более крупными размерами [2]. Товарное выращивание только самцов позволяет получить прибыль на 60 % больше по сравнению с прибылью при традиционном выращивании (самцов и самок). Стадо креветок, состоящее только из самцов, достигает товарного размера быстрее, чем стадо самок и стадо смешанного пола [3]. При выращивании только самцов гигантских пресноводных креветок требуется меньше корма, выше показатели выживания, меньше разброс размерно-весовых показателей, больше урожайность. Смешанное выращивание (самцы и самки) креветок длится 8–10 месяцев, при этом нужно производить отбор 4–5 раз за сезон [2]. При выращивании только самцов период роста короче, требуется меньше кормов, и поэтому проблем, вызывающих загрязнение окружающей среды и ухудшение

качества воды в водоемах, тоже меньше. В настоящее время в мире уже существует несколько новых технологий производства гигантских пресноводных креветок с большим количеством самцов. Одной из них является образование «фальшивых» самок («псевдосамок») путём удаления андрогенной железы самцов в возрасте 30–60 дней после метаморфоза личинок. Эти «фальшивые» самки (с генотипом ZZ) при скрещивании с нормальными самцами (ZZ) дают потомство, в котором количество самцов достигает 98–100 % [3, 4].

Цель исследований – определение стадий развития креветок, на которых манипуляции по изменению пола являются наиболее успешными.

Материалы и методы исследований

Объектом исследования служила гигантская пресноводная креветка (*Macrobrachium rosenbergii*) в возрасте от 30 дней после метаморфоза и старше. Экспериментальная часть работы выполнялась на базе малого инновационного предприятия Астраханского государственного технического университета ООО «Эко-тропик». В работе использовались морфометрические и статистические методы [5].

Морфометрический анализ заключался в определении скорости роста ΔT по формуле [6]:

$$\Delta T = \frac{\Delta W}{t_2 - t_1},$$

где Δw – изменение массы, $\Delta w = w_2 - w_1$; w_1 и w_2 – начальный и конечный вес особи; t_1 и t_2 – начальное и конечное время выращивания соответственно.

Статистическая обработка результатов исследований осуществлялась при помощи интегральных пакетов STATISTICA v. 6.0 и в среде компьютерной программы «Microsoft Excel».

Результаты исследований и их обсуждение

По характеру внешнего строения самцы креветок обычно крупнее самок. Клешни у самцов развиты сильнее, последние три пары ног покрыты образованиями в виде гранул, которых нет у самок. Панцирь и abdomen самок ровнее и толще, чем у самцов. Гонопоры у самцов расположены под коксальными отростками пятой пары переоподов (рис. 1), у самок – на коксах третьей пары. Они формируются на стадиях 40–45 дней после метаморфоза. Кроме того, существуют отличия в строении репродуктивных щетинок у самок, входящих в состав выводковой камеры. У самцов вторая пара плеоподов частично преобразована в совокупительный орган (мужской отросток), и в середине первой пары на поверхности абдомена существует твердая точка, которую можно определить под стереоскопическим микроскопом на стадии PL 10. Мужской отросток начинает возникать на 67 день после периода метаморфоза и получает полное развитие на 95 день (рис. 1).

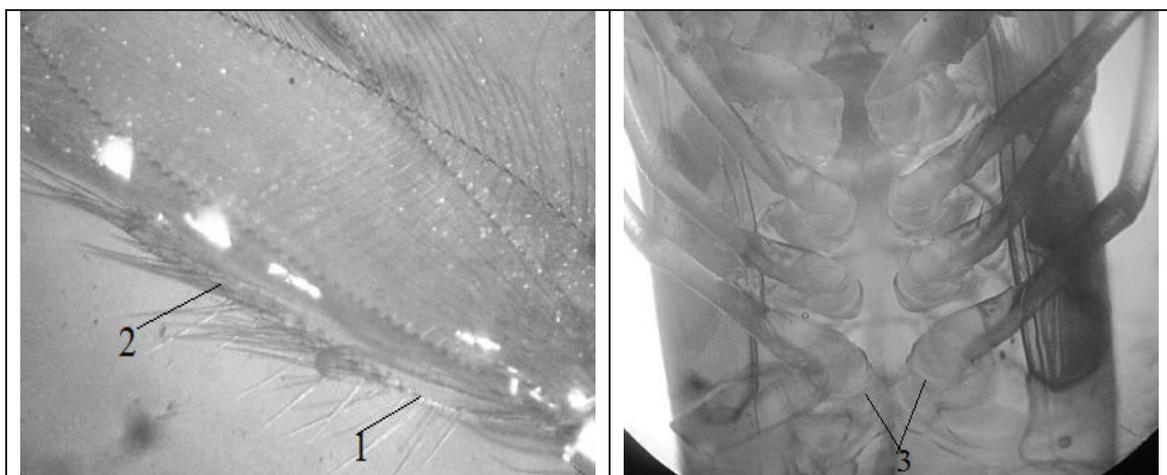


Рис. 1. Мужские отростки и гонопоры у самца на стадии 75 дней после метаморфоза:
1 – внутренний придаток; 2 – мужской отросток; 3 – гонопоры

Пол креветок на стадии 20–60 дней после метаморфоза (PL 30 и PL 60) ещё полностью не определён. На стадиях PL 30 и PL 50 семенники и яичники у креветок еще не получают полного развития, поэтому удаление андрогенной железы на этих стадиях способствует формированию половой системы по женскому типу.

При нашем исследовании удаление андрогенной железы самцов выполняли по стадиям: PL 30, PL 40, PL 50. На каждой стадии вырезали мужские железы у 15-ти самцов. Процесс удаления железы был следующим:

1. Голова и хвост креветки фиксировались глиной или мокрой ватой.
2. Под стереоскопическим микроскопом, при увеличении в 30 раз, близлежащие части у основания пятой пары переоподов (ходильных ног) вырезались до глубины 1,0–1,5 мм специальными ножницами.
3. После вырезания хитинового покрова пятой пары переоподы вместе с прозрачными волокнами извлекались маленькими пинцетами. Если прозрачное волокно – семенной проток с андрогенной железой не отделяется от креветки, то удаление андрогенной железы не удастся.

После удаления мужской железы через 5 дней вырезали последние сегменты второй плавательной ножки. Через один месяц проверяли результат опыта. Если последний сегмент второго плеопода растет без мужского придатка, то получаем «псевдосамок» самок с генотипом ZZ. Если, наоборот, на вырезанных ножках растут мужские придатки, то опыт не удастся.

Таким образом, через 3 месяца мы получили креветок с изменённой половой системой. Темп роста самцов креветок, подвергнутых операции по удалению андрогенной железы, различался в зависимости от того, на какой стадии они были прооперированы. Эти различия показаны на рис. 2.

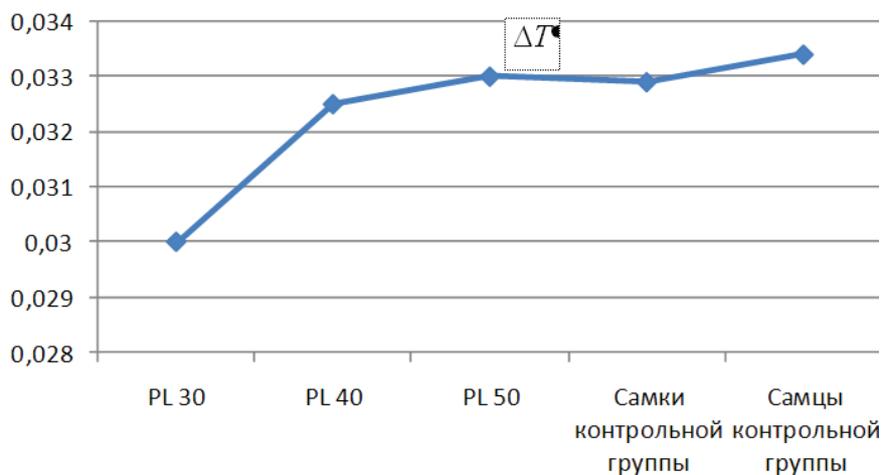


Рис. 2. Скорость роста у креветок после микрохирургии и у креветок контрольной группы; ΔT – скорость роста

Как видно из рис. 2, креветки с удаленными железами на стадии 30 дней после метаморфоза имеют меньшую скорость роста по сравнению с креветками, оперированными на стадиях PL 40 и PL 50. Скорость роста креветок с удаленными андрогенными железами на стадии PL 50 была не намного выше, чем у самок и самцов из контрольной группы.

Выживаемость креветок на стадии PL 30, спустя неделю после микрохирургии, ниже (46,66 %, $n = 7$ шт.) по сравнению с выживаемостью креветок на стадиях PL 40 и PL 50, где этот показатель составил 80 % ($n = 12$ шт.). Самцы на стадии PL 30, согласно размерно-весовой категории, являются маленькими и слабыми особями, поэтому после удаления андрогенной железы их рост замедляется, что, в свою очередь, приводит к высокой смертности (53,33 %, $n = 8$ шт.) через неделю после микрохирургической операции (табл.).

Количество креветок до и после микрохирургической операции

Стадия удаления андрогенной железы	Количество креветок				
	прооперированных и в контрольной группе	через неделю после операции	через 3 месяца после операции	без возникновения мужских отростков после операции	с образованием полового отверстия на коксах третьей пары
PL 30	15	7	6	5	5
PL 40	15	12	10	4	3
PL 50	15	12	12	2	1
Контрольная группа	20 (10 самок + 10 самцов)	20	20	–	–

Смертность у креветок в период от недели до 3 месяцев после операции относительно небольшая. Полученные результаты можно интерпретировать следующим образом: в период после операции смертность креветок зависит от условий выращивания и конкуренции.

Наиболее успешно образование «псевдосамок» самок происходит на стадии PL 30. На стадиях PL 40 и PL 50 образование «псевдосамок» самок менее успешно, несмотря на то, что по сравнению с предыдущей группой на этих стадиях креветки более жизнеспособны. После удаления андрогенной железы количество креветок с образованием мужских отростков составило 37,8 % ($n = 17$). Семенники у некоторых из них были развиты, но имелся только один семенной проток (рис. 3).

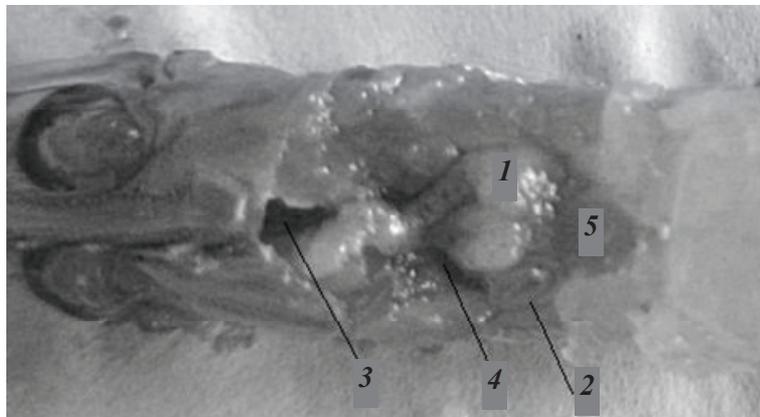


Рис. 3. Самец с одним половым отверстием после операции в возрасте 5 месяцев

Спустя 3 месяца после микрохирургической операции было получено 9 «фальшивых» самок. У этих «псевдосамок» не имелось мужских отростков, а половые отверстия располагались на коксах третьей пары. У двух из этих креветок в возрасте 7 месяцев были развитые яичники (рис. 4). У остальных «фальшивых» самок яичники не образовались, хотя их внешнее строение было характерным для обычных самок.

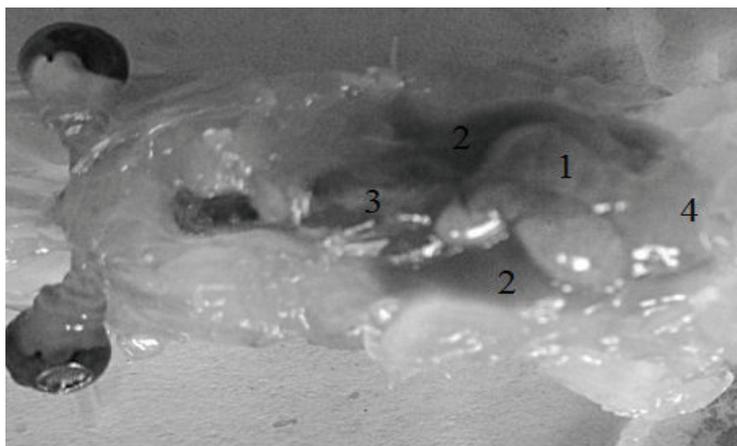


Рис. 4. Псевдосамка с яичниками в возрасте 7 месяцев:
1 – яичники; 2 – печень; 3 – желудок; 4 – сердце

Через 7 месяцев выращивания яичники двух псевдосамок и нормальной самки были извлечены. Масса их яичников была соответственно 0,88 и 0,86 г, что меньше, чем у нормальной самки – 0,92 г. У нормальных самок зрелые яичники бывают уже в возрасте 5–6 месяцев, но у наших «псевдосамок» самок к этому времени яичники зрелости ещё не достигли.

При проведении манипуляции по удалению андрогенной железы возникает проблема по определению пола креветок на ранних стадиях. Так, для решения этого вопроса E. D. Aflalo, T. T. Hoang и др. [1] приводят результаты усовершенствования технологии производства креветок *Macrobrachium rosenbergii* с большим количеством самцов. Технология осуществляется в два этапа: на первом этапе андрогенные железы креветок вырезаются в возрасте 30–60 дней после метаморфоза (PL 30 и PL 60). «Псевдосамки», сформировавшиеся на этом этапе, размножаются с нормальными самцами, образуя потомство только мужского пола. На втором этапе из потомства креветок, полученных на первом этапе, также создаются «псевдосамки» при помощи удаления андрогенной железы на стадии 20–30 дней (PL 20 и PL 30). Благодаря удалению андрогенной железы ранее, чем на первом этапе, количество псевдосамок на втором этапе оказалось выше. В исследовании Wikrom Rungsin и Natthapong Paankhao было выполнено удаление андрогенной железы у 87 самцов на первом этапе. В результате было получено 23 псевдосамки, имевших способность размножаться (27,14 %). Двенадцать из них дали потомство, в котором доля самцов достигала 99,9–100,0 % [4].

Заключение

Результаты нашего исследования дополняют результаты, полученные в предыдущих исследованиях A. Sagi, E. D. Aflalo, Wikrom Rungsin, Natthapong Paankhao и Uthairat Na-Nakorn [1, 2, 4]. Было подтверждено, что удаление андрогенной железы у самцов гигантских пресноводных креветок на ранних стадиях приводит к инверсии пола. Таким образом, закладывается основа новых технологий производства в аквакультуре популяций с большим количеством самцов у разных представителей отряда *Decapoda* (Latreille, 1802), приводящих к увеличению продуктивности и повышению рентабельности производства.

Изучение изменения пола креветок при удалении андрогенной железы на разных стадиях проводилось впервые. Результаты исследования позволяют определить стадии, на которых пол креветок может быть успешно изменён с образованием зрелых «фальшивых» самок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бейли И. Н. Статистические методы в биологии / И. Н. Бейли. М.: Изд-во иностр. лит., 1962. 260 с.
2. Вундцеттель М. Ф. Общая гидробиология: учеб. пособие / М. Ф. Вундцеттель. Астрахань: Изд-во АГТУ, 2003. 153 с.
3. Aflalo E. D. A novel two-step procedure for mass production of all-male populations of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* / E. D. Aflalo, V. H. Nguyen, Q. Lam, D. M. Nguyen, Q. S. Trinh, S. Raviv, A. Sagi // *Aquaculture*. 2006. N 256. P. 468–478.

4. Sagi A. The androgenic gland and monosex culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: a biotechnological perspective / A. Sagi, E. D. Aflalo // *Aquac. Res.* 2005. N 36. P. 231–237.
5. Sagi A. Production of *Macrobrachium rosenbergii* in monosex population: yield characteristics under intensive monoculture conditions in cages / A. Sagi, Z. Ranan, D. Cohen, Y. Wax // *Aquaculture*. 1986. N 51. P. 265–275.
6. Wikrom Rungsin. Production of all-male stock by neofemale technology of the Thai strain of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* / Wikrom Rungsin, Natthapong Paankhao, Uthairat Na-Nakorn // *Aquaculture*. 2006. N 259. P. 88–94.

REFERENCES

1. Beili I. N. *Statisticheskie metody v biologii* [Statistical methods in biology]. Moscow, Izd-vo inostr. lit., 1962. 260 p.
2. Vundtsettel' M. F. *Obshchaia gidrobiologiya* [General hydrobiology]. Astrakhan, Izd-vo AGTU, 2003. 153 p.
3. Aflalo E. D., Nguyen V. H., Lam Q., Nguyen D. M., Trinh Q. S., Raviv S., Sagi A. A novel two-step procedure for mass production of all-male populations of the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 2006, no. 256, pp. 468–478.
4. Sagi A., Aflalo E. D. The androgenic gland and monosex culture of freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: a biotechnological perspective. *Aquac. Res.*, 2005, no. 36, pp. 231–237.
5. Sagi A., Ranan Z., Cohen D., Wax Y. Production of *Macrobrachium rosenbergii* in monosex population: yield characteristics under intensive monoculture conditions in cages. *Aquaculture*, 1986, no. 51, pp. 265–275.
6. Wikrom Rungsin, Natthapong Paankhao, Uthairat Na-Nakorn. Production of all-male stock by neofemale technology of the Thai strain of freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 2006, no. 259, pp. 88–94.

Статья поступила в редакцию 13.06.2013

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Нгуен Туэт Тхи – Астраханский государственный технический университет; аспирант кафедры «Гидробиология и общая экология»; ngocha2008@gmail.ru.

Nguyen Tuyet Thi – Astrakhan State Technical University; Postgraduate Student of the Department "Hydrobiology and General Ecology"; ngocha2008@gmail.ru.

Крючков Виктор Николаевич – Астраханский государственный технический университет; д-р биол. наук; профессор кафедры «Гидробиология и общая экология»; kvn394@rambler.ru.

Kryuchkov Victor Nickolaevich – Astrakhan State Technical University; Doctor of Biological Sciences; Professor of the Department "Hydrobiology and General Ecology"; kvn394@rambler.ru.