

А. С. Мамонова, Е. И. Шишанова, И. В. Тренклер, М. В. Офицеров

ВЛИЯНИЕ НАРУШЕНИЙ УСЛОВИЙ ИНКУБАЦИИ ИКРЫ НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ И ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОЛИМОРФИЗМ ЛИЧИНОК РУССКОГО ОСЕТРА (*ACIPENSER GULDENSTADTII* BRANDT)

Эксперименты проводились на небольших количествах икры или личинок (до 1000 шт.) русского осетра (*Acipenser guldensadtii* Brandt) в условиях Александровского осетрового рыбодного завода (Астраханская обл.). В эксперименте 1 (3 варианта) колебания ящиков аппарата «Осетр» с отдельно заложённой на инкубацию икрой трех самок осетра приостанавливали (начиная со стадии нейрулы) на одни сутки, тогда как контрольные ящики продолжали колебаться в стандартном режиме. Отсутствие колебательных движений инкубационных ящиков приводило к нарушению кислородного режима и уменьшению выклева личинок всех трех самок. В эксперименте 2 (2 варианта) инкубация икры проходила либо при постоянном освещении, либо в постоянной темноте в сочетании с ограничением амплитуды колебаний инкубационных ящиков, что привело к резкому уменьшению количества вылупляющихся личинок во втором варианте. Полученные личинки содержались далее в тех же условиях, т. е. либо при постоянном освещении, либо в постоянной темноте. На стадии 44, предшествующей началу экзогенного питания, все личинки замораживались для последующего генетико-биохимического анализа, который проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле. Генетическую гетерогенность выборок оценивали по частоте встречаемости аллелей, уровню гетерозиготности – наблюдаемой и ожидаемой, критерию χ^2 . Исследование влияния проточности в эксперименте 1 по локусу малатдегидрогеназы показало, в целом, отсутствие каких-либо отличий между опытным и контрольным потомством, однако в потомстве самок № 2 и 3 наблюдалось уменьшение гомозиготного генотипа **B'B'**. Смещение равновесия **D** происходило в основном в пользу гетерозигот. По локусу эстеразы смещение равновесия наблюдалось также в сторону гетерозиготности. В эксперименте 2 следствием повышенной смертности личинок при постоянном освещении, наоборот, было смещение равновесия в сторону гомозиготности по обоим исследованным локусам. Для уменьшения селективности рыбоводства предложено оптимизировать процесс выращивания молоди осетровых для выпуска в природные водоёмы, приблизив заводские условия к природным.

Ключевые слова: русский осетр, инкубация икры, генетическая гетерогенность, освещенность, проточность.

Введение

В современных условиях воспроизводство осетровых рыб для пополнения естественных популяций осуществляется в основном в индустриальных условиях – на специализированных осетровых рыбодных заводах (ОРЗ). Однако воспроизводство в заводских условиях, отличающихся от природных световым, гидрохимическим и гидрологическим режимами и другими параметрами, оказывает селективное действие на генофонд и характеристики потомства [1–7]. При исследованиях осетровых изучение селективного влияния рыбоводства показало, что выпуск «заводской» молоди в естественные водоёмы приводит к увеличению доли менее продуктивных, но более жизнестойких гетерозиготных особей. В перспективе это обуславливает сокращение численности популяций и их постепенную деграцию в последующих поколениях [8–11].

Определение характера реактивности организмов на действие различных факторов окружающей среды (в том числе в искусственных условиях) и выяснение особенностей наследования этой реактивности остаются актуальными направлениями исследований в биологии. При этом особое внимание обращается на изменчивость признаков, которая рассматривается как основа для отбора и один из ведущих факторов филогенеза и видообразования.

Эмбриональное развитие рыб является важным этапом онтогенеза, результат которого определяет последующую численность популяции и её генетическое разнообразие. В этот период развивающийся организм в наибольшей степени подвержен влиянию факторов внешней среды, среди которых существенное значение имеют освещенность и проточность. Свет необходим для формирования нейроэндокринной системы (эпифиз-гипоталамус), обеспечивающей связь организма с внешней средой. Изменение интенсивности светового потока и его спектра в про-

цессе развития икры отражается на морфометрических признаках зародышей, скорости их роста и выживаемости, в частности, полная темнота приводит к увеличению смертности эмбрионов некоторых видов рыб [12, 13]. Интенсивность освещения оказывает влияние на темп роста рыб и на более поздних стадиях онтогенеза [14]. Недостаток кислорода при отсутствии проточности также приводит к нарушениям эмбриогенеза и гибели эмбрионов.

Целью нашей работы было изучение влияния условий инкубации на ОРЗ (проточности и освещенности) на генетический полиморфизм личинок русского осетра. Ранее подобные исследования не проводились.

Материалы и методы исследований

Опыты по изучению влияния условий инкубации икры на генетические характеристики потомства русского осетра *Acipenser guldenstadtii* Brandt были проведены на базе Александровского ОРЗ в Астраханской области в апреле – мае 2011 г.

Эксперимент 1 был поставлен для изучения возможных последствий остановки проточности воды в инкубационных аппаратах (происходящей на рыбоводных заводах при аварийном отключении насоса, подающего воду в инкубационный цех).

В этом эксперименте была осуществлена раздельная инкубация небольших порций икры 3-х самок русского осетра с различным рыбоводным качеством в стандартном инкубационном аппарате «Осетр», что соответствовало 3 опытам с контролем для каждой самки. Икра каждой самки была оплодотворена спермой 4-х самцов. В каждой порции икры, взятой объемным методом из производственной партии после фунгицидной обработки *фиолетовым К* на стадии 4–8 бластомеров, находилось, ориентировочно, от 650 до 1000 икринок (точное число было определено после выклева личинок путем суммирования их количества с числом погибших эмбрионов). Каждая порция развивающейся икры была разделена на 2 части, которые были размещены в отдельных сетчатых ящиках инкубационного аппарата. В результате было получено 6 вариантов опыта. Средняя температура воды в период инкубации составляла 14–15 °С. Начало опыта – 24 апреля. Продолжительность инкубации (до начала вылупления) – 6 суток. Погибшую и покрытую сапролегнией икру через каждые 3–4 часа отбирали сачком для предотвращения распространения инфекции и учитывали поштучно.

Для имитации нарушения условий инкубации при отключении электроэнергии «опытные» сетчатые ящики с развивающейся икрой переносились в аналогичный аппарат «Осетр» с водоподачей, отключенной на 24 часа. В результате развитие эмбрионов со стадии 19 – ранней нейрулы до стадии 22–23 – поздней нейрулы [15] проходило в «стоячей» воде, однако икра периодически перемешивалась вручную, одновременно с отбором пораженных сапролегнией икринок. «Контрольные» ящики инкубационного аппарата продолжали колебаться в стандартном режиме. Через сутки «опытные» инкубационные ящики были возвращены в свои ячейки и перемешивание икры в них возобновилось.

Отлов личинок производился по мере их вылупления (в течение примерно 36 часов). Личинки на стадии 36 переносились в жестко закрепленные ящики аппарата «Осетр» с небольшим уровнем проточности, где осуществлялось их выдерживание в течение последующих 8 суток до стадии 44, предшествующей стадии начала экзогенного питания (стадия 45) [15]. На стадии 44 количество эндогенного желтка (имеющего материнский генотип) сокращается до минимума и начинают проявляться особенности индивидуального генотипа. Дальнейшее выращивание не проводили, поскольку, согласно принятой технологии, переход личинок на активное питание осуществляется в прудах.

Выращенные личинки пересчитывались поштучно и замораживались в морозильной камере при температуре –20 °С.

Эксперимент 2. Для изучения возможного влияния освещения на выживаемость эмбрионов и на возможный отбор наиболее приспособленных генотипов русского осетра был проведен дополнительный эксперимент на икре, полученной 24 апреля (одновременно с икрой, использованной в предыдущем эксперименте) и оплодотворенной спермой тех же самцов. В опыте использовалась икра самки с высоким показателем, около 97 %, нормального развития эмбрионов (% НРЭ), после определения этого показателя на 17-й стадии развития (маленькой желточной пробки).

В 1-м варианте эмбрионы выдерживались при постоянном освещении (помимо общего освещения в цехе к инкубационному ящику была прикреплена постоянно включенная лампочка мощностью 40 Вт с отражателем). Во 2-м варианте черный полиэтилен, которым он был полностью изолирован от света, сократил также амплитуду колебаний инкубационного ящика по сравнению с 1-м вариантом. Остальные условия инкубации (температура воды, общая продолжительность, отбор и учет погибших эмбрионов) были такими же, как в эксперименте 1.

Вылупляющиеся личинки были перенесены в жестко закрепленные ящики аппарата «Осетр», в которых осуществлялось их дальнейшее выдерживание. Основные условия выдерживания личинок были такими же, как в период инкубации – постоянное освещение или постоянная темнота. На стадии 44 личинки были пересчитаны поштучно и заморожены.

Генетико-биохимические исследования проводили методом электрофореза в полиакриламидном геле. Этот метод позволяет охарактеризовать как индивидуальные генотипы рыб, так и уровень гетерогенности и аллельного разнообразия изоферментов исследуемой выборки в целом [10, 16]. Поскольку изоферменты различаются по своим свойствам (оптимум pH, активация ионами, сродство к субстратам, ингибиторам, активаторам, кофакторам), то характер их электрофоретического спектра отражает регуляторные механизмы, контролирующие метаболизм [17, 18]. В качестве генетических маркеров использовали 2 полиморфные ферментные системы: малатдегидрогеназу (*MDG*) и эстеразу (*Est*), у которых уже на личиночной стадии фенотипически проявляются индивидуальные спектры аллозимов.

Генетическую гетерогенность выборок оценивали по частоте встречаемости аллелей, уровню гетерозиготности – наблюдаемой (H_{ob}) и ожидаемой (H_e), критерию χ^2 Харди – Вайнберга [19]. Данные по частотам генов были проанализированы с помощью теста χ^2 на гетерогенность Д. В. Ния и У. Д. Шелла [20], часто применяемого в популяционной генетике [3, 21].

Результаты исследования и их обсуждение

Эксперимент 1. Прекращение колебательных движений инкубационных ящиков сопровождалось достоверным снижением выживаемости личинок в первых 2-х вариантах эксперимента (табл. 1). Наиболее четко ($p < 0,001$) это проявилось в потомстве самки № 2, давшей икру высокого рыбоводного качества (% НРЭ = 95), слабее ($p < 0,05$) – у самки № 1 (% НРЭ = 86). При развитии икры самки № 3 с % НРЭ = 58, на фоне высокой общей смертности эмбрионов, эта закономерность не проявилась.

Таблица 1

**Влияние нарушения режима инкубации на выживаемость эмбрионов русского осетра.
Эксперимент 1**

№ самки	Вариант	% НРЭ	Исходное число икринок	Погибшие икринки, шт. (% ± m)	Аномальные постэмбрионы, шт. (% ± m)	Нормальные личинки (36 ст.), шт. (% ± m)
1	24-часовая остановка работы инкубационного аппарата	86	354	173 (48,9 ± 2,65)	27 (7,6 ± 1,41)	154 (43,5 ± 2,63)
	Непрерывный процесс работы (контроль)		293	111 (37,9 ± 2,83)*	31 (10,6 ± 1,80)	167 (57,0 ± 2,89)**
2	24-часовая остановка работы инкубационного аппарата	95	496	164 (33,1 ± 2,11)	25 (5,0 ± 0,98)	307 (61,9 ± 2,18)
	Непрерывный процесс работы (контроль)		533	92 (17,3 ± 1,64)**	5 (0,9 ± 0,41)**	436 (81,8 ± 1,67)**
3	24-часовая остановка работы инкубационного аппарата	58	405	270 (66,7 ± 2,34)	5 (1,2 ± 0,54)	130 (32,1 ± 2,32)
	Непрерывный процесс работы (контроль)		528	348 (65,9 ± 2,06)	4 (1,0 ± 0,43)	176 (33,3 ± 2,05)

* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$.

Эксперимент 2. В этом опыте эмбрионы осетра были подвергнуты еще более сильному воздействию. Помимо ограничения колебательных движений инкубационных ящиков на протяжении всего процесса инкубации, сам процесс инкубации проходил в полной темноте. В стандартных производственных условиях свет в инкубационном цехе ОРЗ присутствует круглосуточно. Результаты воздействия постоянной темноты в сочетании с ограничением проточности приведены в табл. 2.

Таблица 2

**Влияние нарушения режима инкубации на выживаемость эмбрионов русского осетра.
Эксперимент 2**

Вариант	N, шт.	Отход икры по дням, шт.				Общий отход за время инкубации, шт.	Количество однодневных личинок, шт.
		27.04	28.04	29.04	30.04–1.05		
Постоянное освещение (контроль)	736	80	101	71	32	284	452
Постоянная темнота, ограничение подвижности инкубационных ящиков	678	75	351	71	77	574	104

Результаты генетико-биохимического анализа тканей замороженных личинок представлены в табл. 3–6.

По частоте встречаемости аллелей локуса *MDG B1* в потомстве всех самок между «опытом» и контролем достоверных различий не обнаружено (табл. 3). При этом выявлено разнонаправленное влияние проточности на гетерозиготность потомства самок № 2 и 3. У самки № 2 наблюдалось некоторое уменьшение гетерозиготности по сравнению с контролем (примерно на 10 %). В потомстве самки № 3, у которой уменьшение выхода личинок, вследствие прекращения колебательных движений инкубационного ящика, не проявилось, наоборот, отмечено незначительное увеличение гетерозигот (примерно на 7 %) по сравнению с контролем (табл. 3). Следует отметить, что у самки № 3 была очень низкая исходная гетерозиготность – 0,144, против 0,500 у самки № 1 и 0,262 у самки № 2.

Генетические параметры по локусу *MDG B2* у потомства самки № 1 свидетельствуют об увеличении доли гомозигот *BB* почти в 2 раза (с 14,5 до 25 %), соответственно частота встречаемости гетерозигот уменьшается в 1,5 раза (табл. 4). Аналогичная, но значительно менее выраженная тенденция наблюдалась в «опытном» варианте с икрой самки № 2. Однако у потомства самки № 3, напротив, доля гомозигот *BB* снижается в «опыте» более чем в 1,5 раза (с 43 до 26 %), а частота встречаемости гомозигот *B'B'* возрастает с 27 до 40 % по сравнению с контролем. При этом достоверной разницы по гетерозиготности локуса и частоте встречаемости аллелей в «опыте» и контроле в потомстве разных самок нет, отсутствует и устойчивый тренд к повышению гетерозиготности или доли зигот различных типов в «опытных» вариантах.

Таким образом, генетическая разнокачественность потомства разных самок по локусу *MDG* в «опыте» может быть обусловлена не столько влиянием условий среды, сколько генетическими особенностями икры самок № 1 и 3, а также сниженным рыбоводным качеством икры самки № 3 (% НРЭ = 58 против 98 у самки № 1).

По локусу *Est* в потомстве самки № 1 количество гомозигот *ee* увеличивается в «опыте» по сравнению с контролем в 3 раза (с 2,5 до 8 %), а число гомозигот *aa*, напротив, снижается более чем в 2 раза (до 6,5 с 15 %). Частота встречаемости гетерозигот *ae* в этом варианте практически не изменяется.

В потомстве самки № 2, напротив, происходит увеличение количества гетерозигот на 30 %, а частота встречаемости гомозиготного генотипа *aa* уменьшается по сравнению с контролем почти в 2 раза (до 16 с 31 %). Однако потомство самки № 3 показало высокие достоверные различия между «опытом» и контролем по генотипу *aa*, который был полностью элиминирован в «опыте», что обусловило рост гетерозиготности в целом. Однако по частотам встречаемости аллелей достоверных различий не обнаружено (табл. 5).

Таблица 3

Частота встречаемости генотипов и аллелей *MDG (B1)* у личинок русского осетра в эксперименте 1

Вариант	Генотипы			N, шт.	$pB \pm m$	$pB' \pm m$	$Ho \pm m$	$He \pm m$	D	χ^2	G	P
	$BB^* 100/100$	$BB^* 100/160$	$B'B^* 160/160$									
Самка № 1 – «опыт»	57 63,38	53 40,23	0 6,38	110	0,759 ± 0,029	0,241 ± 0,029	0,482 ± 0,048	0,366 ± 0,030	0,317 ± 0,082	11,08	10,87	< 0,001
Самка № 1 – контроль	58 65,25	58 43,5	0 7,25	116	0,75 ± 0,028	0,25 ± 0,028	0,5 ± 0,046	0,375 ± 0,028	0,333 ± 0,077	12,89	12,69	< 0,001
Самка № 2 – «опыт»	139 140,02	26 23,95	0 1,02	165	0,921 ± 0,015	0,079 ± 0,015	0,158 ± 0,028	0,145 ± 0,028	0,086 ± 0,098	1,21	0,98	> 0,5
Самка № 2 – контроль	110 112,55	39 33,9	0 2,55	149	0,869 ± 0,020	0,131 ± 0,020	0,262 ± 0,036	0,228 ± 0,029	0,151 ± 0,093	3,38	3,11	> 0,05
Самка № 3 – «опыт»	117 118,72	32 28,56	0 1,72	149	0,893 ± 0,018	0,107 ± 0,018	0,215 ± 0,034	0,192 ± 0,028	0,12 ± 0,097	2,16	1,9	> 0,5
Самка № 3 – контроль	77 77,47	13 12,04	0 0,47	90	0,928 ± 0,019	0,072 ± 0,019	0,144 ± 0,037	0,134 ± 0,033	0,078 ± 0,134	0,55	0,36	> 0,5

* Согласно [10].

Таблица 4

Частота встречаемости генотипов и аллелей *MDG (B2)* у личинок русского осетра в эксперименте 1

Вариант	Генотипы			N, шт.	$pB \pm m$	$pB' \pm m$	$Ho \pm m$	$He \pm m$	D	χ^2	G	P
	$BB^* 100/100$	$BB^* 100/160$	$B'B^* 160/160$									
Самка № 1 – «опыт»	28 11,46	15 48,09	67 50,46	110	0,323 ± 0,032	0,677 ± 0,032	0,136 ± 0,033	0,437 ± 0,022	-0,668 ± 0,040	52,08	51,95	< 0,001
Самка № 1 – контроль	17 8,28	28 45,43	71 62,28	116	0,267 ± 0,029	0,733 ± 0,029	0,241 ± 0,040	0,392 ± 0,027	-0,384 ± 0,071	17,08	16,88	< 0,001
Самка № 2 – «опыт»	48 41,75	70 85,5	47 40,75	165	0,503 ± 0,028	0,497 ± 0,028	0,424 ± 0,039	0,5 ± 0,002	-0,152 ± 0,066	3,77	3,8	> 0,5
Самка № 2 – контроль	36 28,36	58 73,29	55 47,36	149	0,436 ± 0,029	0,564 ± 0,029	0,389 ± 0,040	0,492 ± 0,008	-0,209 ± 0,065	6,48	6,51	< 0,05
Самка № 3 – «опыт»	39 27,49	50 73,02	60 48,49	149	0,43 ± 0,029	0,571 ± 0,029	0,336 ± 0,039	0,49 ± 0,008	-0,315 ± 0,057	14,81	14,87	< 0,001
Самка № 3 – контроль	39 30,62	27 43,75	24 15,62	90	0,583 ± 0,037	0,417 ± 0,037	0,3 ± 0,048	0,486 ± 0,013	-0,383 ± 0,067	13,19	13,28	< 0,001

* Согласно [10].

Таблица 5

Частота встречаемости генотипов и аллелей *Est* у личинок русского осетра в эксперименте 1

Вариант	Генотипы			N, шт.	$pa \pm m$	$pe' \pm m$	$Ho \pm m$	$He \pm m$	D	χ^2	G	P
	aa	ae	ee									
Самка № 1 – «опыт»	11 41,26	145 84,49	13 43,26	169	$0,494 \pm 0,027$	$0,506 \pm 0,027$	$0,858 \pm 0,027$	$0,5 \pm 0,002$	$0,716 \pm 0,022$	86,69	87,08	< 0,001
Самка № 1 – контроль	18 37,97	99 59,06	3 22,97	120	$0,563 \pm 0,032$	$0,437 \pm 0,032$	$0,825 \pm 0,035$	$0,492 \pm 0,009$	$0,676 \pm 0,031$	54,87	55,8	< 0,001
Самка № 2 – «опыт»	28 43,5	118 87	28 43,5	174	$0,5 \pm 0,027$	$0,5 \pm 0,027$	$0,678 \pm 0,035$	$0,5 \pm 0,002$	$0,356 \pm 0,049$	22,09	22,19	< 0,001
Самка № 2 – контроль	35 37,06	60 55,88	19 21,06	114	$0,57 \pm 0,033$	$0,43 \pm 0,033$	$0,526 \pm 0,047$	$0,49 \pm 0,010$	$0,074 \pm 0,087$	0,62	0,62	> 0,05
Самка № 3 – «опыт»	0 20,51	95 53,98	15 35,51	110	$0,432 \pm 0,033$	$0,568 \pm 0,033$	$0,864 \pm 0,033$	$0,491 \pm 0,010$	$0,76 \pm 0,025$	63,54	63,9	< 0,001
Самка № 3 – контроль	33 41	97 81	32 40	162	$0,503 \pm 0,028$	$0,497 \pm 0,028$	$0,599 \pm 0,039$	$0,5 \pm 0,002$	$0,198 \pm 0,063$	6,32	6,35	> 0,05

Таблица 6

Частота встречаемости генотипов и аллелей *Est* у личинок русского осетра в эксперименте 2

Вариант	Генотипы			N, шт.	$pB \pm m$	$pB' \pm m$	$Ho \pm m$	$He \pm m$	D	χ^2	G	P
	aa	ae	ee									
24С:0Т	23 13,98	31 49,03	52 42,98	106	$0,363 \pm 0,033$	$0,637 \pm 0,033$	$0,292 \pm 0,044$	$0,463 \pm 0,018$	$-0,368 \pm 0,066$	14,34	14,36	< 0,001
0С:24Т	8 4,63	21 27,75	45 41,63	74	$0,25 \pm 0,036$	$0,75 \pm 0,036$	$0,284 \pm 0,052$	$0,375 \pm 0,035$	$-0,243 \pm 0,103$	4,38	4,27	< 0,5

Отсутствие достоверных различий по частотам аллелей и гетерозиготности *Est*, при существенной динамике генотипов, вплоть до выщепления, свидетельствует о том, что отбор в данном случае осуществляется на уровне генотипов.

В эксперименте 2 по техническим причинам были получены данные только по локусу *Est* (табл. 6). Сравнение потомства, проинкубированного и выращенного при постоянной освещенности и в темноте, показало, что наблюдается снижение количество гомозигот *aa* почти в 2 раза – с 22 до 11 % и рост числа гомозигот *ee* с 49 до 60 %. Количество гетерозигот в обоих вариантах эксперимента одинаково (табл. 6). Однако достоверных различий по частоте встречаемости частот аллелей и гетерозиготности не обнаружено, что на фоне определенного преимущества гомозигот *ee* надо гомозиготами *aa* может подтверждать сделанное выше предположение об отборе по локусу *Est* на уровне генотипа.

Таким образом, эксперимент 2 характеризовался высокой смертностью эмбрионов в период инкубации (вариант – полная темнота). Смещение равновесия в эксперименте 2 наблюдается в сторону гомозиготности, что связано, скорее всего, с селективным характером высокой смертности эмбрионов.

В подавляющем большинстве вариантов «опыта» и контроля значения χ^2 превышают допустимые, что говорит об отсутствии генетического равновесия в исследованных выборках. Это также свидетельствует о наличии как стрессового отбора в «опытных» вариантах, так и естественного отбора в контроле.

Такую картину в целом можно трактовать как переменное преимущество генотипов в изменяющихся условиях среды. Однако в природе редко встречаются однозначные взаимодействия среды и генотипа. Скорее всего, и в данном случае два исследованных ферментных гена находятся в сложных отношениях с другими генами, возможны явления комплементарности генов, плейотропии и др., поэтому по результатам данного исследования нельзя сделать вывод о направлении отбора в пользу одного из генотипов или аллелей. Более того, различия в ответах потомства различных самок на внешнее воздействие связаны в первую очередь с исходным качеством рыбоягодной икры и, как следствие, с разной долей нежизнеспособных эмбрионов (эксперимент 1). Большое значение, которое имеет получение высококачественной оплодотворенной икры на ОРЗ и других заводах, мы уже отмечали в более ранних работах [22]. Именно поэтому дальнейшие исследования целесообразно проводить не в производственных цехах, а в контролируемых, стандартизированных условиях, с использованием большего числа генетических маркеров.

Как известно, изменение экологической среды одомашниваемых животных привело к появлению нового вектора отбора, определяемого, в частности, стрессорным действием постоянных факторов «доместикационной» среды, таких как человек, механизмы авторегуляции популяционной плотности, контролируемые условия разведения и содержания [23].

Поскольку связь генетической структуры популяции с её приспособленностью и численностью не вызывает сомнения, увеличение или элиминация каких-то определенных генотипов в процессе рыбоводства с целью выпуска в природные водоёмы является принципиальным моментом [4, 8–10, 24]. Для исключения селективной смертности определенных генотипов в ходе рыбоводного процесса необходимо оптимизировать и строго контролировать условия инкубации икры, выдерживания личинок и выращивания молоди на ОРЗ, приближая их основные параметры к природным.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алтухов Ю. П. Генетические последствия селективного рыбоводства / Ю. П. Алтухов // Генетика. 1994. Т. 30, № 1. С. 5–21.
2. Алтухов Ю. П. Внутривидовое генетическое разнообразие: Мониторинг и принципы сохранения / Ю. П. Алтухов // Генетика. 1995. Т. 31, № 10. С. 1331–1357.
3. Алтухов Ю. П. Популяционная генетика лососевых рыб / Ю. П. Алтухов, Е. О. Салменкова, В. Т. Омельченко. М.: Наука, 1997. 288 с.
4. Алтухов Ю. П. Генетические последствия селективного рыбоводства и рыбоводства / Ю. П. Алтухов // Вопросы рыбоводства. 2000. Т. 2, № 4 (8). С. 562–603.
5. Никоноров С. И. Эколого-генетические проблемы искусственного воспроизводства осетровых и лососевых рыб / С. И. Никоноров, Л. В. Витвицкая. М.: Наука, 1993. 254 с.
6. Баранникова И. А. Проблема сохранения осетровых России в современный период / И. А. Баранникова, С. И. Никоноров, А. Н. Белоусов // Осетровые на рубеже XXI века. Междунар. конф.: тез. докл. Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2000. С. 7–8.
7. Карнаухов Г. И. Сохранение биоразнообразия азовской севрюги в современных экологических условиях / Г. И. Карнаухов // Проблемы и перспективы развития аквакультуры России: материалы Междунар. науч.-практ. конф. Краснодар: Здравствуйте, 2001. С. 44–45.

8. *Рябова Г. Д.* О возможном влиянии рыбоводства на генетические и биологические характеристики севрюги / Г. Д. Рябова, М. В. Офицеров, В. О. Климонов, Е. И. Шишанова, Г. Ф. Довгопол, Р. П. Ходаревская // Состояние и перспективы научно-практических разработок в области марикультуры России. М.: Изд-во ВНИРО, 1996. С. 269–274.
9. *Рябова Г. Д.* Влияние рыбоводства на генотипические и фенотипические характеристики волжской поздней яровой севрюги / Г. Д. Рябова, В. О. Климонов, К. И. Афанасьев, Г. А. Рубцова, Ф. Ф. Москалейчик // Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. М.: Изд-во ВНИРО, 2006. С. 213–216.
10. *Рябова Г. Д.* Генетическая изменчивость в природных популяциях и domestцированных стадах осетровых рыб России. Атлас аллозимов / Г. Д. Рябова, В. О. Климонов, Е.И. Шишанова. М.: Россельхозакадемия, 2008. 94 с.
11. *Шишанова Е. И.* Генетическая изменчивость стерляди (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus, 1758) в процессе domestцикации в условиях установки замкнутого водоснабжения / Е. И. Шишанова, А. Д. Павлов // Естественные и технические науки. 2013. № 1. С. 85–88.
12. *Blanco-Vives B.* Does lighting manipulation during incubation affect hatching rhythms and early development of sole? / B. Blanco-Vives, M. Alliaga-Guerrero, J. P. Cañavate, J. A. Muñoz-Cueto, F. J. Sánchez-Vázquez // Chronobiol. Int. 2011. No. 4. P. 300–306.
13. *Любичкая А.И.* Влияние различных участков видимой части спектра на стадии развития эмбрионов и личинок рыб / А. И. Любичкая // Зоологический журнал. 1956. Т. 35, вып. 3. С. 1873–1886.
14. *Власов В. А.* Влияние света на рост и развитие рыб / В. А. Власов, Н. И. Маслова, С.В. Пономарёв, Ю. М. Баканёва // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыбное хозяйство. 2013. № 2. С. 24–34.
15. *Объекты биологии развития.* Гл. XI. Осетр *Acipenser güldenstüdti* /под ред. Т. А. Деллаф. М.: Наука, 1975. С. 217–277.
16. *Peacock A. C.* Serum protein electrophoresis in acrylamide gel / A. C. Peacock, S. L. Bunting, K. G. Queen // Science. 1965. Vol. 147. P. 1451–1543.
17. *Микодина Е. В.* Биохимические маркёры рыб: справочник / Е. В. Микодина, Т. И. Лаптева, А. Е. Микулин, М. А. Седова, Е. В. Ганжа, Е. Д. Павлов, А. И. Манухов. М.: Изд-во ВНИРО, 2011. 148 с.
18. *Корочкин Л. И.* Генетика изоферментов / Л. И. Корочкин, О. Л. Серов, А. И. Пудовкин. М.: Наука, 1977. 275 с.
19. *Айала Ф.* Введение в популяционную и эволюционную генетику / Ф. Айала. М.: Мир, 1984. 232 с.
20. *Ниль Д. В.* Наследственность человека / Д. В. Ниль, У. Д. Шелл. М.: Изд-во иностр. лит., 1958. 389 с.
21. *Животовский Л. А.* Проблемы анализа комплекса признаков / Л. А. Животовский // Экологическая генетика и эволюция: сб. науч. тр. Кишинева: Штиинца, 1987. С. 134–177.
22. *Тренклер И. В.* Зависимость выживаемости личинок осетра и севрюги от качества развивающейся икры и содержания растворенного кислорода в воде / И. В. Тренклер // Осетровые на рубеже XXI века. Междунар конф: тез. докл. Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2000. С. 277–278.
23. *Кисловский Д. А.* Труды: Избр. соч. / Д. А. Кисловский. М.: Колос, 1965. 535 с.
24. *Шишанова Е. И.* Влияние криоконсервации спермы на выживаемость и генетический полиморфизм личинок русского осетра / Е. И. Шишанова, И. В. Тренклер, А. С. Мамонова // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыбное хозяйство. 2012. № 2. С. 105–111.

Статья поступила в редакцию 30.11.2015

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Мамонова Анастасия Сергеевна – Россия, 142460, пос. им. Воровского, Ногинский р-н; Московская обл.; Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства; научно-производственная лаборатория; старший научный сотрудник; mamonova84@gmail.com.

Шишанова Елена Ивановна – Россия, 142460, поселок им. Воровского, Ногинский район, Московская область; Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства; канд. биол. наук; зам. директора по научной работе; lena-vniir@mail.ru.

Тренклер Игорь Владимирович – Россия, 194358, Санкт-Петербург; ООО «ОСЕТР»; канд. биол. наук; директор; trenkler@list.u.

Офицеров Михаил Владимирович – Россия, 142460, пос. им. Воровского, Ногинский р-н; Московская обл.; Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства; канд. биол. наук; лаборатория разведения речных раков; старший научный сотрудник; miha-akademik@yandex.ru.



A. S. Mamonova, E. I. Shishanova, I. V. Trenkler, M. V. Ofitserov

**INFLUENCE OF DISRUPTING CONDITIONS
OF EGGS INCUBATION ON SURVIVAL AND GENETIC POLYMORPHISM
OF LARVAE OF RUSSIAN STURGEON
(*ACIPENSER GULDENSTADTII* BRANDT)**

Abstract. The experiments were conducted on the small portions of embryos or larvae (about 1000 specimens) of Russian sturgeon (*Acipenser guldensadtii* Brandt) under the conditions of the Aleksandrovskiy sturgeon fish-farming plant (the Astrakhan region). In the 1st experiment (3 versions), the fluctuations of the boxes of apparatus "Sturgeon" with developing embryos from three females of sturgeon (beginning from the stage of neurula) were stopped for 24 hrs, whereas the control boxes continued to move in standard regime. The absence of movement of incubation boxes led to worsening of oxygen regime and decreasing of the number of hatching larvae of all three females. In the 2nd experiment (2 versions), the incubation of embryos was performed in conditions of constant light, or in constant darkness in combination with the limitation of amplitude of fluctuations of incubation boxes, which led to sharp decrease in hatching larvae in the 2nd version. The larvae were grown further in the same conditions of constant light or constant darkness as before hatching. At the stage 44, all larvae were frozen for the subsequent genetics-biochemical analysis, which was carried out by the method of electrophoresis in polyacrylamide gel. The genetic heterogeneity of samples was evaluated by the frequency of occurrence of alleles, by the level of the observed and expected heterozygosity and by the criterion χ^2 . In the experiment 1, the studies of influence of flowage on the locus of malate dehydrogenase showed the absence of differences between experimental and control progeny; however, in progeny of females No. 2 and No. 3 the decrease of homozygous genotype *B'B'* was noted. The displacement of equilibrium *D* in direction to heterozygosity was noted. On the locus of esterase the equilibrium also was disordered due to an increase in heterozygotes number. In the experiment 2, the increased mortality of larvae at constant light, on the contrary, led to displacement of equilibrium in direction of homozygosity on the both investigated loci. The results of the experiments suggested to optimize the process of rearing up of sturgeon larvae and fry for releasing into natural reservoirs by changing the plant conditions in direction of natural conditions.

Key words: Russian sturgeon, eggs incubation, genetic heterogeneity, illumination, current speed.

REFERENCES

1. Altukhov Iu. P. Geneticheskie posledstviia selektivnogo rybolovstva [Genetic consequences of selective fishery]. *Genetika*, 1994, vol. 30, no. 1, pp. 5–21.
2. Altukhov Iu. P. Vnutrividovoe geneticheskoe raznoobrazie: Monitoring i printsipy sokhraneniia [Internal genetic diversity: monitoring and principles of conservation]. *Genetika*, 1995, vol. 31, no. 10, pp. 1331–1357.
3. Altukhov Iu. P., Salmenkova E. O., Omel'chenko V. T. *Populiatsonnaia genetika lososevykh ryb* [Population genetics of salmon]. Moscow, Nauka Publ., 1997. 288 p.
4. Altukhov Iu. P. Geneticheskie posledstviia selektivnogo rybolovstva i rybovodstva [Genetic consequences of selective fishery and fish rearing]. *Voprosy rybolovstva*, 2000, vol. 2, no. 4 (8), pp. 562–603.
5. Nikonorov S. I., Vitvitskaia L. V. *Ekologo-geneticheskie problemy iskusstvennogo vosproizvodstva osetrovyykh i lososevykh ryb* [Ecological and genetic problems of artificial reproduction of sturgeon and salmon]. Moscow, Nauka Publ., 1993. 254 p.
6. Barannikova I. A., Nikonorov S. I., Belousov A. N. Problema sokhraneniia osetrovyykh Rossii v sovremennyy period [Problems of conservation of sturgeon in Russia at the present moment]. *Osetrovyye na rubezhe XXI veka. Mezhdunarodnaia konferentsiia. Tezisy dokladov*. Astrakhan, Izd-vo KaspNIRKh, 2000. P. 7–8.
7. Karnaukhov G. I. Sokhranenie bioraznoobraziia azovskoi sevriugi v sovremennykh ekologicheskikh usloviyakh [Conservation of biodiversity of Azov stellate sturgeon in modern ecological conditions]. *Problemy i perspektivy razvitiia akvakul'tury Rossii. Materialy mezhdunarodnoi nauchno-prakticheskoi konferentsii*. Krasnodar, Zdravstvuite Publ., 2001. P. 44–45.
8. Riabova G. D., Ofitserov M. V., Klimonov V. O., Shishanova E. I., Dovgopol G. F., Khodarevskaya R. P. O vozmozhnom vliianii rybovodstva na geneticheskie i biologicheskie kharakteristiki sevriugi [On possible influence of fish rearing on genetic and biological characteristics of stellate sturgeon]. *Sostoianie i perspektivy nauchno-prakticheskikh razrabotok v oblasti marikul'tury Rossii*. Moscow, Izd-vo VNIRO, 1996. P. 269–274.
9. Riabova G. D., Klimonov V. O., Afanas'ev K. I., Rubtsova G. A., Moskaleichik F. F. Vliianie rybovodstva na genotipicheskie i fenotipicheskie kharakteristiki volzhskoi pozdnei iarovoi sevriugi [Influence of fish rearing on genotype and phenotype characteristics of the Volga spring stellate sturgeon]. *Akvakul'tura osetrovyykh ryb: dostizheniia i perspektivy razvitiia*. Moscow, Izd-vo VNIRO, 2006. P. 213–216.
10. Riabova G. D., Klimonov V. O., Shishanova E. I. *Geneticheskaia izmenchivost' v prirodnykh populiatsonnykh i domestitsirovannykh stadakh osetrovyykh ryb Rossii. Atlas allozimov* [Genetic variability in natural populations and domesticated stocks of sturgeon in Russia. Atlas of allozymes]. Moscow, Rossel'khozakademiia, 2008. 94 p.

11. Shishanova E. I., Pavlov A. D. Geneticheskaia izmenchivost' sterliadi (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus, 1758) v protsesse domestikatsii v usloviakh ustanovki zamknutogo vodosnabzheniia [Genetic variability of stellate sturgeon (*Acipenser ruthenus*, Linnaeus, 1758) during domestication in conditions of closed water circulation tank]. *Estestvennye i tekhnicheskie nauki*, 2013, no. 1, pp. 85–88.
12. Blanco-Vives B., Alliaga-Guerrero M., Cañavate J. P., Muñoz-Cueto J. A., Sánchez-Vázquez F. J. Does lighting manipulation during incubation affect hatching rhythms and early development of sole? *Chronobiol. Int.*, 2011, no. 4, pp. 300–306.
13. Liubitskaia A. I. Vliianie razlichnykh uchastkov vidimoi chasti spektra na stadii razvitiia embrionov i lichinok ryb [Influence of different parts of the obvious areas of spectrum at the stage of development of embryos and larvae of fish]. *Zoologicheskii zhurnal*, 1956, vol. 35, iss. 3, pp. 1873–1886.
14. Vlasov V. A., Maslova N. I., Ponomarev S. V., Bakaneva Iu. M. Vliianie sveta na rost i razvitie ryb [Influence of light on growth and development of fish]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya: Rybnoe khoziaistvo*, 2013, no. 2, pp. 24–34.
15. *Ob"ekty biologii razvitiia. Gl. XI. Osetr Acipenser güldenstüdti* [Objects of biology of development. Ch.XI. Sturgeon *Acipenser güldenstüdti*]. Pod redaktsiei T. A. Detlaf. Moscow, Nauka Publ., 1975. P. 217–277.
16. Peacock A. C., Bunting S. L., Queen K. G. Serum protein electrophoresis in acrylamide gel. *Science*, 1965, vol. 147, pp. 1451–1543.
17. Mikodina E. V., Lapteva T. I., Mikulin A. E., Sedova M. A., Ganzha E. V., Pavlov E. D., Manukhov A. I. *Biokhimicheskie markery ryb: spravochnik* [Biochemical markers of fish: reference]. Moscow, Izd-vo VNIRO, 2011. 148 p.
18. Korochkin L. I., Serov O. L., Pudovkin A. I. *Genetika izofermentov* [Genetics of isozymes]. Moscow, Nauka Publ., 1977. 275 p.
19. Ayala F. *Population and evolutionary genetics: a primer*. Menlo Park, Calif.: Benjamin/Cummings Pub. Co. 1982. 268 p.
20. Neel J. V., Schull W. J. *Human heredity*. Univ. of Chicago Press, 1954. 361 p.
21. Zhivotovskii L. A. Problemy analiza kompleksa priznakov [Problems of analysis of the complex of features]. *Ekologicheskaiia genetika i evoliutsiia. Sbornik nauchnykh trudov*. Shisinau, Shtiintsia Publ., 1987. P. 134–177.
22. Trenkler I. V. Zavisimost' vyzhivaemosti lichinok osetra i sevriugi ot kachestva razvivaiushcheisia ikry i sodержaniia rastvorennogo kisloroda v vode [Dependence of survival of sturgeon and stellate sturgeon larvae on the quality of the developing eggs and the content of soluble oxygen in water]. *Osetrovyie na rubezhe XXI veka. Mezhdunarodnaia konferentsiia. Tezisy dokladov*. Astrakhan, Izd-vo KaspNIRKh, 2000. P. 277–278.
23. Kislovskii D. A. *Trudy: Izbrannye sochineniia* [Studies: Selected works]. Moscow, Kolos Publ., 1965. 535 p.
24. Shishanova E. I., Trenkler I. V., Mamonova A. S. Vliianie kriokonservatsii spermy na vyzhivaemost' i geneticheskii polimorfizm lichinok russkogo osetra [Influence of cryoconservation of sperm on survival and genetic polymorphism of larvae of Russian sturgeon]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Rybnoe khoziaistvo*, 2012, no. 2, pp. 105–111.

The article submitted to the editors 30.11.2015

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Mamonova Anastasiya Sergeevna – Russia, 142460, Village named after Vorovskiy, Noginsk region, Moscow region; All-Russian Scientific Research Institute of Irrigation Fish Breeding; Scientific and Production Laboratory; Senior Research Worker; mamonova84@gmail.com.

Shishanova Elena Ivanovna – Russia, 142460, Village named after Vorovskiy, Noginsk region, Moscow region; All-Russian Scientific Research Institute of Irrigation Fish Breeding; Candidate of Biology; Deputy Director for Scientific Work; lena-vniir@mail.ru.

Trenkler Igor Vladimirovich – Russia, 194358, Saint-Petersburg; Ltd "OSETR"; Candidate of Biology; Director; trenkler@list.u

Ofitserov Mikhail Vladimirovich – Russia, 142460, Village named after Vorovskiy, Noginsk region, Moscow region; All-Russian Scientific Research Institute of Irrigation Fish Breeding; Candidate of Biology; Laboratory of Crayfish Cultivation; Senior Research Worker; miha-akademik@yandex.ru.

