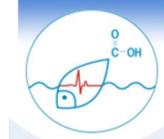




# МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ОЦЕНКИ ТЕМПОВ РОСТА У РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (*ONCORHYNCHUS MYKISS WALB.*) РАЗНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУПП ПРИ КОРМЛЕНИИ ДВУМА ВИДАМИ КОММЕРЧЕСКИХ КОРМОВ



М. А. Родин, М. В. Кузнецова, М. Ю. Крупнова, А. Е. Курицын, Н. Н. Немова, С. А. Мурзина

Институт биологии – обособленное подразделение Федерального государственного учреждения науки Федерального исследовательского центра "Карельский научный центр Российской академии наук", г. Петрозаводск, Россия

e-mail: mikhail.rodin.mr@yandex.ru

Биотехника искусственного выращивания рыб нуждается в создании научно-обоснованных разработок, позволяющих оценить используемые методы и условия выращивания (в том числе рацион питания, освещение, использование биодобавок, температуру воды и др.) на состояние, обмен веществ и темпы роста рыб, которые в значительной степени определяются мышечным ростом. Мышцы составляют большую часть тела рыб и играют важнейшую роль в метаболизме организма.



Постэмбриональный мышечный рост у рыб осуществляется за счет процессов гиперплазии и гипертрофии под контролем специфических миогенных регуляторных факторов (MRFs), а также миостатина (Табл. 1) (Johansen and Overturf, 2005; Alami-Durante et al, 2018). Последовательная экспрессия этих факторов приводит к экспрессии генов мышечных белков, в том числе, миозина, который составляет до 25% общего белка организма и 50% от количества всех мышечных белков (Watabe and Ikeda, 2006).

Таблица 1. Исследуемые показатели

Показатель	Функциональное значение
<b>Экспрессия генов MRFs:</b> - <i>Myf5, MyoD1b</i> ,  - <i>MyoG</i>	- ключевая роль в спецификации и пролиферации миобластов - дифференцировка миобластов
Экспрессия гена миостатина ( <i>MSTN1b</i> )	Подавление мышечного роста, ингибирование пролиферации и дифференцировки мышечных клеток
Экспрессия гена тяжелой цепи миозина ( <i>MyHC</i> )	Показатель, отражающий процессы синтеза белка, его накопления и темпы прироста мышечной массы в целом (Johansen and Overturf, 2006)

Изучение экспрессии данных генов позволяет выявить особенности регуляции процессов мышечного роста при воздействии факторов различной природы. Изменения в процессах регуляции миогенеза могут привести к различиям в соотношении интенсивности процессов гиперплазии и гипертрофии мышечной ткани, что в дальнейшем может повлиять на качество филе.

## Результаты исследования

В ходе эксперимента были зафиксированы различия по массе. В РГ1 и РГ2 через месяц после кормления наблюдалась тенденция к большей массе рыб, питавшихся кормом №1. Различий по массе в РГ3 не наблюдалось.

Таблица 3. Средняя масса (г.) рыб

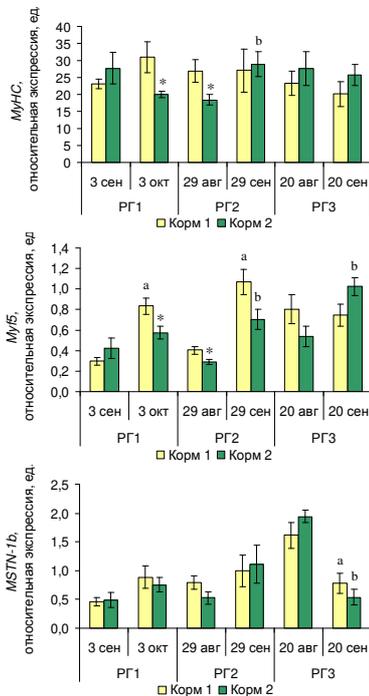
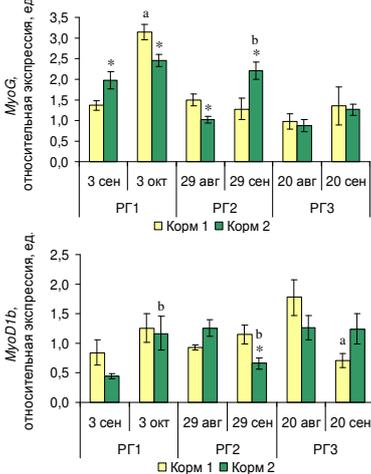
Группа и даты исследования	Масса, г.	
	Корм №1	Корм №2
РГ1	3 сентября (через 1 месяц)	311,67 ± 18,62
	3 октября (через 2 месяца)	463,33 ± 19,92
РГ2	29 августа (через 1 месяц)	681,67 ± 19,77
	29 сентября (через 2 месяца)	975,33 ± 25,85
РГ3	20 августа (через 1 месяц)	1682,93 ± 21,22
	20 сентября (через 2 месяца)	2239,33 ± 57,59

Рисунок 1. Уровень экспрессии мРНК генов в мышцах особей форели из разных размерных групп (РГ), питавшихся двумя разными кормами

\* – различия между экспериментальными группами рыб достоверны (p<0.05)

а – эксп.группа «Корм 1»: различия между датами внутри размерной группы достоверны (p<0.05)

б – эксп.группа «Корм 2»: различия между датами внутри размерной группы достоверны (p<0.05)



## Цель исследования

Сравнительная оценка экспрессии генов миогенных регуляторных факторов (*MyoG, MyoD1b, Myf5*), миостатина (*MSTN1b*) и гена тяжелой цепи миозина (*MyHC*) в скелетных мышцах особей радужной форели *Oncorhynchus mykiss Walb.* разных возрастных групп, выращиваемых с использованием двух видов коммерческих кормов.

## Описание эксперимента

Эксперимент проводился в условиях предприятия в республике Северная Осетия – Алания. Объектом данного исследования была выращиваемая в бассейнах радужная форель трёх размерных (возрастных) групп (РГ1, РГ2, РГ3). Для оценки мышечного роста и состояния рыб использовали два вида коммерческих кормов разных производителей (табл. 2). Эксперимент длился два месяца (август-сентябрь). В период исследования кормление проводили 4 раза в день с учётом содержания кислорода в воде. До начала эксперимента использовали только корм №2. Пробы на анализ собирали через один и два месяца после начала эксперимента. Средняя масса рыб, используемых для анализа, указана в таблице 3.

Таблица 2. Состав кормов

	Корм №1	Корм №2
Сырой белок %	38-43	40-45
Сырой жир %	24-30	25-29
Сырая клетчатка %	1-3,5	2,8-3,0
Зола %	4,1-6,2	4,7
Фосфор %	0,8	0,8
Углеводы (безазотистый экстракт) %	14,7-23,6	-

## Методы исследования

Мышечный рост рыб разных размерных групп и в зависимости от состава корма оценивали по уровню экспрессии генов MRF (*MyoG, MyoD1b, Myf5*), миозина (*MyHC*) и миостатина (*MSTN1b*). Уровень экспрессии исследуемых генов определяли с помощью метода ПЦР в режиме реального времени. Относительный уровень экспрессии гена определяли по пороговому циклу (Ct) с применением метода  $\Delta Ct$  (Livak and Schmittgen, 2001), а нормализовали по уровню экспрессии Ef-1 $\alpha$ , референсного гена фактора элонгации.

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью критерия Краскела-Уоллиса с последующим сравнением выборок с использованием критерия Манна-Уитни. Различия считали достоверными при p<0.05.

Установлены различия в экспрессии генов регуляторов миогенеза у исследуемых групп рыб (рис.1). Наибольшие различия наблюдались в первой и во второй размерной группе. В РГ3 прямых различий в экспрессии генов между группами рыб, питавшихся разными кормами, не выявили.

**Размерная группа 1** Спустя месяц экспрессия гена *MyoG* была выше в мышцах особей, питавшихся кормом №2. Однако через два месяца уровень экспрессии генов *MyHC, MyoG* и *Myf5* был выше у рыб, питавшихся кормом №1, что согласовывалось с данными по их массе. Это характеризует как более интенсивные процессы пролиферации и дифференцировки миобластов в данной группе, так и более интенсивный синтез мышечного белка в целом.

Наблюдались различия в динамике уровня экспрессии генов в ходе эксперимента: к концу второго месяца увеличивался уровень экспрессии генов *MyoG* и *Myf5* в мышцах рыб в группе «Корм №1», и гена *MyoD1b* у рыб, в группе «Корм №2», что указывает на различия в путях регуляции миогенеза.

**Размерная группа 2** Спустя месяц уровни экспрессии генов *MyHC, MyoG* и *Myf5* были выше в мышцах рыб в группе «Корм №1» по сравнению со второй группой. Данные результаты предполагают возможные различия в темпах прироста мышечной массы у рыб в сторону увеличения у особей питающихся кормом № 1.

В ходе эксперимента уровень экспрессии генов *MyoG* и *MyHC* у рыб, питавшихся кормом №2, повышался. Экспрессия гена *Myf5* увеличивалась в обеих группах, но тенденция к более низкому уровню у рыб, питавшихся кормом №2, сохранялась и во второй месяц. Экспрессия *MyoD1b* к концу эксперимента снижалась в мышцах особей в группе «Корм №2», и при этом была ниже, чем в группе «Корм №1». Данные результаты свидетельствуют о различиях в соотношении процессов гипертрофии и гиперплазии у рыб из разных экспериментальных групп.

Были установлены возрастные различия в процессах миогенеза между группами форели по экспрессии некоторых генов. У рыб из группы РГ3 уровень экспрессии *MSTN1b* в первый месяц исследования был выше, чем у рыб из групп РГ1 и РГ2, а экспрессия *MyoG* у рыб в РГ1 была выше по сравнению с другими размерными группами. Это указывает на различия в процессах миогенеза в зависимости от возраста (размера).

Полученные результаты свидетельствуют о различиях в процессах регуляции миогенеза у радужной форели в процессе роста в зависимости от типа используемого корма. Однако влияние изучаемого фактора на процессы регуляции мышечного роста было характерно для рыб определённой массы (до 1000 грамм). Можно предположить, что применение корма №1 в начальные сроки способствует усилению процессов миогенеза и увеличению темпов прироста мышечной массы рыб по сравнению с применением корма №2.