



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2007146217/12, 14.12.2007

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
14.12.2007

(43) Дата публикации заявки: 20.06.2009

(45) Опубликовано: 20.10.2009 Бюл. № 29

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: ЦВЕТЕНКО Ю.Б. Эффективность и генетические последствия интродукции севрюги *Acipenser stellatus* из Каспийского в Азовский бассейн, 2006, т.42, с.1121-1129. ЛУДАННЫЙ Р.И. Генетическое разнообразие и дифференциация отечественных пород карпа (*Cyprinus carpio* L.), выявляемая с помощью RAPD-маркеров, 1993, т.33, с.382-387. RU 2294633 C2, 10.03.2007.

Адрес для переписки:

141821, Московская обл., Дмитровский р-н,
п. Рыбное, ФГУП "ВНИИПРХ", патентный
отдел

(72) Автор(ы):

Симонов Владимир Михайлович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное унитарное
предприятие "Всероссийский
научно-исследовательский институт
пресноводного рыбного хозяйства" (ФГУП
"ВНИИПРХ") (RU)

(54) СПОСОБ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВИДОВ И ПОРОД РЫБ

(57) Реферат:

Способ включает промер комплекса морфометрических признаков рыб и последующее проведение их классификационного анализа по морфотипу. Рыб на первом году жизни предварительно подвергают воздействию стрессового фактора - гипоксии. Гипоксию проводят путем выдерживания сеголетков рыб в емкости с водой, изолируют их от контакта с поверхностным слоем воды. Гипоксию

проводят при плотности посадки 150-300 г/л и температуре воды 16-18°C в течение 3-4 часов до гибели чувствительных к стрессу рыб в количестве 20-25% от числа посаженных. Для классификационного анализа используют выборку рыб, отобранную по выживаемости после стрессового воздействия. Такая технология позволяет повысить эффективность селекционно-племенных работ и сократить время их проведения. 1 з.п. ф-лы, 4 табл.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: **2007146217/12, 14.12.2007**

(24) Effective date for property rights:
14.12.2007

(43) Application published: **20.06.2009**

(45) Date of publication: **20.10.2009 Bull. 29**

Mail address:

**141821, Moskovskaja obl., Dmitrovskij r-n, p.
Rybnoe, FGUP "VNIIPRKh", patentnyj otdel**

(72) Inventor(s):

Simonov Vladimir Mikhajlovich (RU)

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe unitarnoe
predpriatie "Vserossijskij nauchno-
issledovatel'skij institut presnovodnogo rybnogo
khozjajstva" (FGUP "VNIIPRKh") (RU)**

(54) METHOD OF FISH SPECIES AND BREEDS IDENTIFICATION

(57) Abstract:

FIELD: agriculture.

SUBSTANCE: method includes the measurement of morphometric features of fish and the subsequent ranging analysis according to the morphotype. In the first year of life fish is preliminary exposed by stress factor - hypoxia. Hypoxia is carried out by keeping young-of-the-year in the tank with water, they are isolated from the contact with the water surface layer. Hypoxia is carried out with

stocking density 150-300 g/l and water temperature 16-18°C within 3-4 hours to the death of sensitive to stress fish in the quantity 20-25% of the quantity of stocked ones. The fish selection, chosen according to survival after stress, is used for ranging analysis.

EFFECT: this process enables to increase efficiency of selection and stock breeding and reduce time for its performance.

2 cl, 4 tbl, 2 ex

RU 2 370 029 C2

RU 2 370 029 C2

Изобретение относится к селекционно-племенному рыбоводству и может быть использовано при проведении селекционно-генетических исследований, направленных на создание и сохранение новых селекционных достижений, коллекционного фонда особо ценных видов рыб и систематологических исследований естественных популяций ихтиофауны.

Известны генетические способы идентификации видов и пород рыб, включающие анализ белковых маркеров генов и сегментов митохондриальной ДНК и определение степени генетической изменчивости и дивергенции.

Одним из наиболее перспективных способов генетической идентификации видов и пород рыб является так называемый RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA), который включает в себя метод случайных праймеров, а также метод анализа микросателлитной ДНК (Луданый Р.И., Хрисанфова Г.Г., Васильев В.А., Призенко В.К., Богерук А.К., Рысков А.П., Семенова С.К. Генетическое разнообразие и дифференциация отечественных пород (*Syrpinus carpio* L.), выявляемая с помощью RAPD-маркеров // Генетика. - 2006. - Т.42, №8. - С.1121-1129).

Однако применение методов молекулярно-генетического анализа, несмотря на высокую разрешающую способность, требует высококвалифицированного обслуживающего персонала. Технологический процесс усложняется использованием большого количества реактивов и дорогостоящего оборудования, что приводит к его удорожанию и повышению себестоимости процесса распознавания, так как все это в значительной степени требует больших финансовых затрат.

Известен способ идентификации гибридных форм осетровых видов путем выявления изменений химического состава тканей гибридов рыб по изменению способности слизи осетровых рыб к формообразованию кристаллов при ее переходе в твердую фазу, что позволяет судить о гибридном происхождении (см. Патент РФ №2257053, МПК7 А01К 61/00; 2005).

Однако известный способ направлен на повышение эффективности распознавания гибридного происхождения только осетровых рыб. Данные по формообразованию кристаллов при переходе слизи в твердую фазу для других видов рыб не представлены. Кроме того, при сравнении близкородственных пород рыб данные по визуальной оценке неприемлемы, так как они не позволяют судить о генетическом расхождении между отводками.

Наиболее близким способом к заявленному изобретению по совокупности признаков является метод идентификации видов и пород рыб, включающий промер комплекса морфометрических признаков и проведение классификационного анализа по морфотипу (Цветенко Ю.Б. Эффективность и генетические последствия интродукции севрюги *Acipenser stellatus* из Каспийского в Азовский бассейн // Вопросы ихтиологии. - 1993. - Т.33, №3. - С.382-387).

Известный способ основан на многомерном статистическом анализе данных, рассматривающих корреляционную структуру связей промеров формы рыб, выраженных, как правило, в относительных единицах. Промеры головы рассматриваются как индексы их отношения к длине головы, а все прочие измерения - как индексы их отношения к длине тела рыбы.

К причинам, препятствующим достижению указанного ниже результата идентификации видов и породных групп при использовании морфометрического анализа, относятся:

- высокое значение ошибки классификации при сравнении близкородственных гибридных комбинаций и пород рыб, особенно на первом году жизни, когда различия

между породными группами значительно менее выражены, чем у старших возрастных групп;

- влияние на конечный результат идентификации, особенно на первом году жизни рыб, таких факторов, как большая вариабельность значений измерения и их высокая зависимость от средовых условий, при которых происходит развитие рыб (рацион кормления, плотность посадки в пруды и др.), которые определяют темпы роста и развития;

- неравноценный ответ селекционируемых отводок на действие комплекса неблагоприятных факторов как абиотических, так и технологических;

- при проведении селекционно-племенных работ ошибка правильной идентификации породных групп на ранних стадиях развития приводит к их засорению чужеродной рыбой, при этом нерационально используются рыбопосадочные прудовые площади, оценка племенных отводок по селекционируемым показателям растягивается на несколько лет.

Все эти причины не позволяют получать корректные результаты оценки идентификации и различимости пород и породных групп рыб, увеличивают время и себестоимость проведения селекционно-племенных работ.

Настоящее изобретение направлено на повышение эффективности селекционно-племенных работ, сокращение времени и снижение себестоимости их проведения за счет более точного распознавания пород и породных групп рыб.

Указанный технический результат достигается тем, что в известном способе идентификации видов и пород рыб, включающем промер комплекса морфометрических признаков и проведение классификационного анализа по морфотипу, особенность заключается в том, что рыб на первом году жизни предварительно подвергают воздействию стрессового фактора - гипоксии, а для классификационного анализа используют выборку рыб, отобранную по выживаемости после воздействия стрессового фактора.

При этом воздействие стрессового фактора целесообразно проводить путем выдерживания сеголетков рыб в емкости с водой, изолируя их от контакта с поверхностным слоем воды, при плотности посадки 150-300 г/л и температуре 16-18°C в течение 3-4 часов до гибели чувствительных к стрессу рыб в количестве 20-25% от числа посаженных.

Изоляцию рыб от поверхностного слоя воды целесообразно осуществлять путем установки решетки на глубине 3-5 см от поверхности воды.

Предварительное воздействие стрессового фактора на первом году жизни рыб позволяет исключить из анализа особей, не несущих смысловой нагрузки, характеризующей вид (породу), так как, обладая повышенной чувствительностью к стрессовому воздействию, они элиминируются естественным отбором, не достигая репродуктивного возраста. Проведение анализа на полной выборке, не учитывая характеристик неоднородности рыб по выживаемости, приводит к увеличению ошибки классификации породных отводок рыб по признакам морфотипа.

Пониженная выживаемость определяется набором генных мутаций. Так как формирование морфотипа рыб имеет полигенную основу, т.е. определяется влиянием многих генов, то фенотипические отклонения у рыб с пониженной выживаемостью (и которые элиминируются отбором) вызывают увеличение доли неправильно классифицируемых рыб в результате проведенного дискриминантного анализа по морфотипу на полной выборке. Эффект стабилизирующего отбора по полигенной системе выражается в том, что наиболее устойчивыми к экстремальным воздействиям

среды оказываются особи, близкие к популяционной средней по совокупности количественных признаков. Таким образом, сформированные стабилизирующим отбором адаптивные комплексы генов связаны с "оптимальным" средним фенотипом. Особи, отклоняющиеся от "оптимального" среднего фенотипа, характеризуются

5 пониженной приспособленностью (Шмальгаузен И.И. Факторы эволюции, теория стабилизирующего отбора. - М., 1946. - 396 с.).

Учитывая адаптационные способности у рыб в возрасте до одного года и удаляя из анализа особей с пониженной выживаемостью, возможно проведение более

10 корректного разделения сравниваемых групп (породных отводок) по комплексу признаков морфотипа. В этом случае увеличивается расстояние между группами в многомерном пространстве морфологических признаков (расстояние Махаланобиса), возрастают значения канонических корреляций, повышается точность дискриминации при использовании классификационных уравнений.

15 Проведение предварительного тестирования на стрессоустойчивость в условиях жесткого воздействия (выживаемость при гипоксии) сеголетков (годовиков) рыб до проведения классификационного анализа позволяет удалять особей с пониженной жизнестойкостью за 3-4 часа оценки. Отбор рыб на ранних стадиях развития

20 позволяет сократить время проведения селекционных работ и снизить себестоимость их выращивания за счет сокращения рыбопосадочных площадей.

Использование в качестве стрессового фактора гипоксии (содержание растворенного кислорода в воде на уровне критических концентраций) обеспечивает выживаемость наиболее функционально приспособленных рыб. Особи, имеющие

25 отклонения от нормального развития, имеют и пониженную выживаемость. Использование гипоксии в качестве стрессового фактора отчасти моделирует естественный отбор рыб в замкнутых водоемах, где нередко могут наблюдаться довольно значительные перепады гидрохимических показателей, в том числе дефицит

30 кислорода. Естественный отбор действует не на отдельные признаки, а на онтогенезы в целом, что проявляется в перестройке корреляционных систем признаков. В то же время известно, что соотносительный рост частей всякого организма является важным адаптивным параметром и находится под жестким контролем стабилизирующего отбора.

35 Экспериментально установлено, что проведение отбора рыб с пониженной стрессоустойчивостью целесообразно проводить в тестируемых емкостях при плотности посадки 150-300 г/л (или 3-7 шт./л) и температуре водной среды 16-18°C. При более низкой температуре происходит увеличение времени выживаемости рыб за

40 счет ее адаптации к изменению стрессового воздействия. Это может привести к изменению селективного ранга у рыб по устойчивости к гипоксии. В то же время при более высоких температурах может наблюдаться неселекционируемая гибель рыб из-за слишком быстрого превышения предела физиологической выносливости. Влияние этого признака так велико, что в отдельных случаях может превосходить те

45 максимальные генетические различия в уровнях устойчивости организма, которые существуют между особями в пределах одной популяции.

Время выдерживания 3-4 часа определяется тем, что для корректного определения устойчивости используются достаточно жесткие средовые изменения, при которых повреждение и смерть особей с пониженной выживаемостью наступают в короткие

50 сроки. Хотя и в этом случае нет гарантии, что адаптивные реакции отсутствуют полностью, однако они не могут успеть развиваться настолько, чтобы существенно повлиять на уровень устойчивости особи и ее селективный ранг (Ушаков Б.П.

Физиологический анализ изменений приспособленности особей в онтогенезе и селективного преимущества гетерозигот // Журнал общей биологии, 1984. - Т. XLV, №5. - С.602-614).

5 Так как поверхностные слои водной толщи насыщаются кислородом за счет его адсорбции из атмосферы, то для получения корректных оценок выдерживания рыб в условиях гипоксии необходимо проводить изоляцию рыб путем установки решетки на глубине 3-5 см от поверхности воды.

10 Для идентификации породных групп рыб по комплексу морфометрических промеров применяется дискриминантный анализ, который относится к методам классификаций многомерных наблюдений выборок. Его цель состоит в идентификации новых объектов и их отнесения к уже имеющимся группам или совокупностям.

15 Отличительные признаки настоящего изобретения позволяют значимо повысить точность идентификации близкородственных породных групп и тем самым сократить время и снизить себестоимость проведения селекционно-племенных работ.

Таким образом, совокупность отличительных признаков описываемого способа обеспечивает достижение указанного технического результата.

20 Проведенный анализ уровня техники позволил установить, что не обнаружен источник, характеризующийся признаками, тождественными всем существенным признакам заявленного изобретения. Следовательно, заявленное изобретение соответствует условию "новизна". Дополнительный поиск известных решений показал, что заявленное изобретение не вытекает для специалиста явным образом из известного уровня техники, следовательно, заявленное изобретение соответствует
25 условию "изобретательский уровень".

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения с получением вышеуказанного технического результата.

Способ осуществляется следующим образом.

30 Для двух (и более) сравниваемых отводок рыб в возрасте до одного года проводят рандомизированный отбор обучающей выборки по 50-80 шт. из каждой группы. До проведения промеров комплекса морфометрических признаков и проведения классификационного анализа по морфотипу выборку подвергают воздействию стрессового фактора (гипоксии).

35 Рыб из каждой сравниваемой отводки на первом году жизни помещают совместно в емкости с водой до плотности 150-300 г/л. Изолируют рыб от контакта с поверхностью и верхними слоями водной толщи путем установки решетки на глубине 3-5 см от поверхности воды и выдерживают в емкости при температуре
40 водной среды 16-18°C. Через 3-4 часа тестирования наблюдают гибель 20-25% от общего числа опытных рыб. Оставшихся в живых рыб отбирают из емкостей и проводят полное морфометрическое описание по стандартной схеме промеров.

45 Полученная в результате тестирования выборка стрессоустойчивых рыб (не менее 30 шт. для каждой сравниваемой породной отводки) измеряется при помощи штангенциркуля с точностью до 1 мм согласно принятой схеме промеров (Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. - М.: Пищевая промышленность, 1966. - 375 с.).

50 Дискриминантный анализ дает наилучшие результаты, когда рассматриваемые наблюдения имеют многомерный нормальный закон распределения, соблюдается однородность дисперсий и ковариаций, в изучаемых группах (или совокупностях) отсутствуют экстремальные наблюдения (выбросы). При подборе признаков и сравнении выборок используют комплекс признаков, представляющих различные морфофункциональные структуры рассматриваемого организма, при этом все особи

характеризуются идентичным набором признаков. Правило дискриминации выбирается в соответствии с определенным принципом - минимизации средних потерь от неправильной классификации. В ходе процедур дискриминации автоматически вычисляются функции классификации, предназначенные для определения той группы, к которой более вероятно принадлежит новый объект.

Абсолютные значения морфометрических признаков переводят в индексы. Для этого промеры головы делят на длину головы, а промеры тела на длину тела рыбы (по Смиту). Составляют электронные таблицы и эти данные используют для дискриминантного анализа. В результате обработки данных получают критерии качества дискриминации сравниваемых отводок по морфотипу: значения λ , r - канонической корреляции, D - расстояния между сопоставляемыми группами в многомерном пространстве (расстояние Махаланобиса). Определяют набор информативных признаков морфотипа, которые вносят существенный вклад при проведении идентификации, и классификационные уравнения. Качество классификации определяют по величине ошибочного отнесения рыб в сравниваемые группы (породные отводки).

Дискриминантный анализ проводится на основании построения линейных комбинаций функций, в которые каждый из признаков комплекса входит со своим коэффициентом - вкладом:

$$L = b_1 x_1 + \dots + b_i x_i + \dots + b_p x_p,$$

где L - численное значение линейной комбинации;

x_i - численное значение i -го признака;

b_i - коэффициент линейной комбинации, отражающий вклад i -го признака в значение линейной комбинации;

p - число признаков.

Коэффициенты b_i определяются с учетом корреляции между признаками.

При сравнении породных групп и коллекционного материала важнейшее значение имеет выбор меры сходства (различия) между ними.

Расчет расстояния Махаланобиса D^2 - наиболее употребительной оценки, которая предполагает моделирование популяций многомерным нормальным распределением:

$$D^2 = (\bar{x}_1 - \bar{x}_2)^T S^{-1} (\bar{x}_1 - \bar{x}_2),$$

где x_1 и x_2 - векторы средних значений в первой и второй группах;

S^{-1} - матрица, обратная средневзвешенной внутригрупповой матрицы.

Условия применения дискриминантного анализа:

- описание породных выборок рыб по полному списку количественных признаков;
- объем выборок не должен быть меньше числа учтенных признаков;
- построение дискриминантных функций, оценка возможности различения пород и измерение межпородных расстояний (Махаланообиса);
- вычисление значений классификационных функций для каждой из разделяемых пород и идентификация породной принадлежности особей по максимальному значению этих функций.

Сущность изобретения иллюстрируется примерами.

Пример 1.

На центральной экспериментальной базе ВНИИПРХ проведена работа по идентификации четырех породных групп карпа. Объектом исследования служили сеголетки (0+) карпа *Syrpinus carpio* (L.) породных групп "московский разбросанный карп" (MP) и отводки Нем/УНК^D - помеси: немецкие × украинско-нивско-курские, с

геном окраски D (Нем) и реципрокных гибридов между ними: МР×Нем и Нем×МР. Масса анализируемых сеголетков карпа составляла соответственно $18,7 \pm 3,3$, $21,4 \pm 6,4$, $19,9 \pm 3,8$ и $19,7 \pm 3,7$ г.

До промеров комплекса морфометрических признаков и проведения классификационного анализа по морфотипу проводили рандомизированный отбор обучающей выборки по 60 шт. из каждой группы сравниваемых отводок рыб в возрасте до одного года и подвергали воздействию стрессового фактора (гипоксии).

Рыб помещали совместно из каждой сравниваемой отводки в 10-литровые емкости с водой до плотности 150 г/л (7 шт./л) при температуре водной среды $16,8^\circ\text{C}$. Изолировали рыб от контакта с поверхностью и верхними слоями водной толщи с помощью решетки, установленной на уровне 3 см от поверхности воды. Через 4 часа тестирования наблюдали гибель 20-25% от общего числа опытных рыб. Оставшихся в живых рыб отбирали из емкостей для анализа.

Для определения эффективности заявляемого способа классификационный анализ проводили по каждой исследуемой группе на полной выборке и выборке рыб, устойчивых к острой гипоксии.

Полное морфометрическое описание проводили по традиционной схеме (Правдин, 1966). Измерения пластических признаков производили штангенциркулем с точностью до 1 мм на свежем материале. Учитывали признаки: AD - длина рыбы без хвостового плавника; AN - длина рыла; NP - диаметр глаза (горизонтальный); PO - заглазничный отдел головы; AO - длина головы; LM - высота головы у затылка; SHIR - межглазничное расстояние, GH - наибольшая высота тела; IK - наименьшая высота тела; AQ - антедорсальное расстояние; RD - постдорсальное расстояние; AV - антевентральное расстояние; AA - антеанальное расстояние; FD - длина хвостового стебля; QS - длина основания спинного плавника; TU - высота спинного плавника; YY₁ - длина основания анального плавника; EJ - высота анального плавника; VX - длина грудного плавника; ZZ₁ - длина брюшного плавника; VZ - расстояние между грудным и брюшным плавниками; ZY - расстояние между брюшным и анальным плавниками и TOL - толщина тела.

Классификация сеголетков карпа осуществлялась на основании четырех классификационных функций:

$$F_1(\text{MP}) = 0,95ZZ_1 - 3,03QS + 0,34EJ - 3,95YY_1 + 6,70NP + 7,87TU + 4,75AO + 2,79VZ - 116,07$$

$$F_2(\text{HeM}) = 3,21ZZ_1 - 3,09QS + 0,95EJ - 2,97YY_1 + 3,76NP + 5,75TU + 3,74AO + 2,00VZ - 123,07$$

$$F_3(\text{HeM} \times \text{MP}) = 2,00ZZ_1 - 3,84QS + 3,26EJ - 5,40YY_1 + 6,60NP + 6,64TU + 3,43AO + 1,83VZ - 120,06$$

$$F_4(\text{MP} \times \text{HeM}) = 5,27ZZ_1 - 4,36QS + 2,59EJ - 5,34YY_1 + 4,92NP + 6,96TU + 4,37AO + 2,87VZ - 144,59$$

Максимальное значение функции F при подстановке измеряемых признаков морфотипа (ZZ₁, QS, EJ, YY₁, NP, TU, AO и VZ) рыб в классифицируемые уравнения определяет ее принадлежность к группам (MP, Нем, МР×Нем и Нем×МР).

Классификационный дискриминантный анализ на этих группах показал, что распознавание исследуемых отводок породных групп карпа с использованием критерия стрессоустойчивости в 1,5 раза повышает точность идентификации (табл.1) и более чем в 3 раза увеличивает расстояние между сравниваемыми группами (расстояние Махалонобиса) (табл.2). Достоверность сравнения при этом также повысилась. Коэффициент канонической корреляции для полной выборки только для первой функции из трех имел значимое значение ($r_1 = 0,65$, $p < 0,05$), тогда как для выборки рыб, отбранной по выживаемости, для всех трех дискриминационных

функций корреляция была высоко достоверна ($r_1=0,80$; $r_2=0,74$; $r_3=0,70$; $p<0,05$) (табл.2).

Таблица 1

Классификационная таблица дискриминантного анализа, выполненного на признаках морфотипа сеголетков карпа четырех породных групп		
Породные группы карпа	Точность классификации (%)	
	полная выборка	выборка устойчивых к стрессу
МР	63,16	87,50
Нем	66,67	100,00
Нем×МР	52,63	88,89
МР×Нем	78,95	85,71
Среднее	65,52	91,18

Таблица 2

Результаты линейного дискриминантного анализа, выполненного на признаках морфотипа сеголетков карпа четырех породных групп			
Показатели		Породные группы карпа: МР, Нем, Нем×МР и МР×Нем	
		полная выборка	выборка устойчивых к стрессу
Показатели дискриминации	Функции дискриминации		
Процент учета дисперсии	1	61,86	46,24
	2	24,32	29,90
	3	13,5;	23,87
Каноническая корреляция, г	1	0,65*	0,80*
	2	0,48	0,74*
	3	0,38	0,70*
Расстояние Махаланобиса:			
Мах между: МР и МР×Нем		5,25*	16,65*
Мин между: Нем и Нем×МР		1,81*	8,30*

*- значимость на уровне $p<0,05$.

Пример 2.

На форелевом комплексе ВНИИПРХ проведена идентификация двух породных групп форели. В качестве объекта исследования использовали сеголетков (0+) радужной форели *Saimo gairdneri irideus*, полученных от производителей коллекционного стада ВНИИПРХ и золотой форели *Oncorhynchus mykiss aguabonita*. Последняя была получена из икры, привезенной из Адлеровского форелевого племзавода. Масса сеголетков форели составляла $21,3\pm 5,2$ и $25,7\pm 5,4$ г соответственно.

До промеров комплекса морфометрических признаков и проведения классификационного анализа по морфотипу проводили рандомизированный отбор обучающей выборки по 80 шт. из каждой группы сравниваемых отводок рыб в возрасте до одного года и подвергали воздействию стрессового фактора (гипоксии). Для этого осуществляли совместное выдерживание сеголетков двух групп форели в аппаратах Вейса (10 л) в непроточной воде при плотности посадки 250 г/л при температуре воды 18°C. Рыб изолировали от контакта с верхними водными слоями, помещая нейлоновую сетку на глубину 5 см. После 3 часов выдерживания рыбы в условиях гипоксии выжило около 80%, которые были использованы для анализа.

Для классификационного анализа по каждой исследуемой группе использовали полную выборку и выборку рыб, устойчивых к острой гипоксии.

Полное морфометрическое описание проводили по промеру у рыб по 23-м признакам морфотипа (AD - длина рыбы без хвостового плавника; AN - длина рыла; NP - диаметр глаза (горизонтальный); PO - заглазничный отдел головы; АО - длина головы; LM - высота головы у затылка; SHIR - межглазничное расстояние; GH -

наибольшая высота тела; IK - наименьшая высота тела; AQ - антедорсальное расстояние; RD - постдорсальное расстояние; PV - пектовентральное расстояние; AV - антевентральное расстояние; AA - антеанальное расстояние; VA - вентроанальное расстояние; FD - длина хвостового стебля; QS - длина основания спинного плавника; TU - высота спинного плавника; YY₁ - длина основания анального плавника; EJ - высота анального плавника; VX - длина грудного плавника; ZZ₁ - длина брюшного плавника; VZ - расстояние между грудным и брюшным плавниками; ZY - расстояние между брюшным и анальным плавниками и TOL - толщина тела).

Классификация сеголетков форели осуществляется на основании двух классификационных функций:

$$F_1(\text{радужная форель}) = -148,3IK - 30,6VA + 129,6AO - 98,6PV + 162,2AV - 166,9AA - 4,7LM - 193,9$$

$$F_2(\text{золотая форель}) = 61,0IK - 36,7VA + 40,9AO - 37,9PV + 80,2AV - 100,6AA + 13,9LM - 191,3$$

Максимальное значение функции F при подстановке измеряемых признаков морфотипа (IK, VA, AO, PV, AV, AA и LM) рыб в классифицируемые уравнения определяет ее принадлежность к группам (золотая или радужная форель).

Анализ показал, что проведение дискриминации групп форели по морфотипу для выборки устойчивых к стрессу рыб позволило улучшить качество идентификации: каноническая корреляция $r=0,93-0,96$, разделение на группы безошибочное - 100%. (табл.3, 4). Расстояние Махаланобиса для устойчивых к стрессу выборок оказалось значительно выше, чем в полных выборках (24,4 и 3,89 соответственно).

Таблица 3

Классификационная таблица дискриминантного анализа, выполненного на признаках морфотипа сеголетков форели

Породные группы форели	Точность классификации (%)	
	полная выборка	выборка устойчивых к стрессу
Радужная	75,86	100,0
Золотая	89,66	100,0
Среднее	82,76	100,0

Таблица 4

Результаты линейного дискриминантного анализа, выполненного на признаках морфотипа сеголетков разных породных групп форели

Показатели	Породные группы форели: радужная, золотая	
	полная выборка	выборка устойчивых к стрессу
Показатели функции дискриминации:		
процент учета дисперсии	100	100
каноническая корреляция, r	0,70*	0,93*
Расстояние Махаланобиса	3,89*	24,4*

* - значимость на уровне $p < 0,05$.

Приведенные примеры иллюстрируют, что заявляемый способ позволяет получить более корректный результат различения сопоставляемых групп породных отводок, значительно увеличить расстояния между сравниваемыми группами в многомерном пространстве морфометрических признаков и тем самым снизить себестоимость получаемого конечного продукта (породной группы) за счет рационального проведения селекции на первом году жизни рыб. Идентификация, проводимая по заявляемому способу, обладает улучшенными свойствами, т.к. учитывает адаптивные свойства сравниваемых рыбных популяций. Введение методов идентификации по комплексу признаков морфотипа, учитывая оценку стрессоустойчивости, позволит

увеличить эффективность проведения селекционно-племенных работ.

Изложенные выше сведения свидетельствуют о том, что способ идентификации видов и пород рыб по заявленному изобретению относится к селекционно-племенному рыбоводству и может быть использован при проведении селекционно-генетических исследований, направленных на создание и сохранение новых селекционных достижений, коллекционного фонда особо ценных видов рыб и систематологических исследований естественных популяций ихтиофауны.

Для заявленного способа в том виде, как он охарактеризован в независимом пункте изложенной формулы изобретения, подтверждена возможность его осуществления с помощью описанных в заявке средств и методов.

Следовательно, заявленное изобретение соответствует условию "промышленная применимость".

Формула изобретения

1. Способ идентификации видов и пород рыб, включающий промер комплекса морфометрических признаков и проведение классификационного анализа по морфотипу, отличающийся тем, что рыб на первом году жизни предварительно подвергают воздействию стрессового фактора - гипоксии, которую проводят путем выдерживания сеголетков рыб в емкости с водой, изолируя их от контакта с поверхностным слоем воды, при плотности посадки 150-300 г/л и температуре 16-18°C в течение 3-4 ч до гибели чувствительных к стрессу рыб в количестве 20-25% от числа посаженных, а для классификационного анализа используют выборку рыб, отобранную по выживаемости после стрессового воздействия.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что изоляцию рыб от поверхностного слоя воды осуществляют путем установки решетки на глубине 3-5 см от поверхности воды.