

УДК 597.442.591.4

ПРИЖИЗНЕННАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОЛА ВЗРОСЛОЙ СТЕРЛЯДИ *ACIPENSER RUTHENUS* (ACIPENSERIDAE) ПО МОРФОЛОГИЧЕСКОМУ СТРОЕНИЮ СПИННЫХ ЖУЧЕК

© 2018 г. Н. В. Барулин

Белорусская государственная сельскохозяйственная академия – БГСХА, Горки, Могилевская область
E-mail: barulin@list.ru

Поступила в редакцию 11.10.2016 г.;
после доработки – 03.05.2017 г.

Представлены результаты изучения морфологического строения жучек у половозрелых особей стерляди *Acipenser ruthenus*. Выявлены морфометрические индексы жучек, значения которых у самок и самцов достоверно отличаются. Разработана система определения пола на основе индексов и критериев, характеризующих форму первых пяти жучек. Полученные результаты перспективны для разработки способа прижизненной идентификации пола у особей осетровых на более ранних этапах развития.

Ключевые слова: стерлядь *Acipenser ruthenus*, определение пола, спинные костные пластинки (жучки), прижизненная идентификация пола.

DOI: 10.7868/S0042875218010034

Икорное направление осетроводства в последнее время наиболее популярно в рыбном хозяйстве (Bronzi, Rosenthal, 2014). В технологии икорной аквакультуры используются только самки, поэтому ранняя идентификация самцов и их выбраковка может существенно снизить финансовые затраты на индустриальное выращивание (Barulin, 2015). У осетровых (Acipenseridae) выраженный половой диморфизм по внешним морфологическим признакам пока не выявлен даже в период полового созревания в отличие, к примеру, от лососёвых рыб (Salmonidae), у которых можно определить пол, в частности, по форме анального плавника (Животовский, Ким, 2015). Опытный рыбовод может определить пол осетровых у особей с гонадами V стадии зрелости по наличию брачного наряда на голове (который в основном проявляется у самцов), а также по размерам и форме тела рыбы. Однако такая визуальная идентификация пола возможна лишь у половозрелых особей в преднерестовый и нерестовые периоды; её точность невысока и зависит от опыта рыбовода.

Применяемые в настоящее время методы ранней идентификации пола осетровых не оптимальны. Биопсия и лапароскопия травмируют рыбу (Matsche et al., 2011; Falahatkar et al., 2013). Ультразвуковой (УЗИ) и эндоскопический методы используются при относительно позднем возрасте (Hurvitz et al., 2007; Chebanov, Galich, 2013; Mun-

hofen et al., 2014). Биохимические (Webb et al., 2002), гормональные (Du et al., 2016; Мосягина, Зеленников, 2016) и генетические методы (Vizziano-Cantonnet et al., 2016), а также метод инфракрасной спектроскопии (Lu et al., 2010) трудны и дороги.

Многие исследователи предпринимали попытки найти внешние морфологические признаки у осетровых, зависящие от пола, и разработать простой способ идентификации пола: по размерно-весовым показателям у белуги *Huso huso* (Falahatkar, Poursaeid, 2014); по отношению длины тела к его обхвату у озёрного осетра *A. fulvescens* (Chiotti et al., 2016); по различию расстояния между урогенитальным и анальным отверстиями у самцов и самок бестера (гибрид *H. huso* × *A. ruthenus*) (Billard, 2002). На возможность определения пола у русского осетра *A. gueldenstaedtii* с использованием биометрических методов указывали Мальцев и Маркулов (2006). Однако эти методы не были разработаны в полной мере и, несмотря на простоту применения, они не могут быть рекомендованы для широкого использования в аквакультуре (Chebanov, Galich, 2013). У одомашненных самок и самцов амурского осетра *A. schrenkii* были отмечены различия в форме грудных плавников (Подушка, 2008), однако они не установлены у диких особей. Выявлены половые различия по форме урогенитального отверстия у белого *A. trans-*

montanus, атлантического *A. oxyrinchus* и короткорылого *A. brevirostrum* осетров (Vecsei et al., 2003). Однако этот метод был подвергнут сомнению в связи с отсутствием достоверных отличий у других видов осетровых (Chebanov, Galich, 2013; Falahatkar, Poursaeid, 2014).

По нашему мнению, несмотря на сложившийся скептицизм к попыткам найти внешние морфологические половые различия у осетровых, такие исследования должны продолжаться. Жучки осетровых рыб изучали ранее для видовой идентификации европейского *A. sturio* и атлантического *A. oxyrinchus* осетров (Desse-Berset, Williot, 2011; Thieren et al., 2015), однако без учёта их половой специфичности. Мы впервые обнаружили, что спинные жучки стерляди *A. ruthenus* имеют особенности строения, связанные с полом, что даёт возможность разработки системы прижизненной идентификации пола стерляди и других осетровых.

Цель работы – провести морфометрическое исследование спинных жучек стерляди, выявить связь их строения с полом и разработать систему прижизненного определения пола стерляди.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследования выполняли в рыбноводном индустриальном комплексе Белорусской государственной сельскохозяйственной академии (г. Горки, Могилевская область, Республика Беларусь) в 2015–2017 гг. Стерлядь выращивали в установках замкнутого водоснабжения при средней температуре воды 16°C (с кратковременными колебаниями $\pm 2^\circ\text{C}$) в течение всего года без создания условий зимовки. Рыб кормили высокобелковым кормом Сорпенс.

В исследованиях использовали стерлядь волжской популяции в возрасте 3 года, массой 1.82 ± 0.12 кг, длиной 61.2 ± 1.3 см; достоверных различий между самцами и самками по размерам не наблюдалось. Для исследований отбирали особей с гонадами II стадии зрелости по шкале Трусова (1964). Пол определяли методом УЗИ-диагностики на портативном сканере MindrayDP-6600 с последующим его уточнением у умерщвлённых особей. В сложных случаях отбирали образцы гонад для гистологического исследования. УЗИ-диагностика проводилась во фронтальной (продольной) и поперечной плоскостях (Chebanov, Galich, 2013).

У умерщвлённых рыб срезали спинные жучки от головы до начала спинного плавника, за исключением первой, плотно прилегающей к костным пластинкам черепа. В исследовании учитывали спинные жучки от второй (начиная от головы, в работе присвоен № 1) до последней крупной жучки перед спинным плавником (№ 10).

Мелкие костные пластинки после последней крупной жучки во внимание не принимались. После срезания спинные жучки варили, чистили, мыли и фотографировали камерой Canon EOS 500D. Все измерения проводили на полученных изображениях в программе ImageJ с использованием инструментов Straight Line, Polygon selections и Elliptical selections при помощи графического планшета Trust Canvas Widescreen Tablet. Выполняли следующие промеры: длина (Д) и ширина (Ш) жучки, длина левой (Дл) и правой лопасти (Дпл) жучки, площадь жучки; площадь условного круга, в который помещалась жучка; длина наибольшего зубца жучки (Дз), ширина его основания (Шз), число зубцов. Схема измерений представлена на рис. 1. По данным измерений рассчитывали морфометрические индексы. При изучении морфологического строения жучек исследовано 350 спинных жучек от 35 экз. стерляди (20 самцов и 15 самок), при визуальной оценке формы жучки – 427 жучек (30 самцов и 13 самок). При апробации исходной и оптимизированной системы определения пола исследовано по 50 самцов и самок, при изучении мужских жучек – 300 особей.

Для статистической обработки результатов использовали программную среду R (R Core Team, 2016), включая пакеты R Commander (Fox, 2005), RCMR (Pohlert, 2014), MASS (Venables, Ripley, 2002), corrplot (Wei, Simko, 2016) и другие. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента при условии соблюдения нормальности распределения данных (тест Шапиро–Уилка) и однородности групповых дисперсий (тест Ливина). При несоблюдении указанных условий использовали непараметрический *U*-критерий Манна–Уитни (для двух исследуемых групп). Для оценки качественных признаков использовали критерий хи-квадрат (χ^2).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическая характеристика жучек. Для выявления параметров спинных жучек, пригодных для идентификации пола, анализировали их относительные значения (индексы): отношение ширины жучки к её длине (Ш/Д), отношение средней длины левой и правой лопасти жучки к её общей длине (Дл/Д), индекс заполнения – отношение площади жучки к площади условного круга, в который она помещается (ИЗ), отношение длины наибольшего зубца к ширине жучки (Дз/Ш) и к ширине его основания (Дз/Шз). Влияние размеров рыб на эти индексы незначительно. Значения индексов, а также число зубцов по краям первых 10 жучек у самок и самцов представлены на рис. 2.

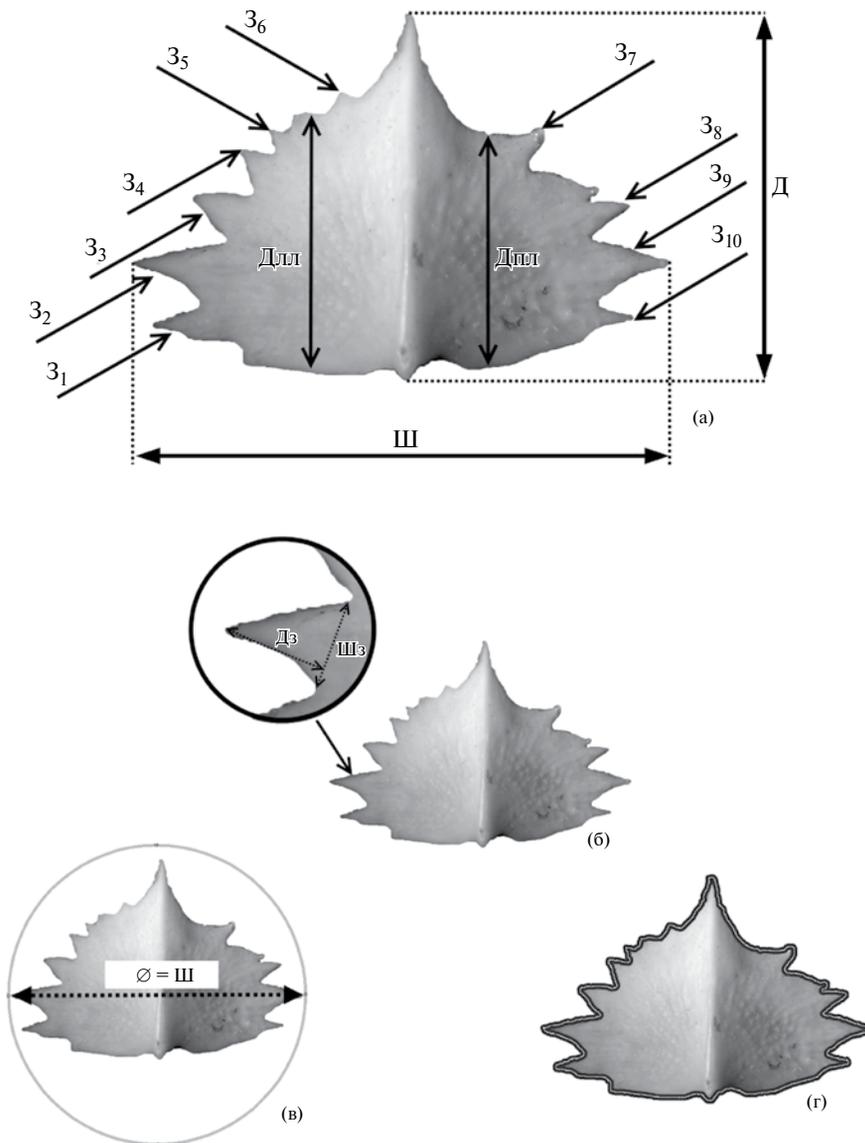


Рис. 1. Схема измерения спинных жучек стерляди *Acipenser ruthenus*: а – измерения жучки инструментом Straight Line; б – измерение длины и ширины наибольшего зубца жучки инструментом Straight Line; в – построение условного круга, в который помещается жучка, инструментом Elliptical selections; г – измерение площади жучки инструментом Polygon selections. Обозначения: Д – длина жучки, Ш – ширина жучки; Дз, Шз – длина и ширина зубца; Длл – длина левой лопасти, Дпл – длина правой лопасти, З₁–З₁₀ – зубцы.

Индекс Ш/Д у самцов снижается от 1.55 ± 0.08 до 1.17 ± 0.05 , у самок – от 1.41 ± 0.04 до 1.16 ± 0.05 (рис. 2а). Различия между 1–5-й жучками самцов и самок по этому индексу варьируют в пределах 13–15% ($p < 0.05$). Индекс Дл/Д у самцов снижается от 0.70 ± 0.02 до 0.61 ± 0.02 , у самок – от 0.76 ± 0.02 до 0.67 ± 0.01 (рис. 2б); различия между жучками самцов и самок составляют 4.5–10.0%. Индекс заполнения у самцов варьирует от 0.49 ± 0.06 до 0.57 ± 0.07 , у самок – от 0.57 ± 0.02 до 0.61 ± 0.02 (рис. 2в); различия между 1–6-й жучками самцов и самок составляют 8–10%. Индекс Дз/Ш у самцов

повышается от 0.08 ± 0.01 до 0.14 ± 0.01 , у самок – от 0.05 ± 0.01 до 0.11 ± 0.01 (рис. 2г); различия между жучками самцов и самок – 2–5%. Индекс Дз/Шз у самцов варьирует от 0.89 ± 0.06 до 1.06 ± 0.09 , у самок – от 0.46 ± 0.05 до 0.65 ± 0.08 (рис. 2д). Различия между жучками самцов и самок по этому индексу достигают 28–51%, в наибольшей степени различаются первые восемь жучек. Следует отметить, что у восьми из десяти костных пластинок самцов Дз/Шз > 0.95 . Среднее число зубцов жучек у самцов сокращается от 11.55 ± 0.87 до 7.55 ± 0.5 , у самок – от 7.64 ± 0.96 до 5.00 ± 0.54 (рис. 2е); различия

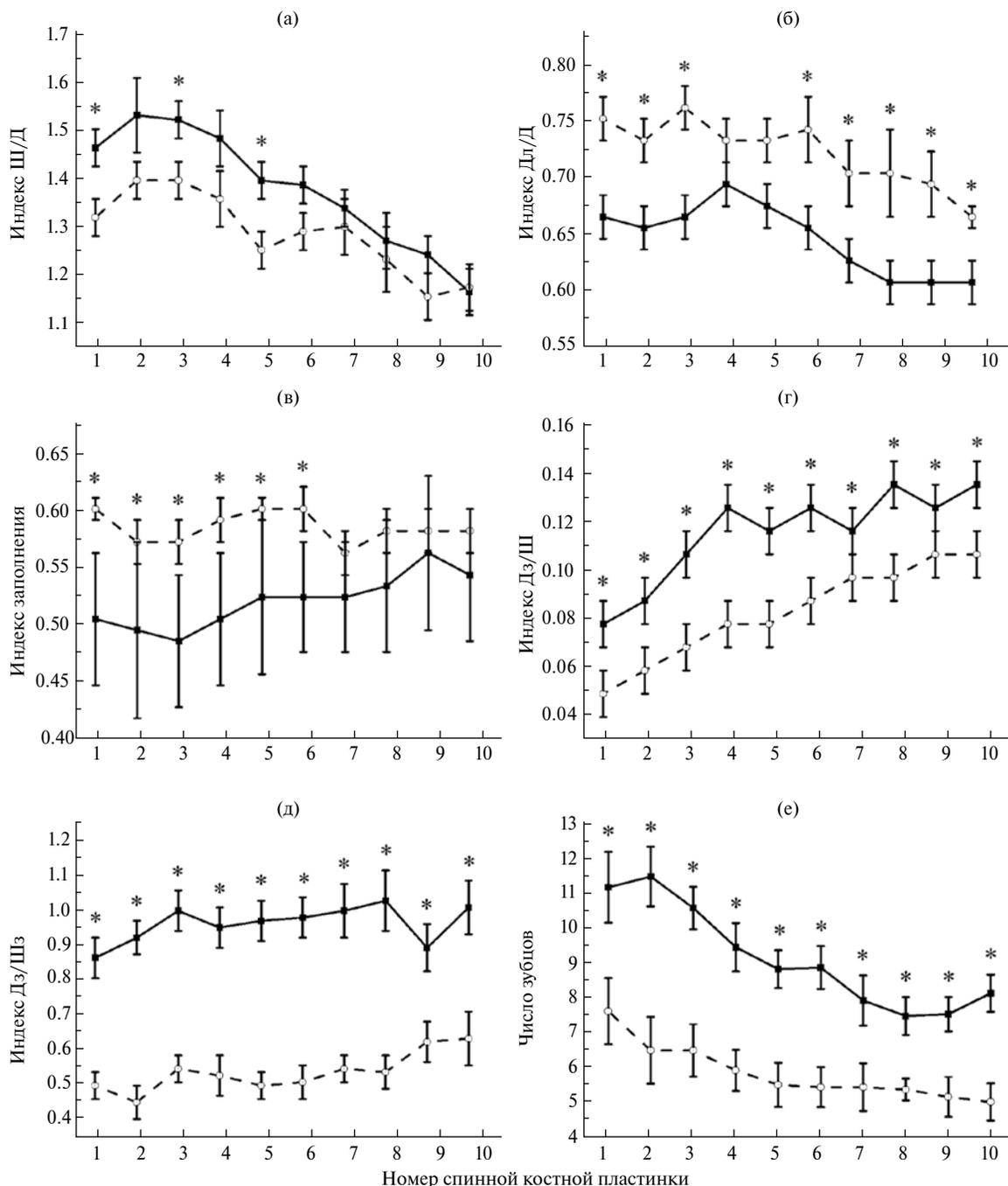


Рис. 2. Морфологические признаки первых 10 спинных жучек самцов (—■—) и самок (—○—) стерляди *Acipenser ruthenus*: а – отношение ширины жучки к её длине (индекс Ш/Д), б – отношение средней длины левой и правой лопасти жучки к её общей длине (индекс Дл/Д), в – индекс заполнения, г – отношение длины наибольшего зубца к ширине жучки (индекс Дз/Ш), д – отношение длины наибольшего зубца к ширине его основания (индекс Дз/Шз), е – число зубцов; (I) – стандартная ошибка, * различия между самцами и самками достоверны при $p < 0.05$.

между жучками самцов и самок достигают 31.3–77.7%, максимально различаются первые шесть жучек.

Анализируемые признаки характеризуют форму спинных жучек (Ш/Д, Дл/Д, Из) и их зубцы (Дз/Ш, Дз/Шз и число зубцов).

Форма спинных жучек. Значения индекса Ш/Д всех жучек самцов больше, чем у самок. При построении условного треугольника через вершину жучки и точки пересечения перпендикуляров, проходящих от вершин наибольших зубцов, с горизонтальной линией, проходящей вдоль затылочной

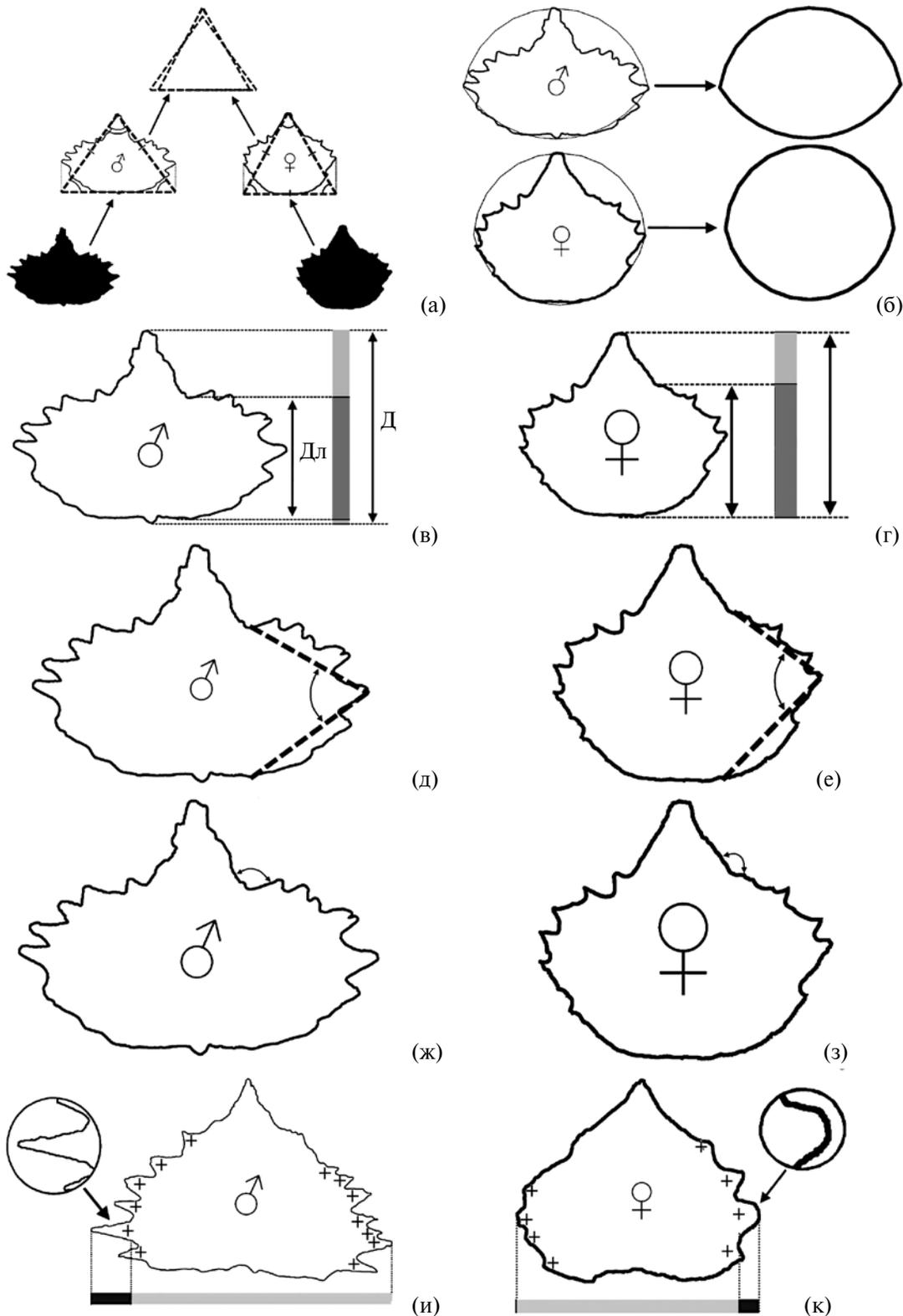


Рис. 3. Визуальное восприятие различий между величинами морфометрических индексов спинных жучек самцов и самок стерляди *Acipenser ruthenus* (пояснения см. в тексте): а – построение и совмещение условных треугольников на жучках самца (равнобедренный) и самки (равносторонний) стерляди; б – значение индекса заполнения жучки самца (49.5) характеризует овальную форму, самки (69.5) – округлую; в–г – отношение длины лопасти к длине жучки (Дл/Д) у самца меньше, чем у самки (0.63 против 0.72), вследствие этого жучка самца выглядит более продолговатой; д, е – угол лопасти жучки самца (64°) и самки (82°); ж, з – угол в месте отделения лопасти от жучки самца (106°) и самки (131°); и, к – тонкую и заострённую форму наибольшего зубца жучки самца характеризуют более высокие, чем у самок, значения индексов Дз/Ш и Дз/Шз.

части жучки, можно видеть (рис. 3), что у самцов это равнобедренный треугольник, а у самок – равнобедренный (рис. 3а).

По индексу Дл/Д можно судить, округлую или овальную форму имеет рассматриваемая жучка: у округлой жучки значение приближается к единице (рис. 3г); чем более продолговатая форма жучки, тем значение индекса меньше (рис. 3в). Визуально изменение индекса Дл/Д проявляется также в изменении угла между крайней точкой лопасти и точками начала и завершения образования лопасти (рис. 3д, 3е). Само отделение лопасти от середины жучки у самок происходит при более тупом угле, чем у самцов (рис. 3ж, 3з).

Индекс заполнения также указывает на степень округлости жучки. При соединении крайних точек жучек (инструмент Arc Программы SketchUp) мы получили для жучки самца (ИЗ = 49.5) овал, для жучки самки (ИЗ = 65.9) – круг (рис. 3б).

Зубцы спинной жучки. Значения индексов Дз/Ш и Дз/Шз жучек самцов выше, чем у самок, т.е. их наибольший зубец значительно выделяется относительно пластинки (рис. 3и, 3к). При Дз/Шз > 1 этот зубец имеет тонкую и заострённую форму, при значении < 1 визуальная заострённость и утончённость зубца снижается по мере уменьшения индекса.

У самцов по сравнению с самками число зубцов жучек, как правило, больше.

Анализ спинных жучек по группирующим (качественным) критериям. На основании выявленных различий между самцами и самками по величинам морфометрических признаков определены следующие критерии для визуальной прижизненной диагностики пола стерляди: 1) соотношение ширины и длины спинной жучки (критерий составлен на основании различий по индексу Ш/Д): а – ширина выглядит значительно больше длины, б – ширина и длина выглядят одинаковыми или ширина меньше длины; 2) форма жучки (Дл/Д и ИЗ): а – овальная, б – округлая; 3) заострённость зубцов (Дз/Шз): а – заострённые, б – закруглённые; 4) удлинённость зубцов относительно ширины жучки (Дз/Ш): а – удлинены значительно, б – визуально не удлинены.

Отметим, что такой значимый для диагностики пола признак жучек, как число зубцов, трудно применим при визуальной оценке, так как подсчёт зубцов занимает большое время. Поэтому данный признак можно условно отнести к критериям 3 и 4: если зубцов много, то они значительно заметнее.

Для статистического анализа использования данных критериев применили таблицы сопряжён-

Таблица 1. Результаты визуальной диагностики пола стерляди *Acipenser ruthenus* по соотношению ширины и длины и по форме первых десяти спинных жучек

Спинная жучка	Визуальное соотношение ширины (Ш) и длины (Д) спинной жучки			Визуальная форма спинной жучки		
	Ш > Д	Ш ≤ Д	χ^2	овальная	округлая	χ^2
1	$\frac{22}{5}$	$\frac{8}{8}$	4.72*	$\frac{21}{2}$	$\frac{9}{11}$	10.87***
2	$\frac{22}{5}$	$\frac{8}{8}$	4.72*	$\frac{16}{2}$	$\frac{14}{11}$	5.37*
3	$\frac{24}{7}$	$\frac{6}{6}$	3.08	$\frac{22}{2}$	$\frac{8}{11}$	12.35***
4	$\frac{20}{5}$	$\frac{10}{8}$	2.96	$\frac{12}{2}$	$\frac{18}{11}$	2.5
5	$\frac{20}{5}$	$\frac{10}{8}$	2.96	$\frac{6}{0}$	$\frac{24}{13}$	3.02
6	$\frac{10}{2}$	$\frac{20}{11}$	1.45	$\frac{4}{0}$	$\frac{26}{13}$	1.91
7	$\frac{11}{3}$	$\frac{19}{10}$	0.76	$\frac{8}{1}$	$\frac{22}{12}$	1.97
8	$\frac{9}{3}$	$\frac{21}{10}$	0.22	$\frac{6}{2}$	$\frac{24}{11}$	0.13
9	$\frac{7}{1}$	$\frac{23}{12}$	1.47	$\frac{4}{0}$	$\frac{26}{13}$	1.91
10	$\frac{7}{2}$	$\frac{22}{9}$	0.16	$\frac{4}{0}$	$\frac{25}{11}$	1.69

Примечание. Здесь и в табл. 2: над чертой – самцы, под чертой – самки; различия между самцами и самками достоверны при p : * < 0.05, ** < 0.01, *** < 0.001.

Таблица 2. Результаты визуальной диагностики пола стерляди *Acipenser ruthenus* по форме зубцов и степени их удлинённости относительно ширины спинной костной пластинки первых десяти спинных жучек

Спинная жучка	Визуальная форма зубцов			Визуальная удлинённость зубцов относительно ширины спинной жучки		
	заострённые	закруглённые	χ^2	значительная	незначительная	χ^2
1	$\frac{26}{2}$	$\frac{4}{11}$	20.29***	$\frac{22}{2}$	$\frac{8}{11}$	12.35**
2	$\frac{28}{2}$	$\frac{2}{11}$	26.13***	$\frac{28}{2}$	$\frac{2}{11}$	26.13***
3	$\frac{30}{3}$	$\frac{0}{10}$	30.07***	$\frac{27}{1}$	$\frac{3}{12}$	23.0***
4	$\frac{30}{4}$	$\frac{0}{9}$	26.27***	$\frac{28}{1}$	$\frac{2}{12}$	30.29***
5	$\frac{30}{4}$	$\frac{0}{9}$	26.27***	$\frac{29}{3}$	$\frac{1}{10}$	25.80***
6	$\frac{29}{3}$	$\frac{1}{10}$	25.80***	$\frac{28}{2}$	$\frac{2}{11}$	26.13***
7	$\frac{30}{7}$	$\frac{0}{6}$	16.09***	$\frac{23}{6}$	$\frac{7}{7}$	2.58
8	$\frac{27}{6}$	$\frac{3}{7}$	9.77***	$\frac{28}{6}$	$\frac{2}{7}$	12.20***
9	$\frac{27}{7}$	$\frac{3}{6}$	7.16**	$\frac{26}{7}$	$\frac{4}{6}$	3.79
10	$\frac{26}{7}$	$\frac{3}{4}$	3.74	$\frac{23}{4}$	$\frac{6}{7}$	6.71**

ности (2×2) критерия χ^2 , в которые внесли данные визуальной оценки жучек самцов и самок стерляди (табл. 1, 2).

К р и т е р и й 1 – соотношение ширины и длины спинной жучки (табл. 1). Первый вариант признака ($Ш > Д$) отмечен у 152 пластинок самцов (50.8% всех спинных жучек самцов) и у 38 пластинок самок (29.7% всех спинных жучек самок); второй вариант ($Ш \leq Д$) – у 147 жучек самцов (49.2%) и 90 пластинок самок (70.3%); $\chi^2 = 16.23$ ($p = 0.0001$). Вариант $Ш > Д$ достоверно характерен для первых двух жучек самцов ($p < 0.05$).

К р и т е р и й 2 – форма жучки (табл. 1). Первый вариант признака (овальная форма) встречался у 103 жучек самцов (34.4% всех жучек самцов) и у 11 жучек самок (8,6% всех жучек самок); второй вариант (округлая форма) – у 196 жучек самцов (65.6%) и у 117 жучек самок (91.4%); $\chi^2 = 30.61$ ($p = 0.00001$). Первый вариант (овальная форма) статистически достоверно характерен для первых трёх жучек самцов.

К р и т е р и й 3 – заострённость зубцов (табл. 2). Заострённые зубцы отмечены у 283 жучек самцов (94.6%) и у 45 жучек самок (35.2%); округлённые – у 16 жучек самцов (5.4%) и 83 жучек самок (64.8%); $\chi^2 = 178.1$ ($p = 0.00001$). Заострённые зубцы статистически достоверно встречаются у первых девяти жучек самцов.

К р и т е р и й 4 – удлинённость зубцов относительно ширины жучки (табл. 2). Значительно удлинённые зубцы встречались у 262 жучек самцов (87.6%) и у 34 жучек самок (26.6%); незначительно удлинённые – у 37 жучек самцов (12.4%) и 94 жучек самок (73.4%); $\chi^2 = 157.15$ ($p = 0.00001$). Первый вариант признака достоверно наиболее ярко выражен у первых шести жучек самцов.

Разработка системы определения пола. Исходя из того что наиболее вероятные статистические различия между самцами и самками стерляди по рассматриваемым критериям приходится в среднем на первые пять–шесть спинных жучек, была разработана балльная система определения пола по первым пяти спинным жучкам. Данная система включала в себя все четыре критерия; за соответствие первым вариантам каждого критерия (самцы) предлагалось начислять 1 балл (1-й критерий – $Ш > Д$, 2-й – жучка овальной формы, 3-й – зубцы заострённые, 4-й – зубцы значительно удлинённые). При апробации этой системы самцы ($n = 50$) набрали значительно больше баллов ($p < 0.05$), чем самки ($n = 50$), – 13.6 ± 1.2 (10–20) против 3.6 ± 0.7 (0–7). На рис. 4 представлен пример использования данной системы для идентификации самца (рис. 4а) и самки (рис. 4б).

В ходе апробации системы определения пола были выявлены различия между самцами и самками

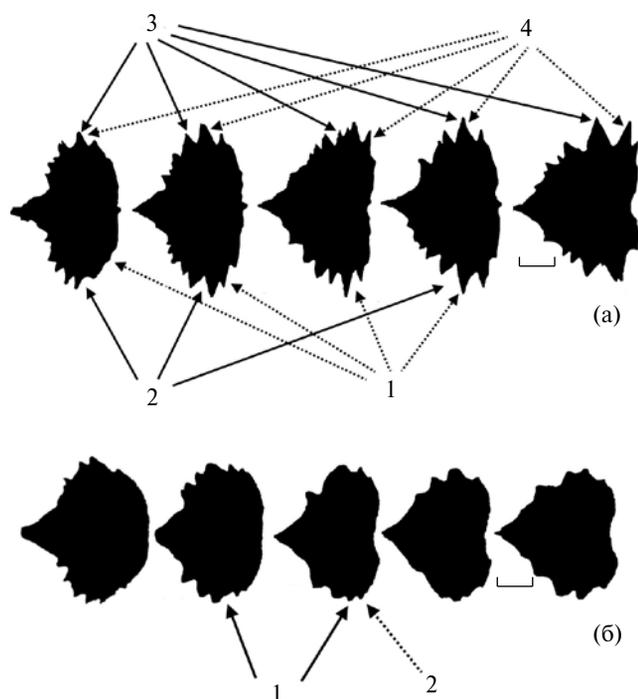


Рис. 4. Пример начисления баллов при использовании расширенной системы определения пола на первых пяти жучках стерляди *Acipenser ruthenus*: а – самец, 17 баллов (критерии 1–4 – соответственно 4+3+5+5 баллов); б – самка, 3 балла (критерий 1–2 балла, критерий 2–1 балл). Критерии (вариант признака, при котором начисляется 1 балл): 1 – соотношение ширины и длины спинной жучки (ширина больше длины), 2 – форма жучки (овальная), 3 – заострённость зубцов (заострённые), 4 – удлиённость зубцов относительно ширины жучки (удлинены значительно). Масштаб: 5 мм.

Таблица 3. Оптимизированная система определения пола стерляди *Acipenser ruthenus*

Критерий	Вариант признака	Число баллов
1. Визуальная форма спинной жучки	Овальная	1
	Округлая	0
2. Визуальная форма зубцов	Острые и удлинённые	1
	Короткие, закруглённые или не идентифицируются	0
3. Расстояние между спинными жучками	< ½ средней ширины лопасти жучки	1
	> ½ средней ширины лопасти жучки	0

по плотности расположения спинных жучек (рис. 5). Как правило, у самок расстояния между первыми пятью жучками > ½ средней ширины лопасти жучек (рис. 5б), а у самцов < ½, т.е. первые пять спинных жучек самцов визуально выглядят более узко посаженными (рис. 5а). Более плотное расположение жучек отмечено у 31 из 50 самцов и у 9 из 50 самок; $\chi^2 = 20.17$ ($p = 0.00001$). Таким образом, данный критерий можно признать пригодным для идентификации пола стерляди.

С целью повышения надёжности определения пола и упрощения практического применения исходную систему откорректировали: исключили наименее значимый критерий 1 (соотношение ширины и длины жучки), объединили критерии 3 и 4, характеризующие зубцы жучки, и дополнили критерием плотности расположения жучек (табл. 3). На рис. 6 приведены контуры спинных жучек, соответствующие вариантам признаков, за которые начисляются (рис. 6а, 6в) и не начисляются (рис. 6б, 6г) баллы. Примеры использования оптимизированной системы идентификации пола стерляди представлены на рис. 7.

При апробации оптимизированной системы определения пола, проведённой на живых особях стерляди, пол которых был заранее известен, самцы ($n = 50$) по трём критериям набрали значительно больше баллов ($p < 0.05$), чем самки ($n = 50$), – 5.6 ± 0.1 (5–10) против 1.3 ± 0.2 (0–4). Большинство самцов набрали 5 (56%) и 6 (36%) баллов, 7, 8, 9 и 10 баллов – по 2%; среди самок 46% набрали 0 баллов, 18% – 1, 10% – 2, 14% – 3, 12% – 4 балла (рис. 8).

Типичные мужские жучки. У некоторых самцов стерляди обнаружены нестандартные спинные жучки, существенно отличающиеся от обычных у большинства самцов и у всех самок. Данные нестандартные жучки, как правило, занимают 1–3-ю позицию от головы и встречаются только у самцов. Им присвоено рабочее название “мужские” жучки. Среди мужских жучек можно выделить два типа – А и Б (рис. 9).

Мужские жучки типа А (рис. 9а, 9б) характеризуются значительным превышением ширины над длиной и сплюсненной формой. Они имеют много заострённых и ярко выраженных зубцов. По морфологическому строению мужские жучки типа А существенно ($p < 0.05$) отличаются от спинных жучек № 1–3 самок: Д – 13.70 ± 0.34 против 17.15 ± 0.69 мм; Ш – 22.18 ± 0.58 против 22.47 ± 0.65 мм; Ш/Д – 1.62 ± 0.06 против 1.32 ± 0.04 ; Дл – 8.90 ± 0.59 против 13.00 ± 0.59 мм; Дл/Д – 0.65 ± 0.04 против 0.76 ± 0.02 ; площадь жучек – 184.52 ± 12.73 против 256.82 ± 16.15 мм²; ИЗ – 0.46 ± 0.01 против 0.61 ± 0.01 ; Дз/Ш – 0.08 ± 0.01 против 0.05 ± 0.01 ; Дз/Шз – 0.88 ± 0.06 против 0.51 ± 0.04 ; число

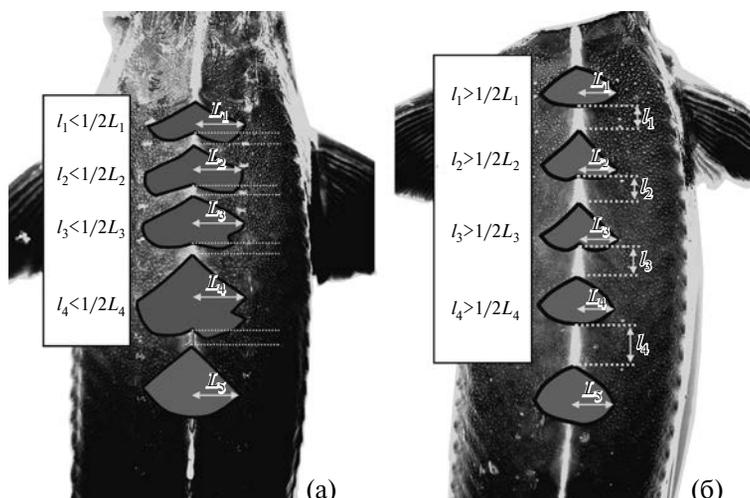


Рис. 5. Плотность расположения первых пяти спинных жучек у самцов (а) и самок (б) стерляди *Acipenser ruthenus*: а – среднее расстояние между жучками (l) меньше $\frac{1}{2}$ средней ширины их лопасти (L); б – $l > \frac{1}{2} L$.

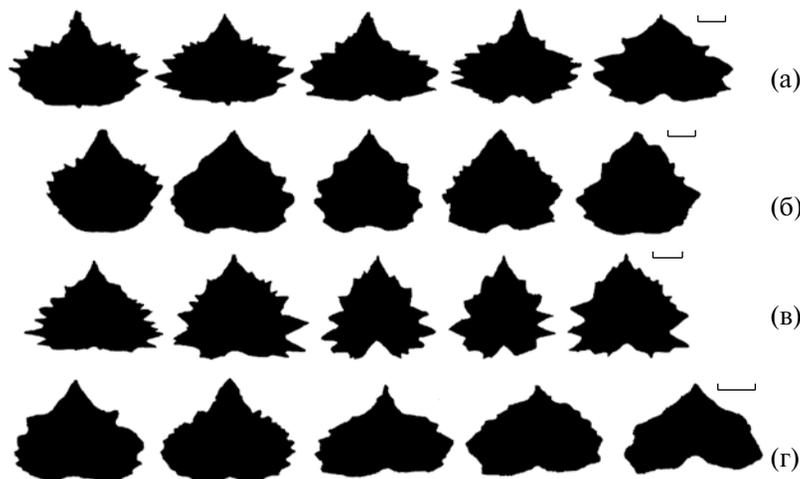


Рис. 6. Контуры спинных жучек стерляди *Acipenser ruthenus*, соответствующие вариантам признаков, за которые начисляются (а, в) и не начисляются (б, г) баллы: а – овальная форма жучки, 1 балл за каждую жучку; б – округлая форма, 0 баллов; в – острые и удлинённые зубцы, 1 балл за каждую жучку; г – короткие и закруглённые зубцы или они не идентифицируются, 0 баллов. Масштаб: 5 мм.

зубцов – 12.42 ± 1.13 против 7.64 ± 0.96 . Визуально мужские жучки типа А по сравнению с жучками самок более вытянуты в ширину и вследствие значительно меньшей длины лопастей выглядят более узкими; их зубцы более длинные, тонкие и заострённые и заметно выделяются относительно ширины пластинки.

Мужские жучки типа Б (рис. 9в, 9г) по внешнему строению похожи на жучки самок и по ряду показателей (Д, Ш, Дл, Ш/Д ИЗ) достоверно от них не отличаются. Отличительной особенностью мужских жучек типа Б является наличие ярко выраженного выступа на затылочной части жучки:

его длина может достигать 12–16% Д, а ширина – 53–69% Д. Кроме того, такие жучки так же, как и жучки типа А, характеризуются бóльшим числом длинных и заострённых зубцов по краям: Дз/Ш – 0.11 ± 0.01 ($p < 0.05$), Дз/Шз – 1.71 ± 0.08 ($p < 0.05$), число зубцов – 12.3 ± 1.27 ($p < 0.05$).

В результате визуального изучения спинных костных пластинок у 150 самцов и 150 самок стерляди мужские жучки типа А обнаружены у 20 самцов (13.3%), типа Б – у 42 самцов (28.0%). Среди всех просмотренных самок лишь у 5 экз. (3.3%) отмечены жучки типа Б.

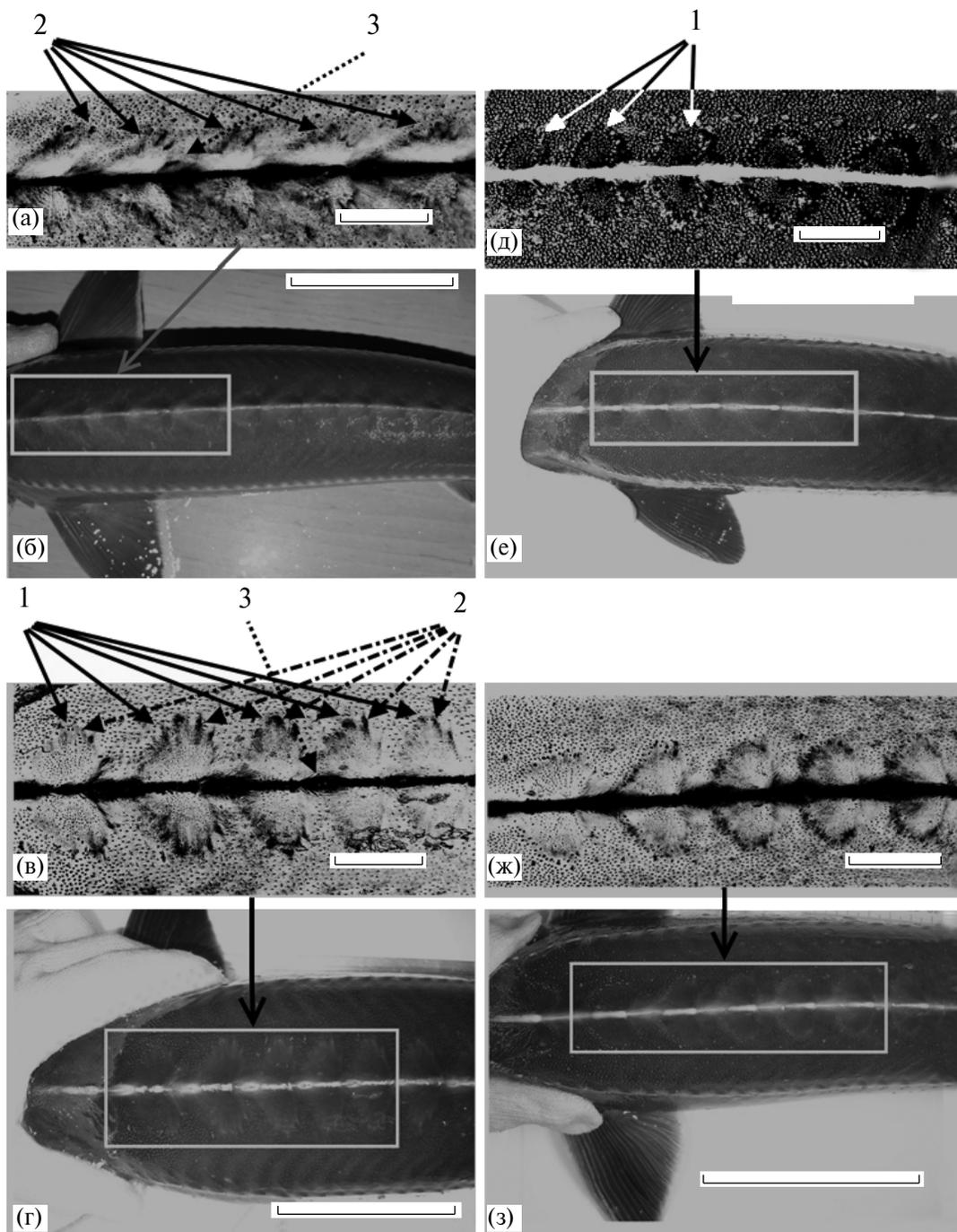


Рис. 7. Пример начисления баллов при использовании оптимизированной системы определения пола на первых пяти жучках стерляди *Acipenser ruthenus* в процессе бонитировки: а, б – самец № 1, 6 баллов (критерий 1 – 0 баллов, критерий 2 – 5 баллов, критерий 3 – 1 балл); в–г – самец № 2, 11 баллов (соответственно 5 + 5 + 1); д, е – самка № 1, 3 балла (критерий 1 – 3 балла, критерии 2 и 3 – 0 баллов); ж, з – самка № 2, 0 баллов. Критерии (вариант признака, при котором начисляется 1 балл): 1 – визуальная форма спинной жучки (овальная), 2 – визуальная форма зубцов (острые и удлинённые), 3 – расстояние между спинными жучками ($< \frac{1}{2}$ средней ширины лопасти жучки). Для улучшения визуализации использовали инвертирование цветов в программе ImageJ (а, в, д, ж). Масштаб: а, в, д, ж – 3 см; б, г, е, з – 10 см.

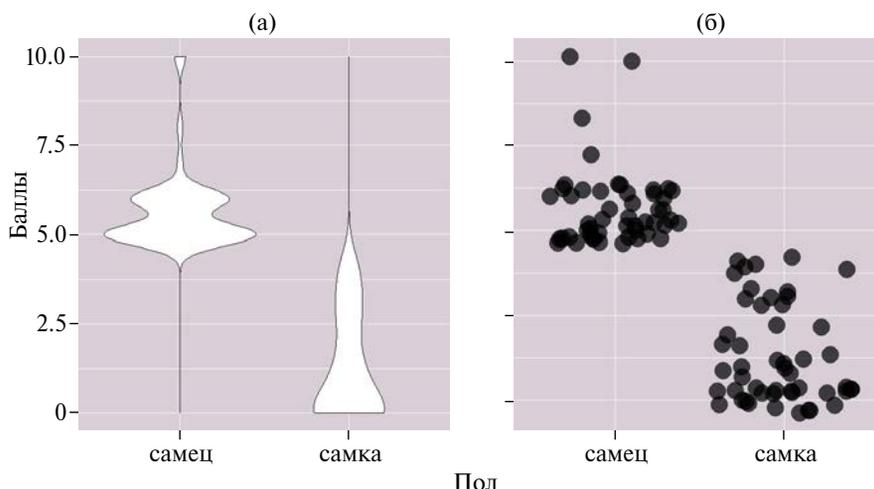


Рис. 8. Скрипичная диаграмма (а) и диаграмма рассеяния (б) распределения баллов в результате апробации оптимизированной системы определения пола у живых особей стерляди *Acipenser ruthenus*.

Рекомендации по практическому использованию системы определения пола стерляди. На основании вышеизложенного мы предлагаем к практическому применению систему определения пола стерляди, которое возможно осуществлять у стерляди при достижении длины 40 см. Проведение определения пола требует организации специального рабочего места. Рабочее место оператора должно включать: стол для просмотра рыбы, за которым оператору было бы удобно проводить просмотр спинных жучек и вести записи; специальный (металлический или деревянный) стол с бортиками для размещения на нём рыбы (оператор, работающий с рыбой, должен иметь беспрепятственный подход к столу); бассейны-накопители для рыбы, которые необходимо расположить в непосредственной близости от оператора. Рыбу располагают на животе (голова слева или справа относительно оператора). При этом необходимо удерживать рыбу в относительной неподвижности в течение всего процесса определения пола, который может продолжаться от нескольких секунд до нескольких минут. Перед определением пола рыбу рекомендуется не кормить в течение 2–3 сут. Для снижения стресса рыбы рекомендуется использовать анестезию.

Для просмотра спинных жучек нужно использовать хорошо освещённое рабочее место и дополнительно ручную или настольную лупу с кросс-поляризованной подсветкой, 5-кратным увеличением и диаметром линзы от 70 мм. В сложных случаях может понадобиться светодиодный фонарик белого света со световым потоком от 2000 лм и налобная бинокулярная лупа с подсветкой. Для определения пола по спинным жучкам также может подойти зеркальная фотокамера типа Canon EOS 600D в режиме макросъёмки с усиленной вспышкой с последую-

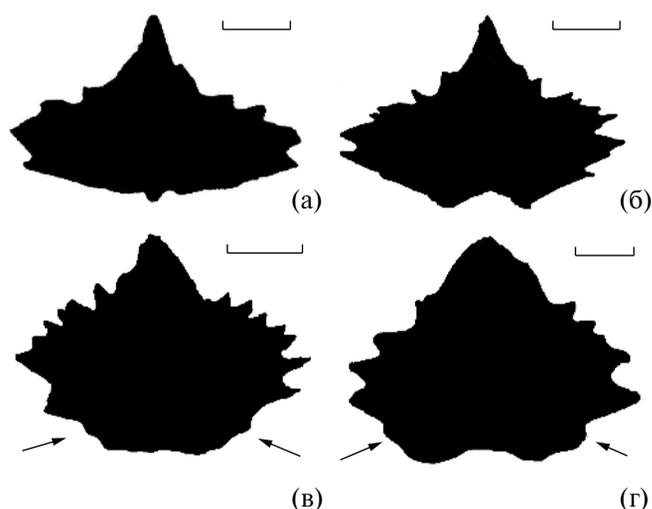


Рис. 9. Варианты контуров мужских жучек стерляди *Acipenser ruthenus* типов А (а, б) и Б (в, г); (→) – выступы. Масштаб: 5 мм.

щим мечением рыбы и отдельным анализом снимков в программе ImageJ или в любом другом графическом редакторе с возможностью регулирования яркости и контрастности, а также инвертирования цветов. Для предотвращения глаз рыбы от возможного пагубного воздействия яркого света рекомендуется накрывать их головы тканью.

Для определения пола необходимо подвергать обследованию первые пять спинных жучек (отсчёт ведётся от головы, при этом первая жучка, плотно прилегающая к костным пластинкам черепа, во внимание не принимается) и обращать внимание на три основных параметра.

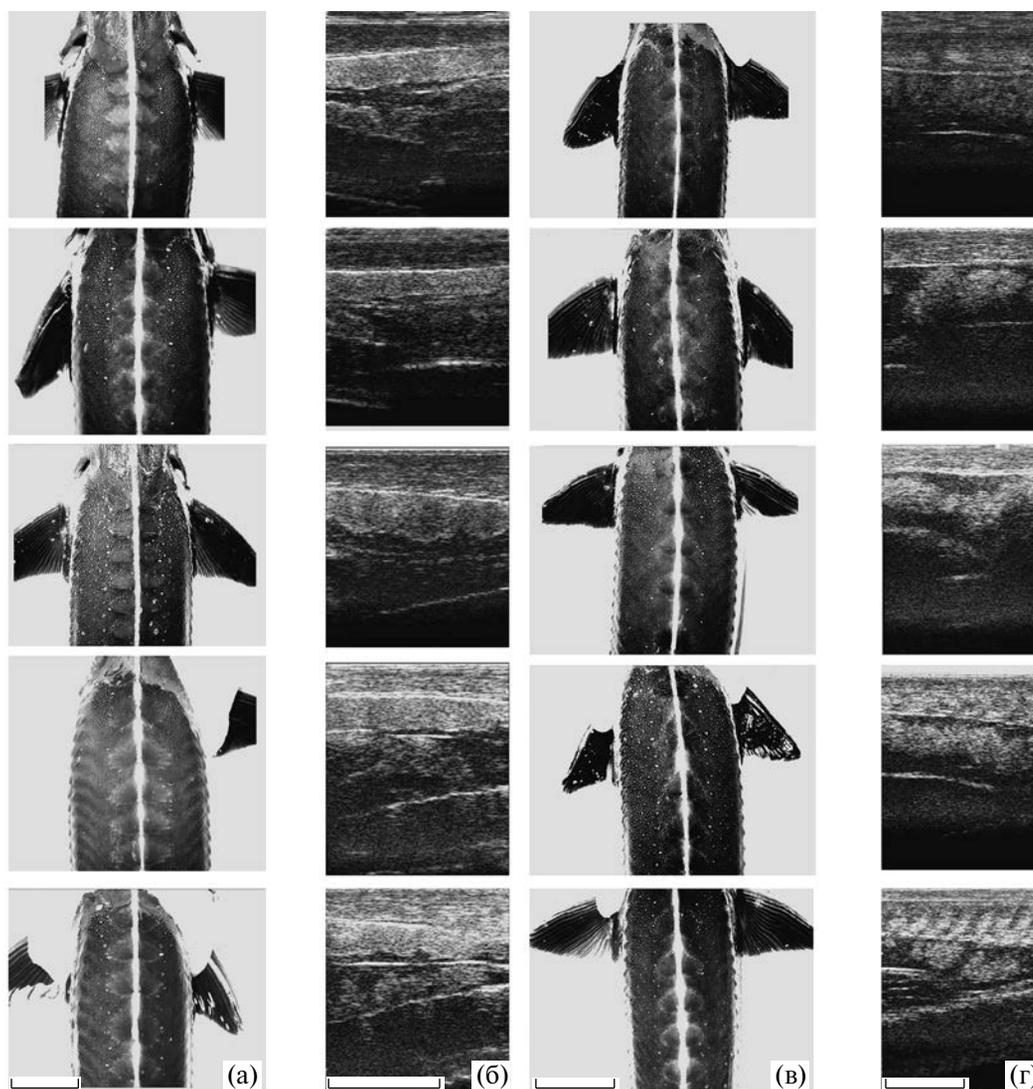


Рис. 10. Определение пола стерляди *Acipenser ruthenus* по первым пяти спинным жучкам (а, в) и проверка результатов по УЗИ-снимкам гонад (б, в): а, б – самцы, в, г – самки. Масштаб: а, в – 4 см; б, г – 3 см.

1. Визуальная форма спинной жучки. При овальной форме жучки (рис. 6а) каждой начисляется 1 балл. При округлой форме баллы не начисляются (рис. 6б). Жучки с овальной формой должны характеризоваться: превышением ширины над длиной; при построении условного треугольника между верхней точкой жучки и точками в местах пересечения линии, перпендикулярной крайним точкам наибольших зубцов, и линии, проходящей вдоль затылочной части жучки, он имеет вид равнобедренного (рис. 3а); угол между крайней точкой лопасти и точками начала и завершения образования лопасти, как правило, заострён (рис. 3д).

2. Визуальная заострённость зубцов. При многочисленных острых и удлинённых зубцах жучки каждой начисляется 1 балл (рис. 6в). При коротких округлённых зубцах или при их отсутствии баллы не начисляются (рис. 6г).

3. Плотность расположения жучек. Критерием плотной посадки жучек является среднее расстояние между первыми пятью спинными жучками, которое должно быть меньше $\frac{1}{2}$ средней длины лопасти соответствующих жучек (рис. 5). В этом случае начисляется общий 1 балл.

При суммарном числе баллов 5 и более обследуемый экземпляр стерляди с большой долей вероятности относится к самцу, при суммарном числе баллов 4 и менее – к самке. При наличии у экземпляра стерляди мужских жучек типа А и Б его относят к самцам без подсчёта баллов.

Практическая апробация рекомендуемой системы определения пола стерляди проведена на рыбноводном индустриальном комплексе Белорусской государственной сельскохозяйственной академии с участием трёх рыбоводов, которые предварительно были проинструктированы. В общий

бассейн поместили 50 самцов и 50 самок стерляди. Каждую рыбу последовательно исследовали рыбоводы. Затем пол рыб определили методом УЗИ-диагностики и результаты сравнили (рис. 10). В результате такой “слепой” проверки системы определения пола стерляди рыбовод № 1 правильно определил пол у 97%, рыбовод № 2 – у 94%, рыбовод № 3 – у 91% просмотренных экземпляров.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Впервые выявлены достоверные морфологические различия между спинными жучками половозрелых самцов и самок стерляди. Для идентификации пола по строению спинных жучек предлагается оценивать форму пластинки и её зубцов. У самцов стерляди спинные жучки более вытянуты в ширину, т.е. имеют овальную форму (у самок они округлые); зубцы жучек у самцов более длинные и заострённые, их число больше, чем у самок. На основании анализа спинных жучек по группирующим (качественным) критериям разработана оптимизированная балльная система визуального определения пола по форме первых пяти жучек, плотности их расположения и степени заострённости зубцов. Особи, набравшие 5 баллов и более, с большой долей вероятности являются самцами, 4 балла и менее – самками. Обнаруженные закономерности в строении спинных жучек стерляди являются предпосылкой для разработки схожих систем прижизненного определения пола у других видов семейства *Acipenseridae* без использования дорогостоящего оборудования (УЗИ-сканера, эндоскопа). Это имеет практическое значение для аквакультуры.

Вместе с тем методика определения пола по внешним морфологическим признакам нуждается в дальнейших всесторонних исследованиях. Не исключено наличие половых различий в строении не только спинных, но и боковых и брюшных жучек. Остаётся открытым вопрос о существовании схожих закономерностей в строении спинных жучек у стерляди более раннего возраста. В частности, показано, что выявленные различия в строении жучек между личинками европейского и атлантического осетров (Wuertz et al., 2011) сохраняются у половозрелых особей (Desse-Berset, Williot, 2011; Thieren et al., 2015). Это позволяет надеяться на положительный результат в разработке способа идентификации пола у стерляди и других видов осетровых на ранних этапах развития.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает благодарность С.В. Роговцову, К.Л. Шумскому, Л.О. Атрощенко, А.В. Волынцу, Н.А. Суровцу, В.В. Калинину, Л.Э. Дубравской и А.В. Некрылову (Рыбоводный индустриальный

комплекс БГСХА) за помощь в сборе материала для исследований. Особой благодарностью необходимо отметить супругу автора, А.С. Барулину, случайно обратившую внимание на имеющиеся половые различия в строении спинных жучек стерляди, тем самым подказав направление данного исследования.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Животовский Л.А., Ким Х.Ю.* 2015. Морфологические маркёры пола у горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Salmonidae) // *Вопр. ихтиологии*. Т. 55. № 1. С. 107–109.
- Мальцев А.В., Меркулов Я.Г.* 2006. Биометрический метод определения пола осетровых, в частности русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseridae) азовской популяции // *Там же*. Т. 46. № 4. С. 536–540.
- Мосягина М.В., Зеленников О.В.* 2016. Состояние стероид-секреторных клеток и концентрация половых стероидных гормонов в плазме крови сибирского осетра *Acipenser baerii* и стерляди *A. ruthenus* (Acipenseridae) в период дифференцировки пола // *Там же*. Т. 56. № 1. С. 95–101.
- Подушка С.Б.* 2008. Половые различия в форме парных плавников у амурского осетра // *Осетровое хоз-во*. № 2. С. 69–71.
- Трусов В.З.* 1964. Метод определения степени зрелости половых желез самок осетровых // *Рыб. хоз-во*. № 1. С. 26–28.
- Barulin N.V.* 2015. Serum enzyme response of captive sturgeon brookstock *Acipenser baerii* Brandt 1869 females and two hybrids (bester = female *Huso huso* Linnaeus, 1758 × male *Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758, and RsSs = *A. gueldenstaedtii* Brandt 1833 × *A. baerii* Brandt 1869) to hormonal stimulation for spawning induction // *J. Appl. Ichthyol.* V. 31. P. 2–6.
- Billard R.* (ed.). 2002. *Esturgeons et caviar*. Paris: Lavoisier Tech. et Doc., 298 p.
- Bronzi P., Rosenthal H.* 2014. Present and future sturgeon and caviar production and marketing: a global market overview // *J. Appl. Ichthyol.* V. 30. P. 1536–1546.
- Chebanov M.S., Galich E.V.* 2013. Sturgeon hatchery manual // *FAO Fish. Aquacult. Tech. Pap.* № 558. Ankara: FAO, 297 p.
- Chiotti J.A., Boase J.C., Hondorp D.W., Briggs A.S.* 2016. Assigning sex and reproductive stage to adult lake sturgeon using ultrasonography and common morphological measurements // *N. Amer. J. Fish. Manag.* V. 36. № 1. P. 21–29.
- Desse-Berset N., Williot P.* 2011. Emerging questions from the discovery of the long term presence of *Acipenser oxyrinchus* in France // *J. Appl. Ichthyol.* V. 27. P. 263–268.
- Du H., Zhang X., Leng X. et al.* 2016. Gender and gonadal maturity stage identification of captive Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*, using ultrasound imagery and sex

- steroids // Gen. Comp. Endocrinol. DOI: 10.1016/j.ygcen.2016.08.004
- Falahatkar B., Poursaeid S. 2014. Gender identification in great sturgeon (*Huso huso*) using morphology, sex steroids, histology and endoscopy // Anat. Histol. Embryol. V. 43. № 2. P. 81–89.
- Falahatkar B., Akhavan S.R., Tolouei Gilani M.H., Abbasalizadeh A. 2013. Sex identification and sexual maturity stages in farmed great sturgeon, *Huso huso* L. through biopsy // Iran. J. Vet. Res. V. 14. № 2. P. 133–139.
- Fox J. 2005. The R commander: a basic statistics graphical user interface to R // J. Stat. Software. V. 14. № 9. P. 1–42.
- Hurvitz A., Jackson K., Degani G., Levavi-Sivan B. 2007. Use of endoscopy for gender and ovarian stage determinations in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) grown in aquaculture // Aquaculture. V. 270. P. 158–166.
- Lu X., Webb M., Talbot M. et al. 2010. Distinguishing ovarian maturity of farmed white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) by Fourier transform infrared spectroscopy: a potential tool for caviar production management // J. Agric. Food Chem. V. 58. № 7. P. 4056–4064.
- Matsche M.A., Bakal R.S., Rosemary K.M. 2011. Use of laparoscopy to determine sex and reproductive status of shortnose sturgeon (*Acipenser brevirostrum*) and Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus oxyrinchus*) // J. Appl. Ichthyol. V. 27. P. 627–636.
- Munhofen J.L., Jimenez D.A., Doug L. et al. 2014. Comparing ultrasonography and endoscopy for early gender identification of juvenile Siberian sturgeon // N. Amer. J. Aquacult. V. 76. P. 14–23.
- Pohlert T. 2014. The Pairwise multiple comparison of mean ranks package (PMCMR). R package (<http://CRAN.R-project.org/package=PMCMR>).
- R Core Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. R foundation for statistical computing (<https://www.R-project.org/>).
- Thieren E., Wouters W., Van Neer W. 2015. Guide for the identification of archaeological sea sturgeon (*Acipenser sturio* and *A. oxyrinchus*) remains // Cybium. V. 39. № 3. P. 175–192.
- Vecsei P., Litvak M.K., Noakes D.L.G. et al. 2003. A non-invasive technique for determining sex of live adult North American sturgeons // Environ. Biol. Fish. V. 68. P. 333–338.
- Venables W.N., Ripley B.D. 2002. Modern applied statistics with S. N.Y.: Springer, 446 p.
- Vizziano-Cantonnet D., Landro S., Lasalle A. et al. 2016. Identification of the molecular sex-differentiation period in the Siberian sturgeon // Mol. Reprod. Devel. V. 83. № 1. P. 19–36.
- Webb M.A.H., Feist G.W., Foster E.P. et al. 2002. Potential classification of sex and stage of gonadal maturity of wild white sturgeon using blood plasma indicators // Trans. Amer. Fish. Soc. V. 131. P. 132–142.
- Wei T., Simko V. 2016. Corrplot: visualization of a correlation matrix. R package/ Version. 0.77. (<https://CRAN.R-project.org/package=corrplot>).
- Wuertz S., Reiser S., Gessner J., Kirschbaum F. 2011. Morphological distinction between juvenile stages of the European sturgeon *Acipenser sturio* and the Atlantic sturgeon *Acipenser oxyrinchus* // Biology and conservation of the European sturgeon *Acipenser sturio* L. 1758. The reunion of the European and Atlantic sturgeons / Eds. Williot P. et al. N.Y.: Springer. P. 53–64.