

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ НАУК
(Россельхозакадемия)

ГОСУДАРСТВЕННОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ИРРИГАЦИОННОГО РЫБОВОДСТВА
(ГНУ ВНИИР)

МЕЖВЕДОМСТВЕННАЯ ИХТИОЛОГИЧЕСКАЯ КОМИССИЯ
(МИК)

**АКВАКУЛЬТУРА
И ИНТЕГРИРОВАННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ:
ПРОБЛЕМЫ И ВОЗМОЖНОСТИ**

**МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
посвященной 60-летию Московской
рыбоводно-мелиоративной опытной станции и
25-летию её реорганизации в ГНУ ВНИИР**

ТОМ 2

Москва – 2005

УДК 639.3/6
ББК 47.2

Аквакультура и интегрированные технологии: проблемы и возможности: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию Московской рыбоводно-мелиоративной опытной станции и 25-летию её реорганизации в ГНУ ВНИИР. Сборник научных докладов. Т.2 – Москва, 11-13 апреля 2005 г. /ГНУ ВНИИ ирригационного рыбоводства – Москва, 2005 г. – 360с.

Оргкомитет конференции: Серветник Г.Е., Шульгина Н.К., Новоженин Н.П., Шишанова Е.И., Львов Ю.Б., Ананьев В.И., Клушин А.А., Лабенец А.В.

Ответственный за выпуск: Серветник Г.Е.

Все статьи приведены в авторской редакции

**ВЛИЯНИЕ ПЛОТНОСТИ ВЫРАЩИВАНИЯ НА
МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ И ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
МОЛОДИ СЕВРЮГИ ACIPENSER STELLATUS (PALLAS)**

Рябова Г.Д., Климонов В.О., Афанасьев К.И., Вышкварцев Д.И.,

Григорьева Т.Н., Рубцова Г.А.

ИОГ РАН, ФГУ ЦУРЭН, ИБМ ДВО РАН, ФГУП КаспНИРХ,

SUMMARU

**THE RAISING DENSITY EFFECT ON MORPHOMETRIC
AND GENETIC FEATURES OF STELLATE STURGEON
ACIPENSER STELLATUS (PALLAS)**

Ryabova G.D., Klimonov V.O., Afanasiev K.I., Vyshkvartzev D.I.,

Grigoryeva T.N., Rubtzova G.A.

The samples of standard and low density – grown fry of stellate sturgeon (*Acipenser stellatus*) were analyzed for genetic (allozyme) and size-weight variability and survival. Different genotypes showed advantage of survival and growth rate in ponds of distinct density apparently because of different stress resistance. Growing of fry at low density is favorable in conservation of genetic diversity.

После зарегулирования Волги заводская доля пополнения запасов осетровых и, в частности севрюги, составляет более 30% волжского стада [1]. До настоящего времени усилия осетроводства были в основном направлены на увеличение количества выращиваемой молоди для получения необходимого объема вылова рыб. Оказалось, однако, что несоответствие между масштабами выпуска молоди и наличием кормовой базы в море может рассматриваться как одна из причин резкого спада численности осетровых [2]. Наряду с этим недостаточно учитываются проблемы сохранения генетического и фенотипического разнообразия, необходимые для поддержания популяции осетровых.

При анализе изменчивости полигенных признаков и генетических маркеров севрюги волжского (в 1983-85, 1996 гг.) и уральского (в 1984-85 гг.) нерестовых стад была выявлена генетическая гетерогенность производителей, идущих на нерест, и показана связь между генотипом особи по некоторым маркерным генам и такими признаками, как длина тела, плодовитость самок и возраст созревания особей. Отмечаемое на протяжении последних десятилетий уменьшение размеров, плодовитости самок севрюги, омоложение стада коррелировало с увеличением пропорции рыб гетерозиготных по некоторым из этих генов [3,4]. Подобная связь между и высокой гетерозиготностью и ускоренным темпом роста и созревания при небольших размерах наблюдается и у других рыб, в частности лососевых [5]. Обнаружилось, кроме того, что в условиях рыбоводного завода гетерозиготная молодь лучше выживает, быстрее растет, отличается большей устойчивостью к стрессу [3,6].

Было неясно, какие факторы в первую очередь способствуют увеличению гетерозиготности, возможно, большое значение имеет выращивание молоди в прудах при высокой плотности посадки? Как известно, влияние плотности может быть как стимулирующим, связанным с увеличением интенсивности питания [7], так и угнетающим, с проявлением признаков стресс-синдрома [8]. Нормативы плотности посадки личинок осетровых в пруды, принятые на заводах Севкаспрыбвода, составляют 85 - 120 тыс. экз./га.

Цель исследования заключалась в анализе генотипического состава молоди и влияния некоторых аллозимных генотипов на размеры, массу и другие характеристики себрюги, выращиваемой в условиях стандартной и пониженной плотности. Полученные результаты позволяют сделать вывод, что снижение плотности выращивания молоди в прудах способствует поддержанию генетического и фенотипического разнообразия, сохраняя существовавшие пропорции генотипов и оптимизируя их фенотипическое проявление.

Опыты по выращиванию молоди себрюги проводили в двух циклах (опытах) на осетровом рыбоводном заводе Лебяжий Астраханской области в июне-июле 1996 г. В I цикле были использованы 26 производителей себрюги, во II – 18, поровну самцов и самок. После перехода большей части личинок на активное питание каждую партию рассаживали в два пруда, в одном из которых была стандартная, а в другом вдвое более низкая плотность. Площадь водоемов составляла по 2,2 га, плотность личинок 127 и 64 тыс. экз./га в первом, и 136 и 68 тыс. экз./га во втором цикле. Для создания сходных трофических условий в прудах стандартной плотности была создана вдвое более высокая кормовая база, чем в прудах с пониженной плотностью. За время опытов существенных различий гидрологических показателей между прудами не найдено. Подросшую молодь брали для анализа через 28 дней от начала первого и 21 день – второго цикла. Выживаемость молоди оценивали по данным бонитировки.

У мальков определяли длину и массу тела, после чего их замораживали и хранили при температуре -18°C не более двух месяцев. Для сравнения средних длины и массы тела использовался непараметрический критерий Манна-Уитни; масштабы изменчивости молоди в выборках сравнивали по методу Миллера [9].

Электрофоретический анализ аллозимов проводили в крахмальном и полиакриламидном гелях [3]. Для оценки генетической изменчивости исследовали локусы *LDH3*, *LDH4* (три аллеля в каждом), *PGM1* (два аллеля), связь которых с компонентами приспособленности себрюги выявлена ранее [3]. Значимость различий в генотипических частотах между выборками оценивали с помощью теста на гетерогенность [10], оценок гетерозиготности – при помощи t-критерия Стьюдента.

Морфометрические данные. Найденные частотные распределения длины и массы тела мальков отличаются от нормальных.

На первый взгляд, судя по данным таблицы 1, выращивание молоди при стандартной плотности имеет некоторые преимущества, –

высокая выживаемость, большие средние размеры и масса тела, высокая упитанность, в то же время такая молодь обнаруживает большой масштаб изменчивости. О выравненности размеров в условиях низкой плотности свидетельствуют значения асимметрии и эксцесса. Различия вариабельности молоди из прудов стандартной и низкой плотности посадки значимы (по массе в первом цикле, $p=0,01$; по длине во втором, $p=0,001$). Известно, что увеличение вариабельности размеров встречается при ухудшении условий среды [11], в то же время молодь естественного нереста обладает меньшей вариабельностью по сравнению с заводской при сопоставимых средних размерах [3].

Генетические данные. Анализ аллозимной изменчивости исследованных локусов молоди севрюги показал соответствие наблюдаемых и ожидаемых распределений генотипов во всех выборках. Величина фактической гетерозиготности по всем локусам существенно не отличалась от ожидаемой. Наблюдается однонаправленная тенденция – фактическая гетерозиготность по локусу *PGM1* выше у молоди из прудов со стандартной плотностью зарыбления (табл.1). При меньшей выживаемости молоди во втором цикле отношение количества часто встречающихся гомозиготных особей к гетерозиготным в выборке из «разреженного» пруда составляет 2,8 : 1, в то время как у молоди из пруда со стандартной плотностью 1,5 : 1, что свидетельствует о лучшей выживаемости рыб с гетерозиготным по этому локусу генотипом в условиях повышенной конкуренции, стресса. Тест на гетерогенность подтвердил значимость этих различий, $p < 0,05$. При этом средняя фактическая гетерозиготность в выборках обеих пар оставалась сравнимой.

Анализ влияния генотипа по локусу *PGM1* на размерно-весовые характеристики особей показал, что при стандартной плотности в I цикле гетерозиготная молодь превосходила по длине и массе молодь с обычным гомозиготным генотипом ($p < 0,05$). У молоди из прудов с низкой плотностью во II цикле, напротив, особи с гомозиготным генотипом отличались более крупными размерами по сравнению с гетерозиготами ($p < 0,05$) – (цикл II). Аналогичное наблюдение было сделано в отношении локуса *LDH4*. Из этого следует, что в зависимости от плотности влияние генотипа на размеры и массу тела меняются.

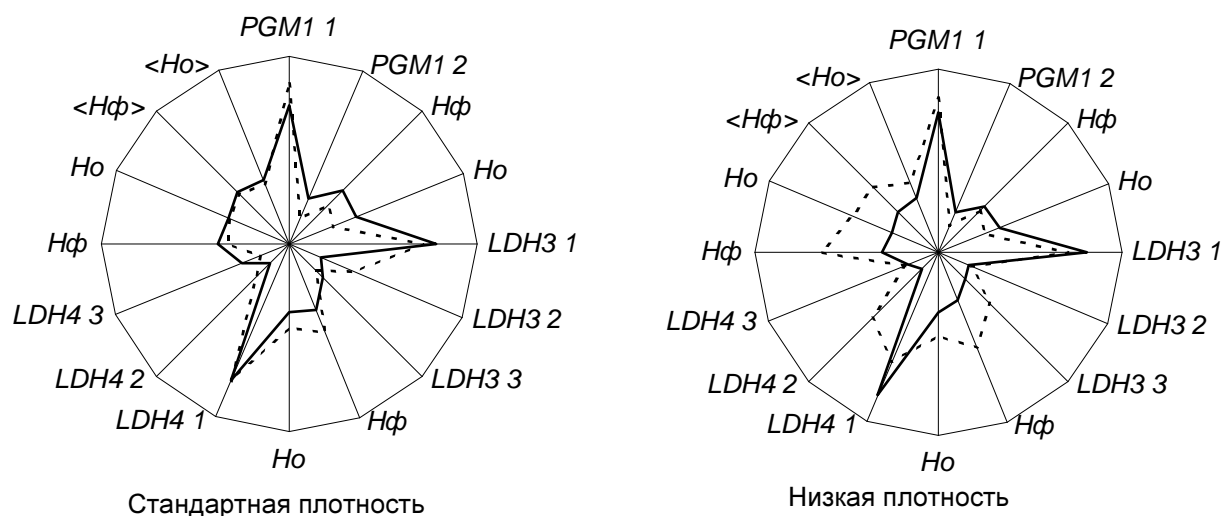
Особенности комплексного влияния генотипа молоди на ее морфометрические характеристики можно проследить, разделив по длине и массе выборки на мелких – меньше среднего значения и крупных, – больше среднего – особей (рис.1). **Значимые генетические различия между группами мелкой и крупной молоди обнаружены только для прудов с низкой плотностью выращивания.** В обоих циклах группы мелких и крупных особей у молоди из «разреженных» прудов значимо различаются по величине фактической гетерозиготности одного или двух из трех исследованных маркерных генов ($p < 0,01$), а средняя фактическая гетерозиготность крупной

Таблица 1.

Сравнение характеристик молоди из прудов разной плотности посадки
(в скобках указана ошибка)

Признак	Стандартная плотность	Низкая плотность	Критерий различия
I цикл			
Выживаемость, %	36,7	30,1	
Выборка, шт.	120	120	
Длина, см	6,08 (0,09)	5,85 (0,07)	0,030*
Дисперсия длины	1,05	0,51	0,18
Масса, г	0,71 (0,03)	0,59 (0,02)	0,001**
Дисперсия массы	0,09	0,04	0,01*
Асимметрия	0,43	1,39	
Эксцесс	-0,51	2,81	
Упитанность	0,303	0,285	
Гетерозиготность фактическая H_{ϕ}			
$H_{\phi} PGM1$	0,346 (0,045)	0,319 (0,043)	
$H_{\phi} LDH3$	0,448 (0,046)	0,450 (0,050)	
$H_{\phi} LDH4$	0,353 (0,044)	0,350 (0,048)	
Средняя H_{ϕ}	0,382 (0,026)	0,373 (0,027)	
II цикл			
Выживаемость, %	25,8	14,3	
Выборка, шт.	120	81	
Длина, см	4,45 (0,05)	4,55 (0,05)	0,391
Дисперсия длины	0,26	0,23	0,001**
Масса, г	0,30 (0,01)	0,29 (0,01)	0,094
Дисперсия массы	0,01	0,01	
Асимметрия	1,22	2,83	
Эксцесс	1,79	9,64	
Упитанность	0,332	0,293	
Гетерозиготность фактическая, H_{ϕ}			
$H_{\phi} PGM1$	0,371 (0,047)	0,262 (0,055)	
$H_{\phi} LDH3$	0,400 (0,049)	0,500 (0,057)	
$H_{\phi} LDH4$	0,410 (0,049)	0,395 (0,056)	
Средняя H_{ϕ}	0,394 (0,028)	0,385 (0,032)	

I цикл



II цикл

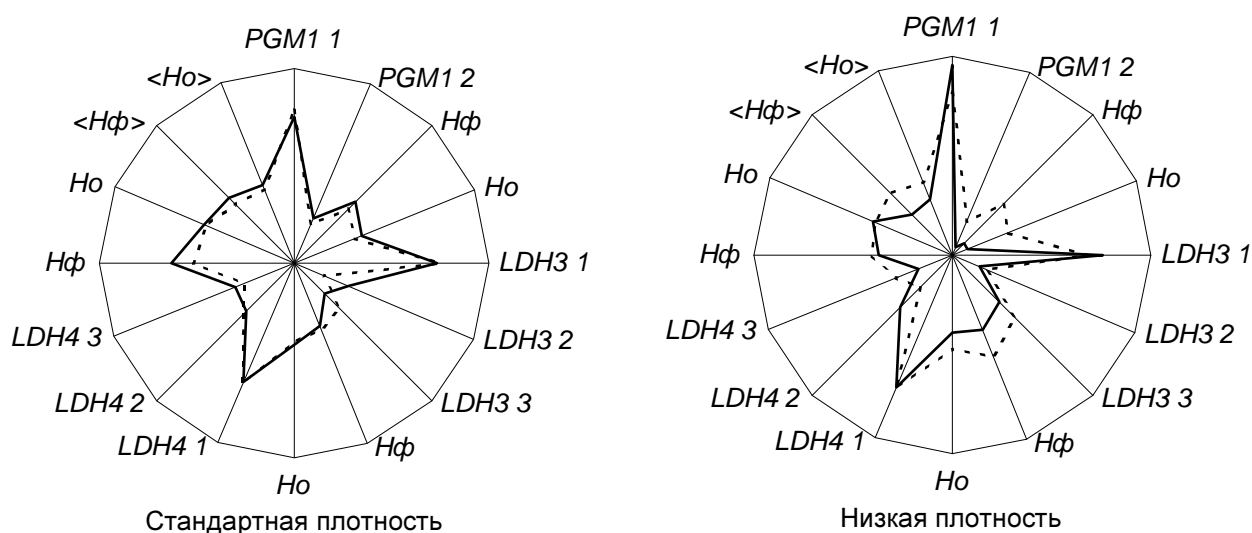


Рис.1 Полигоны аллельных частот, фактической (H_{ϕ}), ожидаемой (H_o) и средней фактической $\langle H_{\phi} \rangle$ гетерозиготности исследованных локусов у мелкой и крупной молоди севрюги. На радиусах частот аллелей 2 и 3 локусов *LDH 3* и *LDH4* интервал значений от 0,5 до 1, на остальных от 0 до 1. Сплошная линия – крупная молодь, пунктир – мелкая.

молоди из прудов низкой плотности посадки существенно ниже средней фактической гетерозиготности мелкой ($p < 0,001$; $p < 0,01$).

Таким образом, условия выращивания молоди при стандартной плотности сопряжены с увеличением гетерозиготности и нивелированием влияния часто встречающихся гомозиготных генотипов на размеры и массу тела мальков. Более высокий темп роста молоди гетерозиготной по локусу *PGM1* в прудах стандартной плотности, их лучшая выживаемость позволяет связать

наблюдаемое повышение гетерозиготности по этому локусу в младших возрастах в стаде волжской севрюги с особенностями заводского выращивания. Увеличение количества гетерозиготных особей негативно сказывается на общей плодовитости стада, так как раннее созревание быстро растущих рыб сопровождается нарушениями полового цикла и ведет к омоложению стада и уменьшению продолжительности жизни [3,5,12]. Возможно, выращивание молоди при плотности, превосходящей встречающуюся на естественных нерестилищах, способствует за счет влияния содержащихся в воде продуктов обмена проявлению плотностно-зависимой регуляции численности популяции. В выростных прудах формируется генетический состав заводской доли пополнения стада, причем преимущество получают особи, наиболее соответствующие имеющимся условиям, в частности высокой плотности.

Недавно были разработаны новые нормы плотности для молоди севрюги (50 тыс. экз./га) и доказано, что увеличение продуктивности прудов перед вселением туда личинок, способствует получению при низкой плотности более крупной, чем в стандартных условиях и физиологически более полноценной молоди [13]. Как показывают результаты нашего исследования, выращивание севрюги при подобной плотности должно вести к сохранению генетического состава пополнения и оптимальному с точки зрения приспособленности популяции фенотипическому проявлению генотипов выращиваемых особей. Принятие новых нормативов выращивания молоди, наряду с уточнением масштабов выпуска молоди, должно способствовать решению задач осетроводства и стабилизации численности севрюги.

Авторы выражают благодарность сотрудникам КаспНИРХ и завода «Лебяжий» Севкаспрыбвода, а также А.Б. Рябову за большую помощь в работе. Работа проведена по заказу Госкомрыболовства РФ.

Литература

1. Довгопол Г.Ф., Вещев П.В., Озерянская Т.В. Оценка численности поколений севрюги *Acipenser stellatus* (Pallas) // Вопр. ихт. 1993.Т. 33. №1. С. 93-99.
2. Алтухов Ю.П., Евсюков А.Н. Перепроизводство молоди рыбоводными заводами как причина деградации волжского стада русского осетра // ДАН. 2001.Т. 380. № 2.С. 273-275.
3. Рябова Г. Д., Офицеров М. В., Шишанова Е. И Исследование связи между аллозимной изменчивостью и некоторыми компонентами приспособленности у севрюги *Acipenser stellatus* (Pallas) // Генетика. 1995.Т. 31. № 12. С. 1679-1692.
4. Рябова Г.Д., Офицеров М.В., Климонов В.О., Шишанова Е.И., Довгопол Г.Ф., Ходоревская Р.П. О возможном влиянии рыбоводства на генетические и биологические характеристики севрюги / Состояние и перспективы научно-практических разработок в области марикультуры России. М. ВНИРО. 1996. С.269-274.
5. Алтухов Ю.П., Варнавская Н.В. Адаптивная генетическая структура и ее

- связь с внутривидовой дифференциацией по полу, возрасту и скорости роста у тихоокеанского лосося – нерки, *Oncorhynchus nerka* (Walbaum) // Генетика. 1983. Т.19. № 5. С.796-807.
6. Никоноров С.И., Витвицкая Л.В., Климонов В.О. и др. Генетико-нейробиологический анализ полиреактивности молоди севрюги на нейротропный препарат гидрохлорид хинальдина // ДАН.1985. Т.280. № 5. С.1254-1257.
 7. Алпатов В. В. Среда и рост животных / Рост животных. П/ред. Капланского и др. М. -Л. Биомедгид, 1935.С. 326-366.
 8. Пианка Э. Эволюционная экология. М. Мир. 1981. 399 с.
 9. Холлендер М., Вульф Д. Непараметрические методы статистики. М. Финансы и статистика. 1983.518 с.
 10. Zaykin D.V., Pudovkin A.I. Two programs to estimate of χ^2 values using pseudo-probability tests // J. Hered. 1993. V.84. № 2. P.152.
 11. Владимиров В.И. Вариабельность размеров рыб на ранних этапах жизни и выживаемость / Разнокачественность раннего отогенеза у рыб. П/ред. Владимирова В.И. Наукова думка. Киев.1974. С.227-254.
 12. Никандров В.Я., Шиндавина Н.И., Яблоков А.Г., Соломонов Г.В. Применение комбинированного отбора в форелеводстве / Труды ГосНИОРХ. 1987. Вып.259. С.17-23.
 13. Григорьева Т.Н., Солохина Т.А. Особенности выращивания молоди севрюги в прудах рыбоводных заводов дельты Волги / Осетровые на рубеже XXI века. Астрахань. 2000.С. 233-235.

УДК 639.052.2

МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ БИОТЕХНОЛОГИИ КРИОКОНСЕРВАЦИИ ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ ПРЕСНОВОДНЫХ РЫБ

Савушкина С.И.

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства, Россельхозакадемия

SUMMARY

**Orderly aspects of biotechnologe for cryopreservation of the sex cells fresh fish.
Savushkina S.I.**

All-Russian Reserach Institute of Irrigational Fisheries, VNIIR.

Ever increasing anthropogenic impact on environment results in e[xtinction of many species of flora and fauna. Fish are the most vulnerable organisms in this respect. The purpose of the present work was improvement of methods of cryopreservation of the sturgeon fish sperm and carp sperm. Ours studies demonstrate that pH 6.5 for deep-freezing semen are increased of the motility thawed spermatozoa of carp 40-70% and Siberian sturgeon – 50-60%.