

УДК 597.554.3.574.23

ОТНОШЕНИЕ ГИБРИДОВ КАРПА *CYPRINUS CARPIO* И СЕРЕБРЯНОГО КАРАСЯ *CARASSIUS AURATUS* К ДЕФИЦИТУ КИСЛОРОДА

© 2011 г. Д. А. Балашов, А. В. Рекубратский

Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства – ВНИИПРХ,
пос. Рыбное Московской области

E-mail: vniph@mail.ru

Поступила в редакцию 24.01.2011 г.

Исследована устойчивость к гипоксии диплоидных гиногенетических и триплоидных возвратных гибридов между серебряным карасём *Carassius auratus* и карпом *Cyprinus carpio* в сравнении с карпом. Показано, что выживаемость гибридов в условиях гипоксии тем выше, чем больше доля в их генотипе наследственности серебряного карася.

Ключевые слова: устойчивость к гипоксии, карп, серебряный карась, гибриды.

Способность некоторых животных выживать в условиях низкого содержания кислорода обусловливается различными адаптационными приспособлениями к гипоксии. Это относится в первую очередь к низшим позвоночным (амфибиям, рептилиям и рыбам). Существуют около 20000 видов рыб, обладающих в той или иной степени способностью выживать в условиях гипоксии, т.е. при условиях, когда содержание кислорода в воде опускается ниже критической величины (Bickler, Buck, 2007). Такие рыбы, как лососи (*Oncorhynchus*), окунь *Perca fluviatilis*, тиляпия (*Oreochromis*), совершенно не выдерживают снижение концентрации кислорода ниже критической величины, другие, такие как карп и угри, способны довольно успешно переживать кратковременные периоды гипоксии (Gesser, 1977; Cornish, Moon, 1985; Faust et al., 2004).

Наиболее интересны, с точки зрения механизмов адаптации к гипоксии, рыбы рода *Carassius*. У золотого карася *C. carassius* при длительной гипоксии снижается метаболизм, однако в анабиоз он не впадает, сохраняя минимальную жизнедеятельность (Nilsson, Renshaw, 2004). По данным этих авторов, золотой карась способен выживать при гипоксии и температуре 20°C в течение 48 ч, а при постепенной адаптации к температуре 0°C – в течение нескольких месяцев. Одомашненная форма серебряного карася – золотая рыбка *C. auratus* – в тех же условиях способна выживать в течение соответственно 22 и 45 ч (Walker, Johansen, 1977; Bickler, Buck, 2007).

Наши исследования гибридов серебряного карася с карпом проводятся с целью их изучения в качестве перспективного объекта аквакультуры, который сочетает в себе положительные рыбохозяйственные свойства родительских видов. По-

скольку у гибридов F_1 имеет место однополумужская стерильность, их воспроизводство осуществляется с помощью метода индуцированного гиногенеза (Черфас, Илясова, 1980). Ранее было показано (Емельянова, Черфас, 1980; Черфас и др., 1989), что самки F_1 и их гиногенетические потомки продуцируют нередуцированные яйцеклетки, содержащие диплоидный набор хромосом (около 100). При скрещивании гибридных самок с родительскими видами возникает триплоидное потомство (около 150 хромосом) (Черфас и др., 1981).

Таким образом, гиногенетические гибриды (G) содержат один геном карпа и один геном серебряного карася. Возвратные триплоидные гибриды на карпа (F_{bk}) содержат один геном серебряного карася и два генома карпа, а на серебряного карася (F_{bck}) – два генома серебряного карася и один геном карпа. К настоящему времени получено уже 7-е последовательное поколение гиногенетических гибридов (G_7).

В рамках исследования биологических и рыбохозяйственных свойств гибридов, содержащих разную долю наследственности карпа и карася, была поставлена задача изучить отношение этих гибридов и карпа к дефициту кислорода.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В экспериментах использовали четыре группы сеголеток: возвратные триплоидные гибриды на карпа (F_{bk}) массой 25.5 ± 1.4 г., возвратные триплоидные гибриды на карася (F_{bck}) – 21.7 ± 1.3 г., гиногенетические гибриды 7-го поколения (G_7) – 18.8 ± 1.1 г., карп – 21.1 ± 1.3 г. Устойчивость рыб

Таблица 1. Продолжительность жизни (ч:мин) рыб после снижения концентрации кислорода до критического уровня (1.3 мг О₂/л) при 20°C

Группа рыб	Повторности опыта					$M \pm m$
	1	2	3	4	5	
	Совместное тестирование					
Карп	1:05	0:37	1:25	0:30	0:45	0:53 ± 0:10
G ₇	3:05	2:50	3:50	3:40	3:45	3:30 ± 0:12
F _{БК}	1:55	1:10	1:45	1:30	1:55	1:40 ± 0:09
F _{БСК}	3:35	3:55	6:40	6:10	7:05	5:30 ± 0:43
	Раздельное тестирование					
Карп	1:20	2:00	1:40	2:00	1:55	1:47 ± 0:08
G ₇	2:20	4:45	4:35	5:00	5:00	4:20 ± 0:30
F _{БК}	2:40	2:30	2:00	1:17	2:30	2:12 ± 0:15*
F _{БСК}	7:00	7:10	7:50	8:50	9:10	8:00 ± 0:26

Примечание. Здесь и в табл. 2: $M \pm m$ – среднее значение и его ошибка; * отличия от карпа статистически недостоверны.

к гипоксии определяли при двух значениях температуры – 20 и 5°C.

Перед началом опытов по тестированию к гипоксии при температуре 20°C гибридов G₇, F_{БК}, F_{БСК} и карпов в течение 1 мес. содержали совместно в аквариуме объёмом 200 л при регулярном кормлении. За 1 сут. до тестирования кормление прекращали. Перед началом эксперимента рыб помещали в респирометр объёмом 3 л, где поддерживали постоянную температуру воды 20°C, и в течение 1 ч адаптировали к экспериментальной установке при постоянном насыщении воды кислородом. Затем подачу воздуха отключали, респирометр герметично закрывали, в результате чего у опытных рыб начинала развиваться аутогенная гипоксия. В ходе опыта в респирометре постоянно регистрировали содержание кислорода и обеспечивали перемешивание воды. Специально отмечали пороговую величину содержания кислорода. При приближении концентрации кислорода к пороговому значению (моменту, когда уровень газообмена полностью прекращается (Кляшторин, 1982)), рыбы начинали переворачиваться.

Тестирование при температуре 20°C проведено в двух вариантах в пяти повторностях каждого из них. В первом варианте в респирометр помещали вместе по одной рыбе из каждой группы (совместное тестирование). Во втором варианте рыб каждой группы тестировали отдельно (раздельное тестирование): в респирометр помещали по 2 экз. рыб из каждой группы.

Перед проведением опытов по тестированию к гипоксии при 5°C рыб всех групп содержали совместно в лотке с постоянной проточной водой при естественной зимней температуре (4°C). Рыб не кормили. По три особи из каждой группы по-

мещали в подготовленный респирометр с насыщенной кислородом водой и постоянной температурой 5°C, респирометр замыкали. Тестирование каждой группы проводили в трёх повторностях.

Достоверность различий по продолжительности жизни в условиях гипоксии между разными группами рыб оценивали по критерию Стьюдента при $p > 0.95$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Совместное тестирование при 20°C. После падения содержания кислорода до критической величины, которая для карпа составляет 1.3 мг/л (Кляшторин, 1982), все рыбы начинали метаться и подниматься к поверхности. Пороговое содержание кислорода для карпа составило 0.8, для гибридов F_{БК}, F_{БСК} и G₇ – соответственно 0.6, 0.4 и 0.5 мг/л. При пороговой концентрации кислорода гибриды F_{БК} и G₇ в отличие от карпа погибали не сразу, а восстанавливали равновесие и ещё длительное время сохраняли жизнеспособность. Продолжительность жизни рыб в условиях гипоксии представлена в табл. 1. Различия по продолжительности жизни между всеми группами рыб статистически достоверны.

Раздельное тестирование при 20°C. При раздельном тестировании продолжительность жизни рыб и устойчивость их к гипоксии оказалась несколько выше, чем при совместном тестировании (табл. 1., рис. 1). Пороговое содержание кислорода для карпа составило 0.5, для гибридов F_{БК}, F_{БСК} и G₇ – соответственно 0.3, 0.2 и 0.3 мг/л. После достижения порогового уровня содержания кислорода гибриды также определённое время оставались живы, а карп погибал (рис. 2). Наименьшие различия по продолжительности жизни

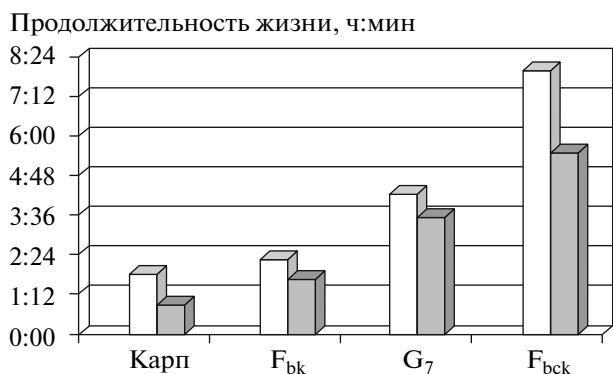


Рис. 1. Продолжительность жизни карпа *Cyprinus carpio* и гибридов между серебряным карасём *Carassius auratus* и карпом – диплоидных гиногенетических (G₇) и триплоидных возвратных гибридов на карпа (F_{bk}) и на серебряного карася (F_{bck}) – после снижения концентрации кислорода до критической величины (1.3 мг/л) при совместном (□) и раздельном (▣) тестировании при 20°C.

отмечены между карпом и F_{bk} ($P < 0.95$), различия между всеми остальными группами статистически достоверны.

Тестирование при 5°C. Менее всего прожили сеголетки карпа, они погибали от асфиксии через 8–11 ч после снижения кислорода до критической величины 1.3 мг/л (табл. 2). Наилучшую выживаемость показали возвратные гибриды на серебряного карася (F_{bck}). После падения содержания кислорода до критической величины они заваливались на бок, но вскоре восстанавливали равновесие и сохраняли жизнеспособность более 5 сут. Гибриды F_{bk} и G₇ занимали промежуточное

положение, причём диплоидные гибриды G₇ жили в среднем на 12 ч дольше, чем F_{bk} (табл. 2, рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

Попадая в условия гипоксии, разные виды животных используют характерные для вида стратегии выживания. Физиологическая адаптация (увеличение частоты и глубины дыхания, высокое сродство гемоглобина к кислороду, видоизменение жаберного аппарата) характерна для большинства животных, попадающих под кратковременное действие гипоксии, или когда снижение содержания кислорода происходит медленно и не опускается ниже критической величины для данного вида. Стратегии выживания при снижении содержания кислорода ниже критической величины у разных видов различны. Для некоторых амфибий и рептилий характерно подавление метаболизма до полной его остановки и впадение животного в анабиоз (Bickler, Buck, 2007). Рыбам рода *Carassius* помимо частичного подавления метаболизма присуще переключение на модифицированный гликолиз с продукцией этанола (Shoubridge, Hochachka, 1980; Van Den Thillart et al., 1983).

Исследования показали, что серебряный и золотой караси под действием гипоксии способны реконструировать свой жаберный аппарат, увеличивая поверхность жаберных лепестков в два–три раза (Sollid et al., 2003). Помимо физиологической адаптации у серебряного карася в условиях длительного периода гипоксии включается целый комплекс приспособительных механизмов, среди которых снижение обмена веществ, умень-

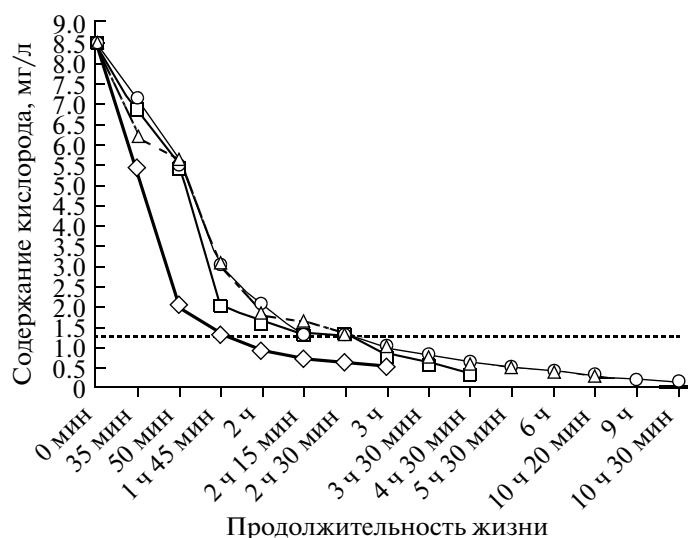


Рис. 2. Продолжительность жизни карпа *Cyprinus carpio* и гибридов между серебряным карасём *Carassius auratus* и карпом, а также изменение концентрации кислорода в респирометре при раздельном тестировании (20°C): (◇) – карп, (□) – F_{bk}, (○) – F_{bck}, (△) – G₇; обозначения гибридов см. на рис. 1.

Таблица 2. Продолжительность жизни (ч) рыб при раздельном тестировании после снижения концентрации кислорода до критического уровня (1.3 мг O₂/л) при 5°C

Группа рыб	Повторности опыта			M ± m
	1	2	3	
Карп	8	8	11	9.0 ± 1.00
G ₇	45	36	35	38.7 ± 3.17
F _{bk}	24	25	23	24.0 ± 0.57
F _{бск}	>96	>120	—	—

шение двигательной активности и активности периферической нервной системы (Nilsson, 2004). При этом фактором, лимитирующим время выживания в анаэробных условиях, является истощение гликогенового запаса. Интересно, что у карася количество гликогена в печени в два раза больше, чем у других рыб. Это позволяет ему дольше использовать запас гликогена во время длительного периода пребывания в анаэробных условиях. В отличие от других позвоночных мозг и сердце карася продолжают функционировать на протяжении всего периода отсутствия кислорода, о чём свидетельствует поступление лактата из мозга в кровь (Nilsson, 1990). Чтобы не произошло отравления организма лактатом, включается этаноловый цикл анаэробного гликолиза, в котором с помощью лактатдегидрогеназы, пируватдегидрогеназы, алкогольдегидрогеназы и ряда промежуточных продуктов лактат в скелетных мышцах конвертируется до этанола (Van Waarde, 1991). Этанол — конечный продукт гликолиза, обладая хорошей растворимостью, он попадает в кровь и может быть удалён из организма посредством диффузии через жабры в воду (Nilsson, Renshaw, 2004; Bickler, Buck, 2007).

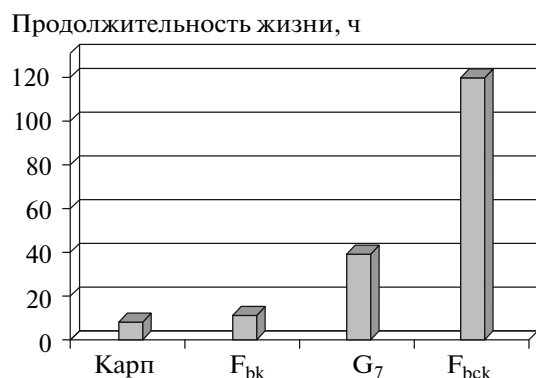


Рис. 3. Продолжительность жизни карпа *Cyprinus carpio* и гибридов между серебряным карасём *Carassius auratus* и карпом после падения концентрации кислорода до 1.3 мг O₂/л при 5°C; обозначения гибридов см. на рис. 1.

Карп в отличие от карася не обладает такой специфической адаптацией. Когда карп попадает в условия гипоксии, включается анаэробный путь гликолиза Эмдена—Мейергофа, ведущий к образованию лактата. Поскольку у карпа нет механизмов утилизации лактата, происходит его чрезмерное накопление и в результате гибель от лактоацидоза (Johnston, Bernard, 1983).

При раздельном тестировании продолжительность жизни рыб всех групп была больше на 0.5–1.0 ч, чем при совместном. Лучшая выживаемость при раздельном тестировании объясняется, по-видимому, следующим. Во-первых, меньшей плотностью рыб в респирометре, в результате снижение содержания кислорода происходило медленнее, и рыбы имели больше времени на адаптацию. Во-вторых, оба экземпляра рыб были из одной группы и погибли от асфиксии примерно в одно и то же время. При совместной посадке карпы погибали намного раньше гибридов, начинали разлагаться и отравляли воду в респирометре с тестируемыми рыбами продуктами распада.

Все три группы гибридов достигали критической точки содержания кислорода на 0.5–1.0 ч позже, чем карп. Эта величина характеризует минимум растворённого кислорода, при котором достигается предел функционирования компенсаторных механизмов дыхательной системы (Кляшторин, 1982). При приближении содержания кислорода к пороговому уровню, когда кислород становится абсолютно недоступен, сеголетки карпа быстро погибают, гибриды же довольно длительное время сохраняют жизнеспособность. Ван Ваарде с соавторами (Van Waarde et al., 1991) указывают, что при акклимации к низкой температуре во время гипоксии отмечается повышенный уровень алкогольдегидрогеназы в мышцах. Вследствие этого, по-видимому, усиливается спиртовый гликолиз, что и позволяет серебряному карасю дольше выживать в условиях гипоксии при низкой температуре, нежели при высокой.

Доля наследственности серебряного карася у разных гибридов различна (G — 1/2, F_{bk} — 1/3, F_{бск} — 2/3). По-видимому, карасекарповые гибриды также обладают способностью переключаться на адаптационные механизмы, свойственные рыбам рода *Carassius* в условиях отсутствия кислорода, и чем выше у них доля наследственности серебряного карася, тем сильнее проявляется работа этих механизмов.

Повышенная устойчивость карасекарпов к дефициту кислорода является ценным рыбохозяйственным свойством этих гибридов, благодаря которому их можно успешно выращивать в водоёмах, где имеют место летние или зимние заморы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Емельянова О.В., Черфас Н.Б.* 1980. Результаты цитологического анализа неоплодотворенной икры самок карасекарпов F1, полученных от скрещивания серебряный карась × карп // Тр. ВНИИПРХ Т. 28. С. 106–115.
- Кляшторин Л.Б.* 1982. Водное дыхание и кислородные потребности рыб. М.: Лег. и пищ. пром-сть, 167 с.
- Черфас Н.Б., Илясова И.А.* 1980. Индуцированный геногенез у гибридов серебряного карася с карпом // Генетика. Т. 16. № 7. С. 1260–1269.
- Черфас Н.Б., Гомельский Б.И., Емельянова О.В., Рекубратский А.В.* 1981. Триплоидия у возвратных гибридов серебряного карася с карпом // Там же. Т. 17. С. 1136–1138.
- Черфас Н.Б., Емельянова О.В., Рекубратский А.В. и др.* 1989. Исследование гибридов серебряного карася с карпом (опыт применения генетических методов в работах с отдаленными гибридами) // Генетика в аквакультуре. Л.: Наука. С. 137–152.
- Bickler P.E., Buck L.T.* 2007. Hypoxia tolerance in reptiles, amphibians, and fishes: life with variable oxygen availability // Ann. Rev. Physiol. V. 69. P. 145–170.
- Cornish I., Moon T.W.* 1985. Glucose and lactate kinetics in American eel, *Anguilla rostrata* // Amer. J. Physiol. V. 249. P. 67–72.
- Gesser H.* 1977. The effects of hypoxia and reoxygenation on force development in myocardia of carp and rainbow trout: protective effects of CO/HCO // J. Exp. Biol. V. 69. P. 199–206.
- Faust H.A., Gamperl A.K., Rodnick K.J.* 2004. All rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) are not created equal: intraspecific variation in cardiac hypoxia tolerance // Ibid. V. 207. P. 1005–1015.
- Johnston I.A., Bernard L.M.* 1983. Utilization of ethanol pathway in carp following exposure to anoxia // Ibid. V. 104. P. 73–78.
- Nilsson G.E.* 1990. Long-term anoxia in crucian carp: changes in the levels of amino acid and monoamine neurotransmitters in the brain, catecholamines in chromaffin tissue, and liver glycogen // Ibid. V. 150. P. 295–320.
- Nilsson G.E.* 2004. Extreme adaptations to hypoxia and anoxia in crucian carp // Proc. Eighth Internat. Symp. "Fish Physiology, Toxicology, and Water Quality". Chongqing, China. P. 53–58.
- Nilsson G.E., Renshaw G.M.C.* 2004. Hypoxic survival strategies in two fishes: extreme anoxia tolerance in the North European crucian carp and natural hypoxic preconditioning in a coral-reef shark // J. Exp. Biol. V. 207. P. 3131–3139.
- Shoubridge E.A., Hochachka P.W.* 1980. Ethanol: novel end product of vertebrate anaerobic metabolism // Science. V. 209. P. 308–309.
- Sollid J., De Angelis P., Gundersen K., Nilsson G.E.* 2003. Hypoxia induces adaptive and reversible gross morphological changes in crucian carp gills // J. Exp. Biol. V. 206. P. 3667–3673.
- Van Den Thillart G., Van Berge Henegouwen M., Kesbeke F.* 1983. Anaerobic metabolism of goldfish, *Carassius auratus* (L.): ethanol and CO₂ excretion rates and anoxia tolerance at 20, 10 and 5°C // Comp. Biochem. Physiol. V. 76A. P. 295–300.
- Van Waarde A.* 1991. Alcoholic fermentation in multicellular organisms // Physiol. Zool. V. 64. P. 895–920.
- Van Waarde A., De Graaff I., Van Den Thillart G., Erkelens C.* 1991. Acidosis (measured by nuclear magnetic resonance) and ethanol production in anoxic goldfish acclimated to 5 and 20°C // J. Exp. Biol. V. 159. P. 387–405.
- Walker R.M., Johansen P.H.* 1977. Anaerobic metabolism of goldfish *Carassius auratus* (L.) // Can. J. Zool. V. 55. P. 304–311.