

На правах рукописи



ВИНОГРАДОВ
Евгений Владимирович

**СТРЕССОУСТОЙЧИВОСТЬ КАРПА (*CYPRINUS CARPIO*, L.)
В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ И ЕЕ ВЛИЯНИЕ
НА РЫБОВОДНО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

03.02.06 – ихтиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2021 г.

Работа выполнена в Филиале по пресноводному рыбному хозяйству Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» («ВНИИПРХ»), пос. Рыбное

Научный руководитель: **Симонов Владимир Михайлович**
кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, главный специалист лаборатории генетики и селекции рыб Филиала по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»)

Официальные оппоненты: **Пронина Галина Иозеповна**
доктор биологических наук, профессор кафедры аквакультуры и пчеловодства Российского государственного аграрного университета – МСХА имени К.А. Тимирязева

Лабенец Александр Владиславович
кандидат биологических наук, заведующий лабораторией воспроизводства и селекции рыб ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста»

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии развития им. Н.К. Кольцова Российской академии наук, г. Москва

Защита состоится 26 мая 2021 г. в 15⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 307.004.04 при Федеральном государственном бюджетном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГБНУ «ВНИРО») по адресу: г. Москва, ул. Верхняя Красносельская, д. 17.

Телефон: 8-499-264-90-90, электронный адрес kzh@vniro.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «ВНИРО»: http://www.vniro.ru/files/disser/2021/vinogradov_disser.pdf

Автореферат разослан «__» апреля 2021 г.

Ученый секретарь диссертационного совета, кандидат биологических наук



Жукова
Кристина Алексеевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Стресс у рыб одна из наиболее острых проблем современной аквакультуры. Интенсификация процессов выращивания повлекла за собой новые проблемы, связанные с резким изменением условий содержания рыб и совершенно непривычными для них стрессовыми факторами (Привезенцев, Власов, 2007). Это связано с выращиванием рыб в течение длительного времени в индустриальных условиях, в садках и бассейнах, в установках с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ), в прудах при повышенной плотности посадки и др.

Для снижения отрицательных последствий стресса необходим новый подход к разведению рыб – адаптивный, предусматривающий новую стратегию и тактику выращивания объектов аквакультуры и обеспечивающий не только реализацию продуктивных возможностей организма, но и повышение его адаптивных способностей, и в целом жизнеспособности (Илясов, Симонов, 1997).

Жизнеспособность рыб относится к количественным признакам с полигенным наследованием (Мазер, Джинкс, 1985). Высокопродуктивные породы рыб, как правило, имеют невысокую устойчивость к неблагоприятным факторам среды, что является результатом как длительной селекции на повышение продуктивности, так и снижения уровня гетерозиготности (Катасонов, Гомельский, 1991).

Существуют два подхода к решению задачи, которая возникает вследствие негативного влияния стресса на рост и выживаемость гидробионтов. Один из них - создание форм, обладающих наследственно обусловленными повышенными адаптационными характеристиками в условиях воздействия различных неблагоприятных факторов. Второй подход заключается в выборе на ранних стадиях онтогенеза особей, семей или групп с повышенной стрессоустойчивостью и использовании их в товарном выращивании (Гмыря, 1986; Гмыря, Мустаев, 1989; Симонов, 1999).

Настоящая работа посвящена изучению свойств и характеристик семейных групп карпа, выбранных по показателю выживаемости личинок для рыбохозяйственного использования. Ее актуальность для рыбного хозяйства определяется тем, что селекционная работа должна быть направлена как на повышение адаптивных, так и продукционных характеристик рыб. Выбор семей карпа по показателю устойчивости к стрессу уже на ранних этапах онтогенеза позволяет отобрать лучшие из них, которые будут обладать быстрым ростом и выживаемостью на первом и втором году жизни.

Цель и задачи исследования. Цель настоящей работы заключалась в изучении биологических и рыбохозяйственных характеристик семей карпа, проявивших на ранних стадиях онтогенеза повышенную устойчивость к стрессовому воздействию.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи:

- 1) изучить устойчивость личинок карпа из разных семей к влиянию стрессового фактора.
- 2) изучить активность питания личинок и ее связь с уровнем стрессоустойчивости семьи.
- 3) изучить рыбохозяйственные свойства стрессоустойчивых семей карпа, после выращивания их в прудах до двухлетнего возраста.
- 4) изучить морфометрические характеристики сеголеток и двухлеток из семей, проявивших повышенную устойчивость к стрессовому воздействию в личиночном периоде развития.
- 5) изучить выживаемость в условиях дефицита кислорода у сеголеток карпа из семейных групп, отобранных по устойчивости к стрессу во время раннего онтогенеза.
- 6) изучить изменения биохимических показателей крови и слизи под действием стресса у годовиков из семейных групп, отобранных по выживаемости во время личиночного периода развития.

Научная новизна. Впервые в селекции рыб предложен подход для осуществления семейного отбора, основанный на выявлении устойчивых к стрессу семей на личиночных стадиях развития. Впервые изучены рыбоводные и биологические свойства таких семей. В частности, показано, что семьи карпа, обладающие в раннем возрасте высокой устойчивостью к стрессовому воздействию, проявляют повышенные продуктивные свойства (скорость роста и выживаемость) при выращивании их в прудах на первом и втором году жизни, однако они имеют меньшую устойчивость к дефициту кислорода. Впервые были получены материалы по изменчивости некоторых биохимических параметров крови и слизи годовиков карпа, которые позволяют определить механизмы формирования у рыб устойчивости к стрессу.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Результаты работы открывают новые пути повышения эффективности рыбного хозяйства. В условиях аквакультуры получены результаты, которые способствуют совершенствованию способов отбора, направленных на повышение адаптивных способностей и, как следствие, продуктивности и выживаемости карповых рыб. Отработаны физиолого-биохимические параметры, которые могут служить критериями оценки стрессоустойчивости объектов выращивания.

Материалы, полученные при подготовке диссертационной работы, легли в основу разработки нового способа селекции рыб – «Способ селекции карповых рыб» (Патент на изобретение RU 2494617 C1, 10.10.2013. Заявка №2012120067/13 от 16.05.2012).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Обезвоживание личинок – адекватный фактор, который позволяет уже на ранних стадиях онтогенеза объективно разделить семьи карпа по их устойчивости к стрессовому воздействию.

2. Повышенная устойчивость личинок карпа к стрессу сопряжена с их лучшим ростом и выживаемостью при выращивании в прудах на первом и втором году жизни.

3. Различия между семьями по продукционным показателям в конце выращивания могут определяться низким откликом организма на стрессовое воздействие.

Личный вклад автора. Автором были поставлены цель и задачи исследования, проведены эксперименты, выполнена статистическая обработка собранных данных, проанализированы полученные результаты, сделаны выводы. Весь материал по изучению стрессоустойчивости карпа в раннем онтогенезе и ее влиянию на рыбоводно-биологические характеристики был собран с сентября 2011 года по декабрь 2019 года. и обработан автором самостоятельно.

Реализация и внедрение результатов исследования. На основании проведенных исследований получен Патент РФ №2494617 С1 МПК А01К61/00 (2006.01); 2013. «Способ селекции карповых рыб».

Апробация работы. Результаты работы были доложены: на 3-й Международной конференции молодых ученых NACEE. Санкт-Петербург, 12-13 сентября 2011 г.; на 2-й Международной научной конференции «Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб». Санкт-Петербург, ФГБНУ «ГосНИОРХ», 16-18 апреля 2013 г.; на Всероссийской научно-практической конференции «Аквакультура сегодня». Москва, 4 февраля 2015 г.; на Международной конференции Aquaculture Europe, 2019. Berlin, Germany, October 7-10, 2019; на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Новейшие генетические технологии для аквакультуры». Москва, 29-31 января 2020 года; на IV Международной научной конференции «Генетика и биотехнология XXI века: проблемы,

достижения, перспективы» (к 55-летию основания Института генетики и цитологии НАН Беларуси). Минск, 3-4 ноября 2020 года.

Публикации. По результатам исследований опубликовано 15 печатных работ, 4 из них в журналах, рекомендованных ВАК.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 137 страницах машинописного текста, включает 59 таблиц и 26 рисунков. Список литературы – 187 источников. Диссертация состоит из следующих разделов: «Введение», «Обзор литературы» (глава 1), «Материал и методика» (глава 2), четырех глав, отражающих результаты исследований (3-6), «Заключение», «Выводы», «Список использованной литературы».

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю канд. биол. наук Владимиру Михайловичу Симонову за ценные советы и помощь в работе. Автор благодарит коллективы сотрудников Филиала по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ») лаборатории генетики и селекции рыб, лаборатории ихтиопатологии, а также сотрудников опытного селекционно-племенного хозяйства «Якоть» (ОСПХ «Якоть») за помощь в выполнении рыбоводных работ.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В первой главе представлен обзор литературы, отражающий следующие проблемы: стресс у рыб, общие понятия; биохимические механизмы стрессовой реакции; основные стресс-факторы в рыбном хозяйстве; генетические предпосылки повышения устойчивости организмов к действию факторов среды; способы и методы повышения стрессоустойчивости у рыб.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Объекты исследований. Работа выполнена в лаборатории генетики и селекции рыб «ВНИИПРХ» и на ОСПХ «Якоть», расположенном в поселке Рыбное Дмитровского городского округа Московской области.

Материалом для работ служили производители, икра, личинки, сеголетки, годовики и двухлетки отводок среднерусского карпа – загорская и составная отводка ЗУ-НК (загорско-украинская на нивско-курскую) из племенного стада ОСПХ «Якоть». Схема работ представлена на рисунке 1.

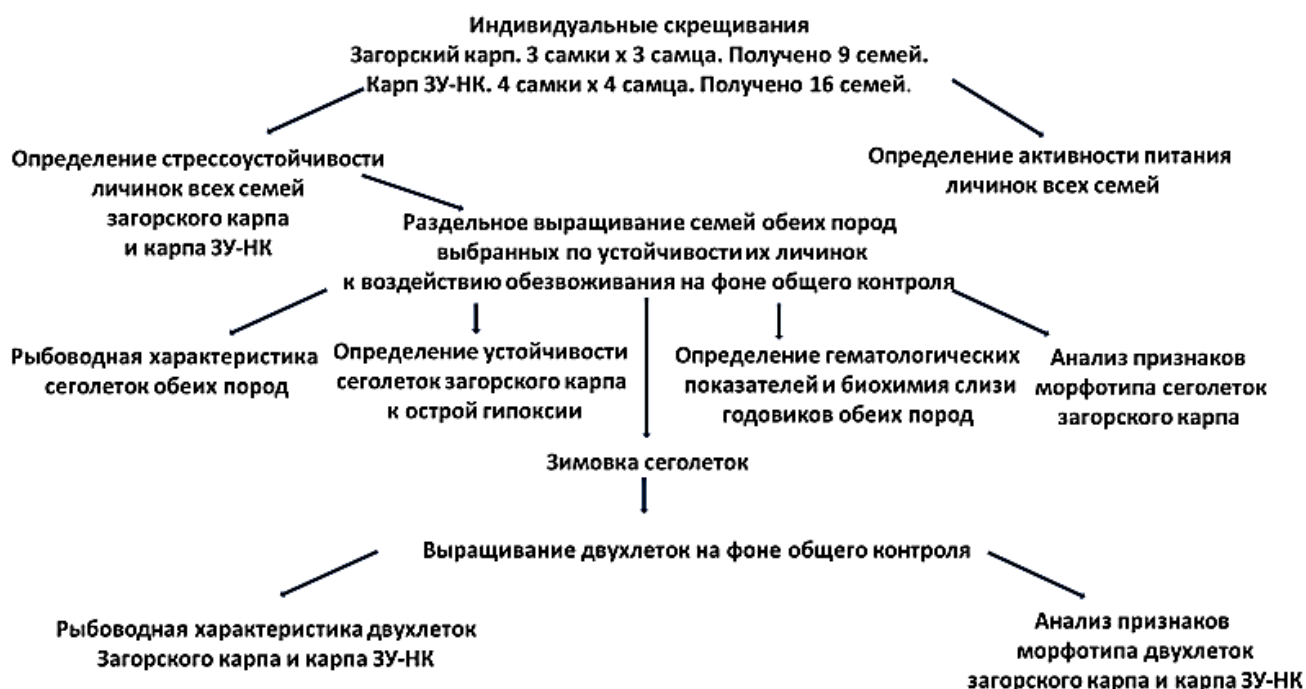


Рисунок 1 – Схема исследований рыбоводно-биологических характеристик семей карпа

Методы. Половые продукты получали, оплодотворяли и инкубировали по стандартным методикам заводского воспроизводства карпа (Инструкция по племенной работе..., 1982).

Рыб скрещивали по полной диаллельной схеме. В работе использовали 3 самки (номера 5, 7 и 9) и 3 самца (5, 7 и 9) загорского карпа и 4 самки (номера 22, 33, 55 и 66) и 4 самца (1, 2, 3 и 4) карпа ЗУ-НК. Таким образом, получено 9

семей загорского карпа и 16 семей карпа ЗУ-НК. Названия семей давали по стандартному принципу: сначала номер самки, затем номер самца (5x5; 66x3 и т.д.).

Чувствительность личинок к обезвоживанию определяли на этапе С₂ личиночного периода развития. Для этого 200 личинок из каждой семьи помещали в емкость, на дне которой располагалась газовая сетка, сетку вместе с личинками извлекали из воды и выдерживали на воздухе при температуре 18°С и 100% влажности в течение 50 минут. По завершении экспозиции личинок возвращали в воду и через 12 часов просчитывали число живых особей. По среднему значению выживаемости личинок в трех повторностях оценивали устойчивость семьи.

Активность питания семей определялась в тот же день, что и чувствительность к обезвоживанию. Личинок помещали в чашку Петри с водой, куда добавляли избыточное количество сухих яиц *Artemia salina*. Через час личинок фиксировали этиловым спиртом. Активность питания определяли по стандартному методу (Яржомбек, Лиманский, 1986), но среднее количество заглоченных яиц считали только у питавшихся личинок (Дементьев, 1998). Семьи оценивали по двум критериям: проценту питавшихся личинок и среднему количеству яиц *Artemia salina*, заглоченных личинкой.

После определения устойчивости личинок к обезвоживанию начинали зарыбление прудов. Семьи с высокой устойчивостью служили опытом (3 семьи загорского карпа и 2 семьи карпа ЗУ-НК). В качестве контрольного варианта использовали посадку в пруды личинок всех семей от диаллельного скрещивания: для загорского карпа 9, для карпа ЗУ-НК - 16 семей.

Каждую опытную семью и контроль выращивали в отдельном пруду в трехкратной повторности, согласно методике выращивания племенных рыб (Инструкция по племенной работе ..., 1982). Чтобы снять влияние среды отдельного пруда на рыбоводные показатели семьи, использовали метод общего контроля (фоновый контроль) (Катасонов и др., 2007). Для этого в каждый пруд к семье карпа подсаживали рыб того же возраста, но имеющих

внешние отличия от испытываемой семьи. В наших работах в качестве рыб общего контроля использовали карасекарповых гибридов.

Двухлеток выращивали следующим образом. В пруд зарыбляли годовиков одной опытной семьи, к ним подсаживали годовиков контрольной группы и общего контроля (фоновый контроль для оценки прудового влияния). Каждую экспериментальную семью выращивали в трехкратной повторности. Скорость весового роста двухлеток определяли при помощи коэффициента массонакопления (Резников и др., 1978), который позволяет нивелировать разницу в начальной массе у рыб из разных семей.

Устойчивость сеголеток к острой гипоксии определяли при температуре 18°C в герметично закрытых емкостях. Сеголеток опытных и контрольных групп тестировали совместно. Определяли время гибели каждой рыбы. LT50 определяли пробит-анализом (Урбах, 1964).

Биохимические параметры крови и слизи у годовиков из устойчивых семей и контроля определяли стандартными методами до и после стрессового воздействия (Лабораторный практикум по болезням рыб, 1983; Лебедева, 2001; Романова, 2005). Рыба была адаптирована к аквариумным условиям и провела в них больше 21 суток до начала работ (Лав, 1976). Стрессором выступало 5-минутное перемешивание воды в аквариуме. Биохимические параметры слизи и крови определяли у голодной рыбы через 40 минут после воздействия стрессора. В крови оценивали количество гемоглобина, число эритроцитов, гематокрит, содержание глюкозы. В слизи исследовали 10 параметров, которые определяли при помощи анализатора Clinitek 50, считывающего показания с тест-полосок Multistix 10 SG. Изменение биохимических показателей организма до и после стрессового воздействия у опыта и контроля определяли, рассчитывая коэффициент реактивности, т.е. отношение изменения показателя параметра биохимической жидкости контроля к изменению этого же параметра у опыта (Дерюгина и др., 2019).

Промеры морфометрических признаков проводили по методике Правдина (Правдин, 1966). Признаки снимали с цифровых фотографий. (Симонов,

Поддубная, 2011). Для сравнения семейных групп по индексам морфометрических признаков применяли дискриминантный анализ с пошаговым включением (Халафян, 2011). Промеры внутренних органов проводили стандартными методами (Картышев и др., 1981).

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили в программе Statistica 8.0, (Вуколов, 2004), а также с помощью электронной таблицы Microsoft Office Excel 2007.

В электронной таблице Microsoft Office Excel 2007, используя формулы предложенные Урбахом (Урбах, 1964), рассчитывали LT50 сеголетков в условиях острой гипоксии. Также определяли связь между временем выживаемости сеголетков в условиях острой гипоксии и выживаемости личинок после обезвоживания.

ГЛАВА 3 ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СЕМЕЙ КАРПА НА РАННИХ СТАДИЯХ РАЗВИТИЯ

Показано влияние производителей на биологические характеристики семейных групп. Определена доля влияния самок и самцов на выживаемость личинок после стрессового воздействия (таблица 1).

Основное влияние на выживаемость личинок после воздействия стрессора оказывают комбинации родительских пар. У загорского карпа сочетание самки и самца на 61,37% описывают выживаемость личинок из семьи. В то время как эффект самки составляет всего 1,51 %, а самца - 2,48%. У карпа ЗУ-НК выживаемость личинок также достоверно определялась сочетанием самки и самца, но лишь на 24,72%. Влияние самки было слабым и составляло 3,16%, а самцы карпа ЗУ-НК определяли выживаемость личинок в семейной группе на 50,62%.

На рисунке 2 показана выживаемость личинок из семей загорского карпа и карпа ЗУ-НК после воздействия обезвоживания.

Таблица 1 - Результаты факторного анализа выживаемости семейных групп карпа после обезвоживания личинок

Группа	Эффект	SS	df	MS	F	p	η^2 , %
Загорская	Самка	109,82	2	54,91	0,39	>0,05	1,51
	Самец	180,54	2	90,27	0,64	>0,05	2,48
	Самка*Самец	4452,77	4	1113,19	7,97	<0,001	61,37
	Ошибка	2512,45	18	139,58			
ЗУ-НК	Самка	326,0	3	108,7	1,57	>0,05	3,16
	Самец	5214,0	3	1738,0	25,13	<0,001	50,62
	Самка*Самец	2546,8	9	283,0	4,09	<0,001	24,72
	Ошибка	2212,6	32	69,1			

Примечание: SS –сумма квадратов, df – число степеней свободы, MS –средний квадрат, F – критерий Фишера, p – вероятность, η^2 , % - доля влияния фактора

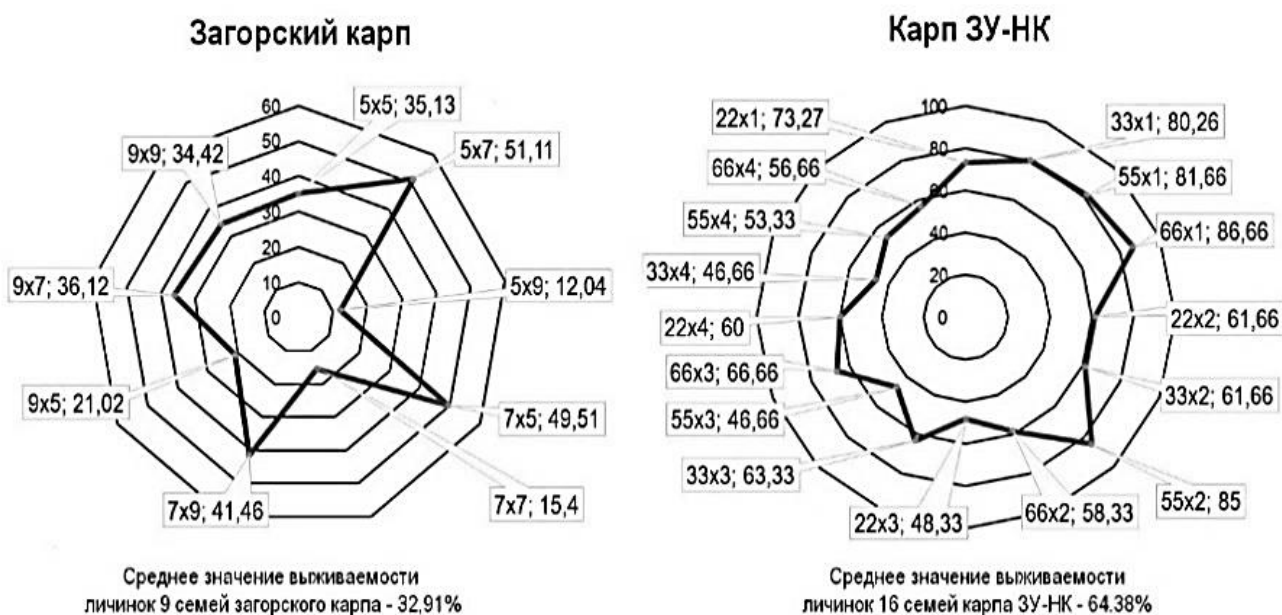


Рисунок 2 – Выживаемость личинок семей загорского карпа и семей карпа ЗУ-НК, % после воздействия обезвоживания

Коэффициент вариации выживаемости личинок семей загорского карпа после обезвоживания равен 50,75, а для личинок семей карпа ЗУ-НК, 22,09.

Размах показателя выживаемости личинок загорского карпа менялся от 12,04 до 52,74%. У личинок карпа ЗУ-НК - от 46,66 до 85,00%.

Различия между семьями по показателю выживаемости личинок после обезвоживания позволили из 9 семей загорского карпа выбрать в качестве опыта 3 (5x5,7x5 и 7x9), имевших выживаемость личинок на 8,55-31,81% выше среднего значения, а из 16 семей карпа ЗУ-НК выбрать 2 (55x2 и 66x1), которые имели выживаемость личинок на 24,65-34,60% выше среднего значения.

Во время оценки семей карпа по устойчивости личинок к обезвоживанию, сравнивали все полученные семьи по активности питания личинок. Установлено, что различия семей по показателям активности питания личинок достоверно определяются комбинацией производителей. Процент питавшихся личинок определяется этим фактором на 25,6 %, а среднее количество заглоченных личинкой яиц *Artemia salina* - на 26,31%. Также на активность питания семей оказывает влияние фактор самки по количеству питавшихся личинок на 20,58%, по количеству проглоченных яиц на 27,49% (таблица 2).

Семьи отличаются по показателям активности питания личинок. Связь между показателями питания личинок и их выживаемостью после обезвоживания были разнонаправленными и статистически недостоверными, - минус 0,12 и –минус 0,25 ($p > 0,05$), соответственно.

Результаты исследования показали высокую изменчивость выживаемости личинок из семейных групп в условиях стресса, что позволило выделить устойчивые и чувствительные к действию фактора семьи.

Показано достоверное влияние комбинации самок и самцов на уровень стрессоустойчивости личинок семей. У загорского карпа доля влияния комбинации производителей составляет 61,37%, у карпа ЗУ-НК – 24,72%.

Результатами работы показано, что корреляционная зависимость между показателями устойчивости семейных групп к обезвоживанию и показателями питания (количества питавшихся личинок и интенсивностью питания) не достоверна.

Таблица 2 – Результаты факторного анализа активности питания личинок из семей загорского карпа

Показатель	Эффект	SS	df	MS	F	p	η^2 , %
Доля питавшихся личинок, %	Самка	1271,4	2	635,7	6,5	<0,001	20,6
	Самец	691,7	2	345,8	3,5	<0,05	11,2
	Самка*Самец	1581,6	4	395,4	4,1	<0,05	25,6
	Ошибка	2631,7	27	97,5			
Среднее кол-во яиц, заглоченных личинкой, шт.	Самка	11,6	2	5,8	9,1	<0,001	27,5
	Самец	2,3	2	1,15	1,8	>0,05	5,4
	Самка*Самец	11,1	4	2,8	4,4	<0,01	26,3
	Ошибка	17,3	27	0,6			

Примечание: см. табл.1.

ГЛАВА 4 РЫБОВОДНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СЕМЕЙ ПРИ ПРУДОВОМ ВЫРАЩИВАНИИ

Результаты выращивания сеголеток загорского карпа показывают явное превосходство устойчивых к обезвоживанию семей над контролем по всем изученным рыбохозяйственным характеристикам (таблица 3).

Для опытных семей карпа ЗУ-НК рыбопродуктивность в прудах колебалась от 82,04 кг/га до 217,62 кг/га, а в контроле -178,92 кг/га.

Двухлетки всех семей загорского карпа не имели достоверных различий ни в средней массе, ни в выживаемости. Это связано с низким темпом роста и выживаемостью семьи 7х9, показатели которой были ниже, чем у контроля. Однако, две другие семьи, по сравнению с контролем, имели преимущество по конечной массе в конце выращивания на 12%. Выявлены достоверные различия между семьями по показателю коэффициента массонакопления: у опытных семейных групп загорского карпа он равен 0,20, у контроля – 0,18. Двухлетки из опытных семей загорского карпа по приросту массы тела на 10% опережали контрольную группу.

Таблица 3 – Рыбоводные показатели сеголеток опытных семей и контроля

Семья	Средняя масса, г*	Выживаемость, %*	Рыбопродуктивность, кг/га*
Загорский карп			
5x5	<u>35,30±0,29</u> 34,7-35,60	<u>62,04±5,17</u> 55,50-72,20	<u>775,45±75,30</u> 693,70-925,90
7x5	<u>32,42±0,41</u> 31,90-33,30	<u>42,50±4,47</u> 35,60-50,90	<u>488,97±45,06</u> 409,30-565,30
7x9	<u>36,08±1,61</u> 33,70-39,20	<u>45,60±2,49</u> 42,10-50,40	<u>592,38±41,55</u> 509,80-642,00
Среднее по опытным семьям	<u>34,6±0,74</u> 31,90-39,20	<u>50,05±3,69</u> 35,60-72,20	<u>618,93±50,39</u> 409,30-925,90
Контроль	<u>31,79±1,18</u> 29,60-33,70	<u>26,79±2,56</u> 21,80-30,10	<u>297,6±17,83</u> 264,00-324,90
Карп ЗУ-НК			
55x2	<u>136,93±6,38</u> 126,90-148,80	<u>3,72±0,65</u> 2,80-4,90	<u>82,04±6,07</u> 72,00-93,00
66x1	<u>124,71±10,61</u> 110,40-145,50	<u>15,46±5,77</u> 5,30-25,30	<u>217,62±49,25</u> 148,20-312,90
Среднее по опытным семьям	<u>130,82±6,17</u> 110,40-148,80	<u>9,59±3,69</u> 2,80-25,30	<u>149,83±37,57</u> 72,00-312,90
Контроль	<u>214,61±71,28</u> 133,90-356,70	<u>3,54±1,85</u> 0,890-7,11	<u>178,92±75,42</u> 29,70-272,70

Примечание: * - Данные после корректировки по фоновому контролю; над чертой средняя арифметическая ± ошибка средней арифметической, под чертой – пределы варьирования показателя.

Двухлетки ЗУ-НК не имеют различий между семьями по таким показателям, как средняя масса и выживаемость. Результаты дисперсионного

анализа не выявили достоверных различий по этим показателям. В то же время, достоверные различия обнаружены в коэффициенте массонакопления (у опытных семей карпа ЗУ-НК он равен 0,20, у контроля – 0,17). Двухлетки из опытных семей карпа ЗУ-НК по приросту массы тела на 15% опережали контрольную группу (таблица 4).

Исходя из полученных результатов, можно предположить, что повышенная устойчивость к стрессу семей карпа в период личиночного развития сопряжена с лучшим ростом и выживаемостью в прудовых условиях на первом и втором годах жизни.

В результате дискриминантного анализа индексов с пошаговым включением переменных была построена модель, в которую вошли 10 из 19 пластических признаков сеголеток загорского карпа. Согласно проведенному анализу, сеголетки из опытных семей и контрольной группы достоверно различаются по морфометрическим признакам.

На первом году жизни наибольшее расстояние Махаланобиса (D_M) выявлено между центроидами выборок, характеризующих семьи 7x5 и 7x9 - $D_M = 11,3$ (; $F=23,5$; $p<0,05$). Наименьшее расстояние Махаланобиса было между семьей 5x5 и контролем - $D_M = 1,27$ ($F=2,4$; $p<0,05$). Выживаемость в раннем онтогенезе для семейных групп 7x5, 7x9 и контроля равна 52,74%, 41,46% и 32,91%. Расстояния Махаланобиса между семьями 7x5 - контроль и 7x9 - контроль соответственно равны 3,52 и 7,98. В тоже время семья с наименьшей выживаемостью личинок при обезвоживании среди опыта, то есть 5x5 (выживаемость личинок 35,13%) была удалена от контроля на расстоянии 1,27.

На второй год выращивания достоверные различия по комплексу морфометрических признаков рыб из разных семей загорского карпа сохранились. Тем не менее, точность классификации групп снизилась. В каноническом пространстве облака распределения этих групп пересекаются между собой.

Таблица 4 – Рыбоводные показатели двухлетокопытных групп и контроля

Семья	Средняя масса, г		Выживаемость, %	КМ
	Годовики, г	Двухлетки, г		
Загорский карп				
5x5	$\frac{26,65 \pm 2,75}{23,90-29,40}$	$\frac{1040 \pm 3,00}{1010-1080}$	$\frac{80,43 \pm 19,56}{60,80-100,00}$	$\frac{0,23 \pm 0,006}{0,23-0,25}$
7x5	$\frac{57,65 \pm 2,55}{55,10-60,20}$	$\frac{1060 \pm 40}{1020-1120}$	$\frac{68,65 \pm 4,26}{64,30-72,90}$	$\frac{0,21 \pm 0,00}{0,20-0,22}$
7x9	$\frac{27,55 \pm 1,55}{26,00-29,10}$	$\frac{470 \pm 190}{280-660}$	$\frac{55,15 \pm 31,39}{23,80-86,50}$	$\frac{0,15 \pm 0,03}{0,12-0,18}$
Среднее по опытным семьям	$\frac{37,28 \pm 17,64}{23,90-60,20}$	$\frac{860 \pm 90}{280-1120}$	$\frac{68,08 \pm 18,40}{23,80-100,00}$	$\frac{0,20 \pm 0,00}{0,12-0,25}$
Контроль	$\frac{56,07 \pm 8,85}{42,80-66,60}$	$\frac{880 \pm 120}{380-1150}$	$\frac{81,63 \pm 10,58}{31,20-100,00}$	$\frac{0,18 \pm 0,01}{0,12-0,21}$
Карп ЗУ-НК				
55x2	$\frac{65,63 \pm 10,50}{58,20-73,00}$	$\frac{969,5 \pm 96,65}{870-1070}$	$\frac{81,50 \pm 7,55}{74,60-88,20}$	$\frac{0,19 \pm 0,01}{0,19-0,20}$
66x1	$\frac{42,76 \pm 0,39}{42,50-43,00}$	$\frac{947,8 \pm 14,82}{930-960}$	$\frac{70,4 \pm 30,54}{40,20-100,00}$	$\frac{0,21 \pm 0,01}{0,2-0,22}$
Среднее по опытным семьям	$\frac{54,19 \pm 14,53}{42,50-73,00}$	$\frac{958,56 \pm 55,74}{870-1070}$	$\frac{75,93 \pm 13,23}{68,40-84,40}$	$\frac{0,20 \pm 0,04}{0,19-0,22}$
Контроль	$\frac{91,49 \pm 16,69}{79,70-103,30}$	$\frac{941,9 \pm 73,12}{870-1020}$	$\frac{79,00 \pm 13,00}{66,60-91,20}$	$\frac{0,17 \pm 0,01}{0,20-1,80}$

Примечание: см. табл.3

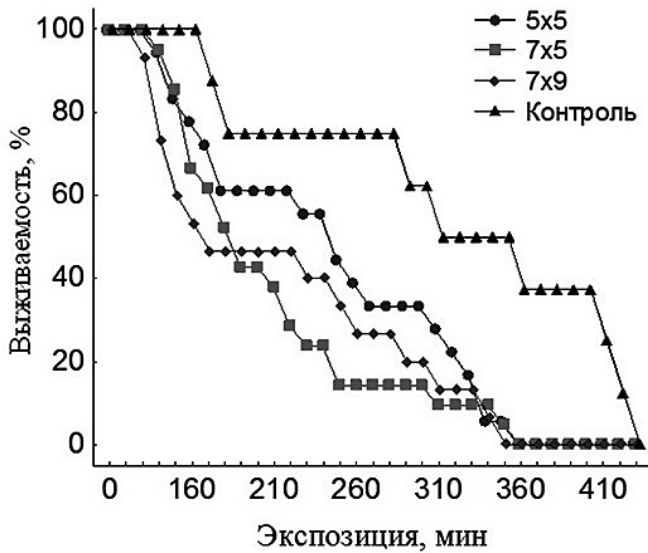
Дискриминантный анализ морфотипа двухлеток из семейных групп карпа ЗУ-НК показал, что признаков, дифференцирующих опытные семьи 55x2 и 66x1, нет, а расстояние Махаланобиса между этими группами равно 0,33 ($F=0,81$; $p>0,05$). Также нет различий между группой 55x2 и контролем ($D_M=0,88$; $F=2,16$; $p>0,05$) Достоверные различия выявлены только между семьей 66x1 и контролем ($D_M=1,2$; $F=2,97$; $p<0,05$).

Сравнивая оценки устойчивости семей к обезвоживанию, можно сказать о том, что с ростом устойчивости к обезвоживанию личинок семейных групп загорского карпа на ранних стадиях развития в многомерном пространстве увеличивается расстояние Махаланобиса между сеголетками исследованных семей карпа. Для двухлеток загорского карпа различия сохранялись. Тем не менее, в многомерном пространстве морфометрических признаков точность разделения между опытными семьями и контролем снижалась. Между семьями двухлетков карпов ЗУ-НК не обнаружено различий по морфотипу.

Для двухлеток загорского карпа и двухлеток карпа ЗУ-НК не определены различия по параметрам внутренних органов. Тем не менее, двухлетки опытных семейных групп загорского карпа достоверно отличаются от контроля по коэффициенту упитанности.

ГЛАВА 5 УСТОЙЧИВОСТЬ СЕМЕЙ КАРПА К ДЕФИЦИТУ КИСЛОРОДА

Проводили оценку устойчивости опытных и контрольных семей загорского карпа к воздействию острой гипоксии. Показана тенденция, что семьи, устойчивые к обезвоживанию в личиночный период развития, в возрасте сеголетка имеют низкую устойчивость к острой гипоксии. Результаты оценки устойчивости сеголеток к острому дефициту кислорода представлены на рисунке 3.



Семья	LT50, мин
5x5	216,2 ± 1,2
7x5	181,4 ± 1,4
7x9	181,4 ± 1,4
Контроль	266,5 ± 1,1

Рисунок 3 – LT50 сеголеток карпа опытных семей и контроля в условиях острой гипоксии

Устойчивость личинок семей карпа к воздействию обезвоживания имеет обратную связь с устойчивостью сеголеток к гипоксии (Рисунок 4).

В наших исследованиях показано, что продуктивность и рост сеголеток карпов исследуемых семей в прудах имеет отрицательную тенденцию с устойчивостью рыб к острой гипоксии. Коэффициент корреляции между показателем устойчивости сеголеток карпа к острой гипоксии (LT50) и средней массой сеголеток, их выживаемостью и рыбопродуктивностью равен, соответственно, $r = -0,51$; $-0,59$ и $-0,50$. Все коэффициенты статистически недостоверны $p > 0,05$.

Различия во времени выживаемости сеголеток карпа, видимо, связаны с разницей в интенсивности обмена у сеголеток опытных и контрольных семей, поскольку скорость адаптации к стрессору зависит от интенсивности метаболизма (Мелехов, 1983; Гуляева, 1989).

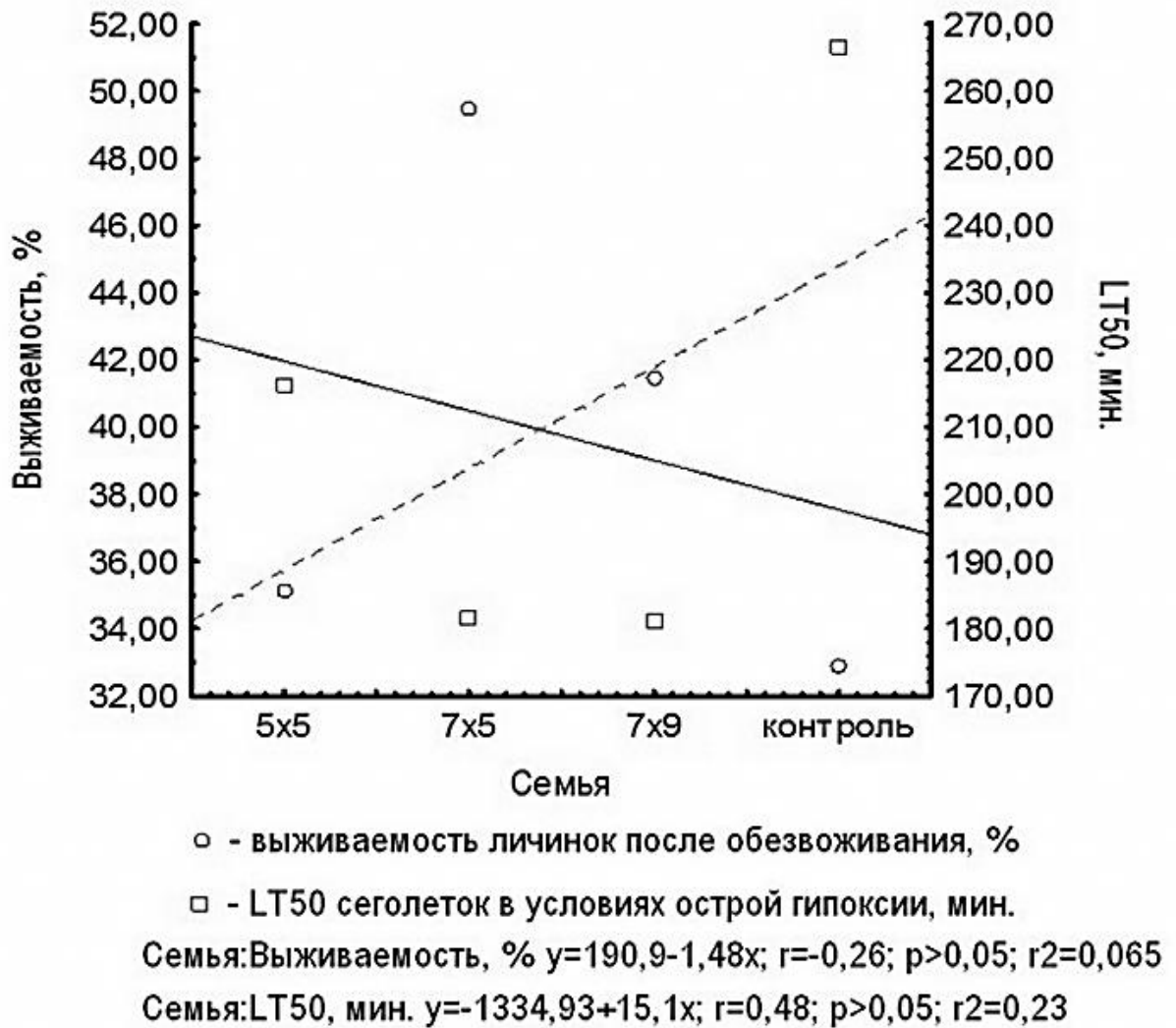


Рисунок 4 – Связь между временем выживаемости сеголеток в условиях острой гипоксии и выживаемостью личинок после обезвоживания

При высоком уровне метаболизма выше приспособляемость организма рыб к хроническому недостатку кислорода в воде, но при острых воздействиях стрессора развитие повреждений происходит быстрее. И, наоборот, при низкой интенсивности обмена, повреждения развиваются медленнее, но и медленнее происходит формирование приспособляемости у рыб к дефициту кислорода (Михайленко, 2002).

Можно предположить, что опытные семьи имеют более высокий уровень обмена веществ по сравнению с контролем. Косвенно это подтверждают результаты рыбоводных опытов. Например, семьи с повышенной устойчивостью к стрессирующему фактору на ранних стадиях развития имеют

преимущество перед контролем как по выживаемости в прудах, так и по скорости роста.

ГЛАВА 6 ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ И СЛИЗИ ПОД ДЕЙСТВИЕМ СТРЕССА У ГODOVIKOB KAPPA

Изменение физиологического статуса организма рыб выражается в изменении состава биологических жидкостей, и в первую очередь слизи и крови (Лебедева, 2001), позволяет оценить физиологическое состояние организма по биохимическому составу биологических жидкостей (Лебедева, Головкина, 1990).

У годовиков карпа ЗУ-НК и загорского карпа из опытных семейных групп и контроля проведена оценка изменений биохимических параметров крови и слизи до и после воздействия стрессового фактора.

В качестве характеристики интенсивности (скорости) изменения биохимических процессов при стрессе определяли их реактивность в опытных группах относительно контрольных рыб в интактном и стрессированном состоянии.

Коэффициенты реактивности, отражающие различия силы ответа биохимических параметров между опытом и контролем для годовиков карпа ЗУ-НК и для загорского карпа, представлены в таблицах 5-6.

Известно, что повышение содержания эритроцитов в слизи и глюкозы в крови рыб являются показателями стрессовой реакции организма (Романова, 2005). Так, чем ниже у рыб из семьи изменения показателя биохимических параметров в ответ на стрессор, тем выше способность этих рыб переносить стресс. Обнаруженная устойчивость годовиков карпа семейных групп к действию стресса открывает возможность для успешного проведения селекции на улучшение адаптивных характеристик рыб, используя в качестве критерия отбора оценку выживаемости в раннем онтогенезе.

Таблица 5 – Показатели слизи и крови годовиков карпа ЗУ-НК опытных и контрольной групп до и после стрессового воздействия

Показатель	Группа				KR
	Опыт до стресса	Опыт стресс	Контроль до стресса	Контроль стресс	
Концентрация глюкозы в слизи, мг/дл	нет	0,37±0,18	нет	1,31±0,61	3,54
Концентрация глюкозы в крови, мг/дл	47,58±2,44	89,01±6,13	53,28±7,42	133,20±6,85	1,34
Кол-во эритроцитов в слизи, шт./мл	78,00±14,99	157,90±13,23	95,50±20,32	231,81±13,93	1,20

Примечание: KR – коэффициент реактивности

Таблица 6 – Показатели слизи и крови годовиков загорского карпа опытных и контрольной групп до и после стрессового воздействия

Показатель	Группа				KR
	Опыт до стресса	Опыт стресс	Контроль до стресса	Контроль стресс	
Кол-во эритроцитов в слизи, шт./мл	54,72±16,94	38,07±10,88	25,00±10,67	38,00±9,16	2,18
Концентрация глюкозы в крови, мг/дл	26,20±2,39	32,65±4,57	27,50±4,92	45,60±6,64	1,33

Примечание: см. табл. 5.

Исходя из полученных результатов, можно сказать, что рыбы из семейных групп, которые имели высокую устойчивость к обезвоживанию в личиночном периоде развития, обладают менее выраженной реакцией на стресс в годовалом возрасте.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Отбор семей карпа, устойчивых к стрессовому воздействию на ранних стадиях онтогенеза, является новым подходом в семейной селекции рыб. Семейные группы с высокой устойчивостью к обезвоживанию личинок имеют преимущества по рыбохозяйственным характеристикам на первом и втором годах жизни. Их использование позволяет повысить рыбопродуктивность прудов и более рационально использовать рыбные ресурсы в условиях первой зоны рыбоводства. Результаты диссертационной работы могут способствовать обеспечению отечественных рыбоводных предприятий высококачественным племенным материалом. Использование этого подхода в племенной работе с карповыми рыбами позволит проводить оценку производителей по потомству без задействования большого количества выростных площадей за счет выбраковки семей с низкой устойчивостью к стрессу в личиночном периоде развития.

ВЫВОДЫ

1. На ранних стадиях развития рыб наблюдается высокая изменчивость показателя выживаемости личинок семейных групп в условиях стресса, что создает условия для проведения селекционных работ.

2. Связь между выживаемостью личинок семейных групп карпа при стрессовом воздействии и активности питания личинок не установлена: активность питания личинок не зависит от уровня стрессоустойчивости семейных групп карпа.

3. Семьи, обладающие лучшей устойчивостью к стрессу в личиночном периоде развития, проявляют более высокие рыбоводные качества (скорость роста и выживаемость) в возрасте сеголеток и двухлеток.

4. Семейные группы с высокой стрессоустойчивостью в личиночном периоде, на первом году жизни достоверно отличаются по комплексу морфометрических признаков от семей с низкой стрессоустойчивостью.

5. Стрессоустойчивость семейных групп в ранних периодах развития не связана с характеристиками выживаемости сеголеток в условиях острой гипоксии.

6. Годовики из семей с повышенной устойчивостью к обезвоживанию личинок слабее реагируют на стрессовое воздействие, что проявляется в изменении биохимических показателей слизи и крови.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Симонов В. М., Виноградов Е. В. Отбор карпа *Cyprinus carpio* (L.) по выживаемости и продуктивности с помощью оценки рыб на личиночной стадии развития // Вопросы рыболовства. – Т.13. – № 3(51). – 2012. – С. 616-625.

2. Виноградов Е. В., Симонов В. М. Использование отбора по стресс устойчивости при создании высокопродуктивных пород карпа // Рыбоводство и рыбное хозяйство. – № 2(122). – 2016. – С.40-43.

3. Виноградов Е. В., Симонов В. М. Изменение биохимических параметров слизи и крови у рыб, устойчивых к стрессу // Вестник рыбохозяйственной науки. –Т.5. –№2(18) апрель. –2018. –С.24-33.

4. Симонов В.М., Виноградов Е.В. Зависимость морфологических особенностей карпа *Cyprinus carpio* (L.) от его устойчивости к воздействию неблагоприятных условий среды// Вестник рыбохозяйственной науки. – Т.6. - № 1 (21). – 2019. – С. 16-27.

Работы, опубликованные в других изданиях

1. Беломестных И. М., Симонов В. М., Виноградов Е. В. Селекция карпа на стрессоустойчивость. Материалы конференции «Инновации в науке и образовании – 2010». Калининград 19-21 октября 2010 года. С. 99-101.
2. Виноградов Е. В. Содержание эритроцитов в кожной слизи карпов, отобранных на устойчивость к неблагоприятным факторам среды. Вестник Государственной Полярной Академии. № 1, 2011. С. 40.
3. Виноградов Е. В., Романова Н. Н., Симонов В. М. Показатели крови карпов, отобранных по устойчивости к неблагоприятным факторам. Тезисы IV международной научно-практической ихтиологической конференции «Современные проблемы теоретической и практической ихтиологии». Одесский национальный институт им. И. И. Мечникова. 7-11 сентября 2011 года. С. 53-56.
4. Симонов В. М., Виноградов Е. В. Способ селекции карповых рыб. Патент 2494617 Рос. Федерация: МПК А01К61/00. Заявитель и патентообладатель ФГУП «ВНИИПРХ». № 2012120067/1; заявл. 16.05.2012; опубл. 10.10.2013. Бюл. № 28.
5. Виноградов Е. В., Симонов В. М. Оценка жизнестойкости рыб как основа селекции на стрессоустойчивость. Материалы докладов 2-й международной научной конференции. «Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб». ГБНУ «ГосНИОРХ». Санкт-Петербург. 16-18 апреля 2013 г. С. 82-84.
6. Симонов В. М., Виноградов Е. В. Характеристика состояния молоди рыб после отбора по выживаемости на ранних стадиях онтогенеза. Материалы докладов 2-й международной научной конференции. «Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб». Санкт-Петербург. ФГБНУ «ГосНИОРХ». 16-18 апреля 2013 г. С. 372-374.

7. Симонов В.М., Виноградов Е.В. Новые методы селекции для создания высокопродуктивных пород карпа //Аквакультура сегодня. Докл. Всероссийской науч.-практ. конф. 4 февраля 2015 г. – М., 2015. – С. 263-267.

8. Симонов В. М., Виноградов Е. В. Проведение селекционных работ на повышение продуктивных показателей линейного карпа. Инновационные решения для повышения эффективности аквакультуры: Материалы Всероссийской научно-практической конференции (Москва, ВВЦ, 5 февраля 2019 г). Том 1. – М.: Издательство «Перо», 2019. С. 364 – 369.

9 Vinogradov E. V., Simonov V. M., Recoubratsky A. V. Selection for Stress Resistance at Early Stages of Development in Common Carp: Aquacultural and Biological Characteristics of Offspring // Aquaculture Europe, 2019 , Berlin, Germany, October 7-10. Our Future Growing from Water. – P. 1593-1594.

10. Виноградов Е.В., Симонов В.М. Эффективность повышения продуктивности рыб за счет отбора по стрессоустойчивости на ранних стадиях развития// Новейшие генетические технологии для аквакультуры: Материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием (Москва, МВЦ «Крокус Экспо», 29 – 31 января 2020 г). – М.: Издательство «Перо», 2020. С. 83-91.

11. Симонов В.М., Виноградов Е.В. Изменчивость биохимических показателей карповых рыб при проведении селекции на устойчивость к стрессу// Сб.н.тр. IV Международной научной конференции «Генетика и биотехнология века: проблемы, достижения, перспективы» (к 55-летию основания Института генетики и цитологии НАН Белоруси). - Минск. – 2020.