



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ РАЗВИТИЯ им. Н.К. КОЛЬЦОВА РАН

ул. Вавилова д. 26, Москва, 119334

Тел.: (499) 135-33-22. Факс (499)135-80-12. E-mail: info@idbras.ru

ОКПО: 02699062 ОГРН 1027700450800 ИНН/КПП 7736044850/773601001

<http://idbras.ru>

«УТВЕРЖДАЮ»

И.О. Директора

Федерального государственного
бюджетного учреждения науки

Института биологии развития
им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН)

д.б.н.

Н.П. Шарова

26 апреля 2021 г.

26.04.2021 № 12506/01-116

На № ИЦН-20 от 22.03.2021



ОТЗЫВ

ведущей организации Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН на диссертационную работу **Виноградова Евгения Владимировича «Стрессоустойчивость карпа (*Cyprinus carpio* L.) в раннем онтогенезе и ее влияние на рыбоводно-биологические характеристики»**, представленную на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.06 – ихтиология

Актуальность исследования.

Основной задачей работы является исследование связи между стрессоустойчивостью семей карпа в личиночном периоде развития и их рыбоводно-биологическими характеристиками в старших возрастах.

Проблема негативных, стрессовых воздействий имеет большое значение при выращивании товарной рыбы, поскольку снижение выживаемости и скорости роста рыбы

снижает продуктивность. Возможность подбора семей карпа, устойчивых к действию отрицательных факторов среды с последующим выращиванием таких семей является прикладной задачей рыбоводства, обеспечивает более эффективное использование рыбных ресурсов. Автор достигает поставленной цели, поэтому практическое значение работы Е.В. Виноградова не вызывает сомнений. Используемые соискателем методы выбора стрессоустойчивых семей, их простота и возможность использования в рыбоводных хозяйствах страны, а также положительная связь между устойчивостью к стрессу и продуктивностью определяют актуальность исследований соискателя. В то же время, полученные автором данные по наследуемости стрессоустойчивости и связи стрессоустойчивости личинок с характеристиками более поздних стадий развития могут иметь общебиологическое значение.

Структура и содержание диссертации.

Диссертация изложена на 137 страницах, состоит из Введения, шести глав, Заключения, Выводов и Списка литературы, в котором 187 источников на русском и английском языках. В работе 59 таблиц и 26 рисунков.

В Главе 1 («Обзор литературы») подробно раскрыты такие проблемы, как стресс у рыб, механизмы стрессовой реакции организма рыбы, влияние стрессовых факторов в рыбном хозяйстве, возможности генетического повышения устойчивости рыб к действию негативных факторов среды при помощи селекции, а также существующие способы и методы повышения стрессоустойчивости рыб-объектов аквакультуры. Глава достаточно хорошо охватывает как классические, так и современные работы по теме.

В Главе 2 («Материал и методика») показаны место и сроки проведения работ, объекты и объем исследованного материала, описаны методики экспериментальной работы и анализа данных

В качестве объектов в работе использованы рыбы из двух породных отводок карпа селекционируемого на севере Московской области. Это отводки загорская и ЗУ-НК.

Описано применение методики искусственного воспроизводства карпа, показан принцип получения отдельных семей карпа при диаллельном скрещивании.

Всего за время исследования стрессоустойчивость была исследована на выборке из 17731 личинки карпа из 25 семей. Значение устойчивости личинок семьи определяли по среднему значению выживаемости в трех повторностях для каждой семьи в каждом эксперименте.

Активность питания определяли в экспериментах по кормлению личинок (всего 3919 штук) яйцами *Artemia salina* и подсчета количества заглоченных яиц. Определяли процент питающихся личинок и среднее количество яиц *Artemia salina* заглоченных одной личинкой.

Для определения устойчивости сеголеток карпа к воздействию острой гипоксии использован респирометр, изготовленный на основе аквариума. Устойчивость к острой гипоксии определена для 417 сеголеток. Расчет времени гибели 50% особей проводили по методу пробит-анализа.

Биохимические параметры крови и слизи у годовиков исследуемых семей определяли до и после стрессового воздействия. Всего биохимические показатели были сняты у 128 особей. Динамика изменения параметров биологических жидкостей в спокойном и стрессовом состоянии и разница этих параметров между семьями оценивалась при помощи расчета коэффициента реактивности.

Морфологическое описание сеголеток и двухлеток исследуемых семей проводили по стандартным методикам. Значения морфометрических признаков определяли по цифровым фотографиям. Исследовано 252 сеголетка и 108 двухлеток загорского карпа, 103 двухлетка карпа ЗУ-НК. Различия морфологических признаков определяли с использованием дискриминантного анализа индексов признаков в программе Statistica.

Выращивание материала для рыбоводных экспериментов проводилось в прудах. Семьи держали в отдельных прудах, в трех повторностях для каждой семьи. Плотность посадки составляла 50-60 тысяч штук на гектар. Для получения усредненных значений среды использовали метод общего контроля, в качестве фоновой рыбы при этом использовали личинку карасекарпового гибрида. Значения средней массы рыб, выживаемости и рыбопродуктивности определяли по результатам обловов прудов в конце сезона выращивания. Скорость роста двухлеток рассчитывали, используя коэффициент массонакопления, который позволяет сравнить скорость роста рыб, имеющих разную среднюю массу в начале выращивания и имевших разное время выращивания.

В Главе 3 («Оценка физиологического состояния семейных групп карпа на ранних стадиях развития») показаны объемы полученных половых продуктов и результаты скрещивания производителей загорского карпа и карпа ЗУ-НК. Для каждой семьи приведены проценты оплодотворения икры и проценты вылупления личинок из оболочек, проведен расчет доли влияния самки, самца, а также их сочетания на эти показатели.

Наибольший интерес в этой главе представляют реакция личинок карпа на стресс. Показано, что выживаемость личинок при их извлечении из воды в воздушную среду различается от семьи к семье и зависит от сочетания самки и самца при скрещивании. Процент выживших после стресса личинок загорского колеблется между семьями от $15,4 \pm 3,3$ до $51,1 \pm 5,9$. Показано, что семейная принадлежность личинок определяет их выживаемость на 65%. У личинок карпа ЗУ-НК колебания показателя выживаемости после стрессирования составляют от $46,6 \pm 3,3$ до $86,6 \pm 3,3$ процентов. Семейная принадлежность определяет показатель выживаемости после стрессирования на 78,5 процентов. Автор не делает акцента на возможных генетических объяснениях этого результата (роль аддитивной изменчивости, эпистаза и эпигенетики), что, вероятно, оправдано с учетом специальности, по которой защищается диссертация. Однако эти результаты делают работу особенно интересной не только с прикладной, но и с фундаментальной точки зрения.

Также, в главе приведены результаты оценки активности питания семей исследуемых породных отводок. Показаны достоверные различия активности питания семей загорского карпа и карпа ЗУ-НК. В то же время связь между показателями активности питания личинок и их устойчивостью к стрессу (извлечению из водной среды) статистически недостоверна.

В Главе 4 («Рыбоводная характеристика семей при прудовом выращивании») отражены результаты выращивания семей карпа с разной устойчивостью к стрессовому фактору в личиночном периоде развития в прудах до возраста сеголетка и двухлетка. Продемонстрированы высокие рыбоводные показатели у семей с большей устойчивостью к стрессу личиночном периоде развития. Сеголетки из семей с высокой устойчивостью обладают лучшей выживаемостью и рыбопродуктивностью в сравнении с семьями с низкой устойчивостью к стрессу. В двухлетнем возрасте эта тенденция сохраняется для такого показателя как скорость массонакопления.

Представлены результаты морфологического анализа сеголеток и двухлеток исследуемых семей. Согласно результатам дискриминантного анализа сеголетки загорского карпа из разных

семей достоверно различаются по морфометрическим признакам. Двухлетки загорского карпа также различаются по морфометрическим признакам. У двухлетков карпов ЗУ-НК морфометрических признаков, дифференцирующих семьи не обнаружено.

Анализ индексов внутренних органов двухлеток не выявил различий между семьями как у загорского карпа, так и карпа ЗУ-НК.

В Главе 5 («Выживаемость сеголеток семейных групп карпа при дефиците кислорода») дана характеристика устойчивости сеголеток загорского карпа из семей с разной устойчивостью к стрессу в личиночном периоде к воздействию острой гипоксии. Результаты пробит-анализа времени выживаемости 50 % особей показали, что сеголетки, выращенные из семей с высокой устойчивостью личинок к стрессу (извлечению из воды), обладают более низкой устойчивостью к действию острой гипоксии по сравнению с сеголетками из семей с низкой устойчивостью личинок к стрессу. Автором выдвигается обоснованное предположение о более высокой скорости обмена веществ у рыб, имевших высокие показатели устойчивости к стрессу в личиночном периоде развития.

В Главе 6 («Динамика изменений биохимических показателей крови и слизи под действием стресса у годовиков карпа») представлены количественные значения биохимических показателей кожной слизи и крови годовиков карпа из семей с разной устойчивостью к стрессу в личиночном периоде до и после воздействия такого стресс фактора, как хендлинг. Для анализа изменчивости биохимических показателей между семьями введено понятие «реактивность биохимических процессов и коэффициент реактивности (KR)» Коэффициент реактивности на стресс (KR) отражает соотношение биохимических показателей рыб из различных семей до и после стресса.

В «Заключении» автор подчеркивает, что одним из способов повышения устойчивости рыб к стрессу является реализация селекционных программ, цель которых создание генетических линий и отводок объектов аквакультуры максимально приспособленных и адаптированных к условиям разведения. Значительные и достоверные различия отдельных семей загорского карпа и карпа ЗУ-НК по показателям выживаемости личинок после их извлечения из воды позволяют проводить отбор семей по стрессоустойчивости на ранних стадиях развития, что позволяет отбраковывать худшие семьи с низкой выживаемостью при стрессовом воздействии. Это, в свою очередь, позволяет проводить селекцию в более ранние сроки, экономит использование рыбоводных площадей и снижает затраты на обслуживание прудов, кормлением рыбы и т.е.

Выращивание отобранных по устойчивости к стрессу семей загорского карпа и карпа ЗУ-НК позволило показать прямую связь оценки семей по выживаемости на ранних этапах развития с результатами прудового выращивания на первом и втором году жизни рыб.

Для устойчивых к обезвоживанию на стадии личинок семей загорского карпа было установлено их преимущество над неустойчивыми по средней массе сеголеток на 8,8%, по выживаемости - на 86,82%, по рыбопродуктивности на 107,97%. На второй год двухлетки устойчивых семей загорского карпа также имели преимущество над неустойчивыми по приросту массы в единицу времени прудового выращивания, коэффициент массонакопления у них составил 0,20, против 0,18.

Устойчивые семьи карпа ЗУ-НК в возрасте сеголетка имели лучшую выживаемость (более чем в три раза в сравнении с неустойчивыми) в прудовых условиях. Скорость роста двухлетков,

выраженная в значении коэффициента массонакопления, у устойчивых семей составляла 0,20, а у неустойчивых 0,17.

Показано, что сеголетки и двухлетки загорского карпа из разных семей достоверно различаются по морфометрическим признакам. У двухлетков карпов ЗУ-НК морфометрических признаков, дифференцирующих семьи не обнаружено. Также для двухлетков загорского карпа и для двухлетков карпа ЗУ-НК не обнаружены различия по индексам внутренних органов.

Отношение сеголеток, выращенных из семей с высокой устойчивостью к стрессу, вызванному извлечением личинок из водной среды, имеет обратную зависимость с устойчивостью к острой гипоксии. На основании полученных значений коэффициента реактивности автором сделан вывод, что годовики, выращенные из семей с высокой устойчивостью личинок к стрессу, обладают более высокой устойчивостью к хендлингу по сравнению с сеголетками из семей с низкой устойчивостью личинок.

Раздел «Выводы» состоит из шести выводов и отражает решение поставленных автором задач.

Научная новизна проведенных исследований и полученных результатов

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.

Практическая значимость работы

В условиях аквакультуры, получены результаты, которые способствуют совершенствованию способов отбора, направленных на повышение адаптивных способностей и как следствие продуктивности и выживаемости карповых рыб.

Замечания по диссертации

Существенных замечаний по содержанию диссертации нет, однако в тексте имеется ряд редакторских недочетов. В тексте, особенно в 1 главе, допущен ряд опечаток, в том числе в ссылках на источники («Лениджер»), латинских названиях (*Callionymus lyza*) и даже данных, взятых из литературных источников (так, на стр. 25 (Обзор литературы) указаны коэффициенты наследуемости, превышающие единицу).

Все эти замечания несущественны и никак не влияют на значимость работы и ее соответствие требованиям, предъявляемым к кандидатской диссертации.

Заключение

Диссертация Евгения Владимировича Виноградова «Стрессоустойчивость карпа (*Cyprinus carpio* L.) в раннем онтогенезе и ее влияние на рыбоводно-биологические характеристики», представленная на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.06 – ихтиология является завершенной научно-квалификационной работой, которая по своей актуальности, новизне, объему выполненных исследований и практической значимости результатов полностью соответствует требованиям, предъявляемым ВАК РФ к кандидатским диссертациям согласно «Положению о порядке присуждения ученых степеней»,

утвержденному Постановлением Правительства Российской Федерации № 842 от 24.09.2013 г., а ее автор, Евгений Владимирович Виноградов, заслуживает присуждения ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.02.06 – ихтиология.

Отзыв на диссертационную работу Е.В. Виноградова заслушан, обсуждён, одобрен и утверждён на объединенном семинаре генетических лабораторий ИБР РАН 23 апреля 2021 г. (Протокол № 2 от 23.04.2021 г.).

Кандидат биологических наук Галимов Я. Р.



Сведения о составителе отзыва:

Галимов Ян Рудольфович, кандидат биологических наук по специальности 03.02.10 - гидробиология, и.о. заведующего лабораторией эволюции генома и механизмов видообразования Федерального государственного бюджетного учреждения науки Института биологии развития им. Н.К. Кольцова РАН (ИБР РАН).

Почтовый адрес: 119334, Москва, ул. Вавилова, 26.

Тел: +7(499)135-88-47,

Интернет-сайт: <http://idbras.ru/>

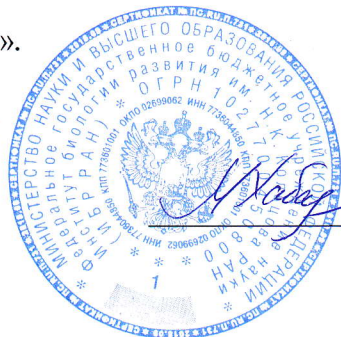
e-mail: yangalimov@gmail.com

«Подпись Галимова Я.Р. удостоверяю».

Ученый секретарь ИБР РАН,

кандидат биологических наук, доцент

Хабарова Марина Юрьевна



/ Хабарова М.Ю./

26 апреля 2021 г.