МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

ФГБОУ ВО «КАЛИНИНГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ ТЕХНИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

ФГБОУ ВО «САРАТОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ им. Н.И. ВАВИЛОВА»

VI Национальная научно-практическая конференция

СОСТОЯНИЕ И ПУТИ РАЗВИТИЯ АКВАКУЛЬТУРЫ В РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Санкт-Петербург, 6-7 сентября 2021 г.

УДК 639.3:639.5
ББК 47.2
С23

Редакционная коллегия:
Васильев А.А., Кузнецов М.Ю., Руднева О.Н., Сивохина Л.А.

Состояние и пути развития аквакультуры в Российской Федерации: материалы VI национальной научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 6-7 сентября 2021 г. / под ред. А.А. Васильева; Саратовский ГАУ. – Саратов: Амирит, 2021. – 175 с.

ISBN 978-5-9758-1707-5

В сборнике материалов VI национальной научно-практической конференции приводятся результаты исследования по актуальным проблемам аквакультуры, в рамках решения вопросов продовольственной безопасности, ресурсосберегающих технологий производства рыбной продукции и импортозамещения. Для научных и практических работников, аспирантов и обучающихся по укрупненной группе специальностей и направлений подготовки 35.00.00 сельское, лесное и рыбное хозяйство.

Статьи даны в авторской редакции в соответствии с представленным оригинал-макетом.

Сборник подготовлен и издан при финансовой поддержке
ООО «Рыбоводные фермы УЗВ»
http://U-Z-V.RU
Генеральный директор …

ISBN 978-5-9758-1707-5 © ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ, 2021

УДК 639.2.05;597.5

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ РАКООБРАЗНЫХ, КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ СРЕДЫ

А.Б. АХМЕДЖАНОВА, Л.Ю. ЛАГУТКИНА, С.В. ПОНОМАРЕВ, А.С. МАРТЬЯНОВ

A.B. Akhmedzhanova, L.Yu. Lagutkina, S.V. Ponomarev, A.S. Martyanov

ФГБОУ ВО Астраханский государственный технический университет
FSBEI HE Astrakhan State Technical University

Аннотация. Физиологическое состояние ракообразных во многом определяется показателями метаболизма, в частности показателями гемолимфы. Анализ показателей биохимических биоиндикаторов гемолимфы определяют общую характеристику состояния особей, содержащихся в различных условиях выращивания. Объектом исследования послужил австралийский красноклешневый рак *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868), культивируемый в различных условиях интенсивного и полуинтенсивного выращивания. Представленный авторами статьи сравнительный анализ биоиндикаторов в различных условиях выращивания дополняет информацию, которая представляет значительный интерес для мониторинга условий и методов выращивания данного представителя тепловодной аквакультуры, что будет ценно для формирования рекомендаций для специалистов, занимающихся разведением ракообразных.

Ключевые слова: гемолимфа, физиолого-биохимические показатели, гемоцитарная формула, пруды, бассейны, австралийский красноклешневый рак.

Abstract. The physiological state of crustaceans is largely determined by indicators of metabolism, in particular, indicators of hemolymph. Analysis of indicators of biochemical bioindicators of hemolymph determine the general characteristics of the state of individuals kept in different growing conditions. The object of the study was the Australian red claw crayfish Cherax quadricarinatus (Von Martens, 1868), cultivated under various conditions of intensive and semi-intensive cultivation. The comparative analysis of bioindicators in different growing conditions presented by the authors of the article supplements information that is of significant interest for monitoring the conditions and methods of growing this representative of warm-water aquaculture, which will be valuable for forming recommendations for specialists engaged in crustacean breeding.

Key words: hemolymph, hemocytic formula, ponds, fish tanks, physiological and biochemical parameters, Australian red claw cancer.

Для формирования технологического процесса выращивания и методических рекомендаций в отношении биотехнологии культивирования

объектов тепловодной аквакультуры, необходимо учитывать оценку условий среды путём анализа показателей биоиндикаторов – состояния особей, содержащихся в различных условиях.

В тепловодной аквакультуре наиболее популярный нерыбный объект из числа ракообразных – австралийский красноклешневых рак (*Cherax quadricarinatus).* Это пресноводное ракообразное из отряда десятиногих стало важным объектом аквакультуры в нескольких странах мира из-за высокой питательной ценности, гастрономических свойств и экономической целесообразности товарного выращивания [6].

Однако Министерством сельского хозяйства РФ объект не внесен в справочник объектов аквакультуры и отсутствует нормативная база относительно условий содержания с учетом физиологических норм данного вида.

В России с 2005 года данный объект выращивают по системе «пруд – УЗВ – пруд», используя полуинтенсивный и интенсивный методы выращивания. Применяемая в настоящее время биотехнология может быть скорректирована путем влияния на физиологические и биохимические показатели, с целью увеличения потенциала хозяйственных свойств объекта, например, при помощи разработки новых методов и рецептур кормления.

Цель исследования – дополнить общую характеристику физиологического состояния австралийского пресноводного красноклешневого рака *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) рода Cherax при выращивании в различных условиях среды (пруд, бассейн) рыбоводно-биологическими и биохимическими показателями, а также гемоцитарной формулой.

Выращивание ракообразных выполнялось в прудах площадью 0,75 га при плотности посадки 6000 шт/га на прудовом хозяйстве Астраханской области. Бассейновое содержание проводили в рыбоводных ёмкостях объемом 400 л, оснащенных укрытиями при разреженной плотности посадки, с оборотной водоочисткой и подогревом воды, на базе Инновационного центра «Биоаквапарк – НТЦ аквакультуры» ФГБОУ ВО «Астраханский государственный технический университет».

Используемые комбикорма произведены по рецептуре, разработанной авторами [7]. Сбалансированность корма по содержанию питательных веществ оценивали с учетом протеинового баланса и способа интенсивного и полуинтенсивного выращивания, кормление проводили вручную.

На основании полученных данных рассчитывали показатели темпа роста по величине абсолютного прироста, анализируя скорость наращивания массы [10].

Физиологическое состояние исследуемых объектов оценивали по биохимическим показателям белкового и липидного обменов согласно разработанным методикам [5].

Для измерения оптической плотности полученных проб использовали спектрофотометр Unico 2100. Изучение наиболее мелких деталей на гистологических препаратах гемолимфы и крови производили электронным

микроскопом Olympus (Япония). Мазки готовили при помощи фиксатора-красителя фирмы «Ольвекс-диагностикум» (Россия), используя метод Май-Грюнвальда [1]. Идентификацию гемоцитов по стадиям их цитогенеза оценивали по дифференциальному подсчету типов клеток. Также определяли цитометрические характеристики гемоцитов [2]. Учет товарной продукции проводился поштучным методом.

В ходе экспериментальной работы полученные данные статистически обработали методом вариационной статистики с использованием программы Microsoft Excel 2016 [4]. При расчете применяли t-критерий Стьюдента, достоверными считались различия показателей при $p < 0,05$.

При оценке физиологического состояния ракообразных важное значение имеют физиолого-биохимические и рыбоводно-биологические показатели, изменения которых зависят от способов выращивания [8].

В таблице 1 представлены рыбоводно-биологические показатели выращивания австралийских красноклешневых раков начальной массой от 5,0 г.

Таблица 1 – Рыбоводно-биологический показатели выращивания *Cherax quadricarinatus*

Показатели	пруды	бассейны
Масса, г: начальная конечная	 5,02±1,2 146,3±1,6	 5,14±1,0 100,3±0,7
Абсолютный прирост, г	141,28*	95,16
Среднесуточный прирост, г	1,17*	0,79
Среднесуточная скорость роста, %	2,8*	2,5
Количество, сут.	120	120
Коэффициент массонакопления, ед.	0,088*	0,073

Примечание: $^{*}p \leq 0,05$

Сравнение абсолютного прироста австралийских красноклешневых раков позволило установить, что между группами, выращенными в прудах и культивируемыми в искусственных условиях, имеются достоверные различия ($p<0,05$). У группы раков, выращенных в прудах, абсолютный прирост оказался выше почти в 1,5 раза. Среднесуточный прирост и коэффициент массонакопления также был выше у особей, выращенных в прудах, на - 48,1 % и в 1,2 раза соответственно. Среднесуточная скорость роста у особей, выращенных в прудах, оказалась также выше на 12 %.

Также достоверные ($p<0,05$) различия установлены по средней массе тела выращиваемых особей, средняя масса тела выше на 45,85 % у раков, выращенных в прудовых условиях, чем у раков, культивируемых в бассейновых условиях.

В результате проведенного эксперимента было установлено, что прудовые ракообразные показали наибольший темп роста, динамика объясняется тем,

что, кроме введенных искусственных и влажных кормов, у этих особей в рационе питания присутствовали объекты естественной кормовой базы.

На следующем этапе оценили физиологическое состояние раков по комплексу физиолого-биохимических показателей и с помощью гемоцитарной формулы. Согласно многим авторам объективным методом контроля физиологического состояния является определение общего белка гемолимфы как биоиндикатора условий эффективного выращивания [2, 3]. Разница средних показателей концентрации общего сывороточного белка между возрастными группами была статистически достоверной у раков, выращенных в прудовых условиях, причем данный показатель был выше, чем у раков, выращенных в бассейновых условиях (рис. 1). В условиях прудового выращивания кормление раков осуществлялось путем внесения сухого корма совместно с влажным, также в прудах была достаточно хорошо развита кормовая база, следовательно, данный характер питания отразился на физиологическом состоянии исследуемых объектов, в итоге у раков, выращенных в прудах, концентрация общего белка была выше, чем у особей аналогичного возраста в бассейнах ($p<0,05$, $n=66$).

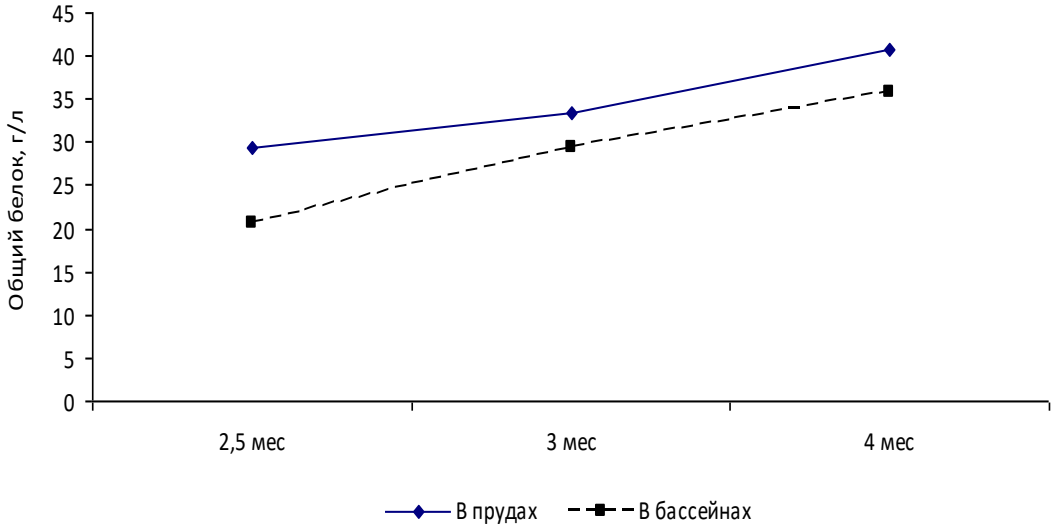

Рисунок 1 - Сравнение концентрации общего белка в гемолимфе *Cherax quadricarinatus*

Холестерин в гемолимфе у ракообразных и у рыб, как и других животных, является одним из ключевых факторов состояния липидного обмена в организме. Он участвует в образовании половых гормонов и входит в состав клеточных мембран. Уровень холестерина в гемолимфе выше 3,5 г/л считается патологичным и свидетельствует о воздействии стрессирующих факторов среды [9]. В нашем исследовании содержание холестерина в гемолимфе у австралийских раков в обоих случаях выращивания находилось в пределах референтных значений (рис. 2). У раков, выращенных в разных условиях, значений концентрации холестерина в крови оказались статистически недостоверными, так, в возрасте 2,5 месяцев значения составили в прудах и в бассейнах 2,8±0,3 ммоль/л и 2,4±0,8 ммоль/л соответственно ($p>0,05$, $n=35$). У

старшевозрастных особей данная тенденция сохранилась, например, в возрасте 4 месяцев показатели составили в прудах и бассейнах 2,8±1,4 ммоль/л и 2,6±0,7 ммоль/л соответственно ($p>0,05$, $n=35$). Выявлено, что для особей, выращенных в бассейновых условиях, характерно «накопление» энергетических веществ в организме, а для раков, выращенных в прудах, стабильность в концентрации показателей, отвечающих за белковый и липидный обмен.

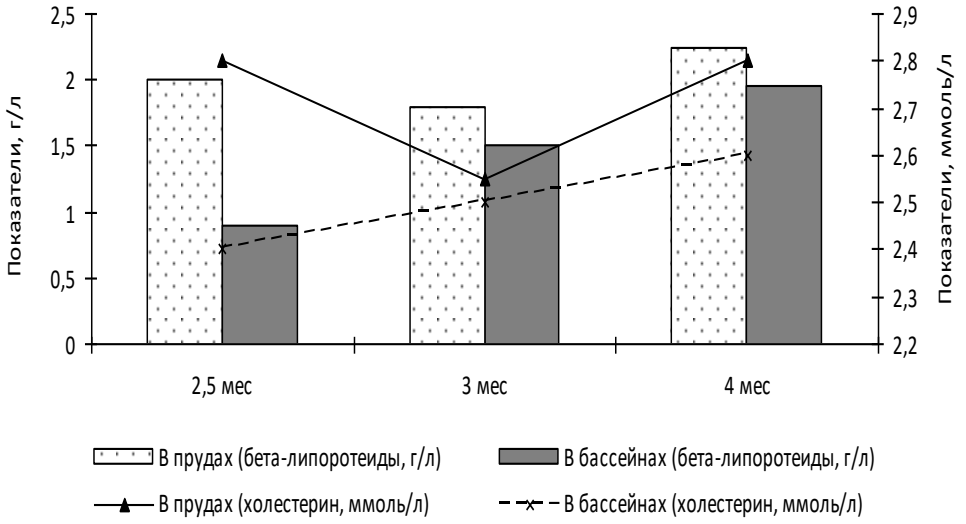

Рисунок 2 - Сравнение концентрации бета-липопротеидов и холестерина в гемолимфе *Cherax quadricarinatus*

Концентрация β-липопротеидов менее 0,5 г/л и более 6,0 г/л часто говорит о резорбции половых продуктов. Особи с патологичным уровнем β-липопротеидов в гемолимфе позднее часто оказываются с нежизнеспособной икрой, так как в процессе ее формирования происходят изменения в компонентном составе белков и соотношении липидов, которые переносятся в икру β-липопротеидами. В нашем исследовании эти показатели находились в пределах «физиологической нормы» [9]. У половозрелых раков из прудов содержание β-липопротеидов было выше в сравнении с бассейновыми особями, что скорее всего связано с активным метаболизмом в организме культивируемых особей. Высокие значения физиолого-биохимических показателей в гемолимфе у раков, выращенных в прудах, скорее всего, объясняются еще и тем, что особи в прудах постоянно ищут пищу и ведут более активный образ жизни, в сравнении с выращенными в бассейнах, поэтому метаболизм и, следовательно, физиолого-биохимические показатели из прудов оказались повышены.

Микроскопическое изучение мазков гемолимфы позволяет оценить качественные показатели гемолимфы, наблюдать за морфологическими изменениями клеток гемоцитов, а также проанализировать гемоцитарную формулу. На следующем этапе экспериментальной работы исследовали гемограмму исследуемых объектов в возрасте 4 месяцев.

Оценка гемоцитарной формулы проводилась по дифференциальному подсчету 4 - типов гемоцитов (ГЦ): 1 - агранулоциты, 2 – полугранулоциты, 3 – гранулоциты, 4 - прозрачные клетки.

Исследование данных гемоцитарной формулы австралийских раков показало, что гранулоциты и прозрачные клетки стабильно встречались на всех мазках (n=18), их процентное соотношение составило у особей, выращенных в прудах и бассейнах, 56,3±1,2 и 48,4±1,8 % соответственно. Прозрачные клетки занимали второе место среди просчитанных гемоцитов. Доля полугранулоцитов от общего числа просчитанных клеток составила в гемолимфе раков, культивируемых в прудах и бассейнах, - 15,2±0,6 и 18,1±0,5 % соответственно. Редко встречающимися форменными элементами были агранулоциты в обоих случаях выращивания.

Таким образом, изучение гемоцитарного состава гемолимфы австралийских раков, содержавшихся в различных условиях выращивания, показало, что гемолимфа носит гранулоцитозный характер (на первом месте были гранулоциты, от общего числа форменных элементов гемолимфы). Второй по численности группой гемоцитов являлись прозрачные клетки, их процентное соотношение составило у раков, выращенных в прудах 23 % и в бассейнах 25,3 %. Полугранулоциты и агранулоциты были представлены в небольшом количестве.

Проведенные исследования выявили у австралийских раков, выращенных в прудовых и бассейновых условиях, сезонную динамику колебаний уровня общего белка, холестерина, β-липопротеидов. Было отмечено, что концентрация общего белка, холестерина и β-липопротеидов в гемолимфе зависит не от возраста раков, а скорее всего от уровня метаболизма в их организме. На протяжении всего периода выращивания у особей, культивируемых в прудах, сохранялся высокий уровень общего белка, холестерина и β-липопротеидов (в пределах референтных значений). Значения этих показателей как биоиндикаторов свидетельствуют о качественных условиях выращивания, повышенном уровне обмена веществ, а также о достаточной подготовленности генеративного обмена у старшевозрастных особей.

По результатам полученных рыбоводно-биологических показателей установлено, что высокие показатели роста были характерны для раков, которые выращивались в прудах. Наиболее критический этап, когда наблюдалась небольшая смертность раков и относительно высокая вариативность биохимических показателей, отмечен в период активных линек. Однако выживаемость у раков, культивируемых в прудах и в бассейнах, была в целом весьма высокой и составила 85 % и 90 % соответственно.

Финансирование. Работа выполняется в рамках гранта Президента Российской Федерации № МК-158.2021.5.

Список литературы:

1. Абрамов, М.Г. Гематологический атлас / М.Г. Абрамов. — М.: Медицина, 1985. — 344 с.
2. Иванов, А.А. Физиолого-биохимические адаптации речных раков (Astacus astacus) при изменении минерализации водной среды / А.А. Иванов, Н.Ю. Корягина, Г.И. Пронина, А.О. Ревякин // Зоотехния. 2011. № 3. – С. 120–128.
3. Иванов, А.А. Гомеостаз внутренней среды гидробионтов: видовые особенности хладнокровных зоотехния и ветеринарная медицина / А.А. Иванов, Г.И. Пронина, Н.Ю. Корягина, А.О. Ревякин // Известия ТСХА. 2013. № 3. – С. 75 – 88.
4. Катмаков, П.С. Биометрия: учеб. пособие для вузов / П.С. Катмаков, В.П. Гавриленко, А.В. Бушов – М.: Юрайт, 2019. – 177 с.
5. Колб, В.Г. Клиническая биохимия: пособие для врачей-лаборантов / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – М.: Беларусь, 1976. – 311 с.
6. Корягина, Н.Ю. Физиолого-биохимическая характеристика речных раков при выращивании в искусственных условиях 03.03.01 Физиология: автореферат дис. … кандидата биологических наук // Н.Ю. Корягина; РГАУ МСХА. – Москва, 2010. – 21 с.
7. Лагуткина, Л.Ю. Перспективное развитие мирового производства кормов для аквакультуры: альтернативные источники сырья / Л.Ю. Лагуткина // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2017. № 1. – С. 67–78.
8. Лагуткина, Л.Ю. Гематологические и биохимические показатели гемолимфы австралийского красноклешневого рака / Л.Ю. Лагуткина, Е.М. Евграфова, Е.Г. Кузьмина, А.М. Мазлов // Вестник АГТУ. Серия: Рыбное хозяйство. 2021. № 2. – С. 134 – 143.
9. Матишов, Г.Г. Комплексный подход к проблеме сохранения и воспроизводства осетровых рыб Каспийского моря / Г.Г. Матишов, А.А. Кокоза, Г.Ф. Металлов, П.П. Гераскин. – Ростов н/Д.: ЮНЦ РАН, 2017. – 352 с.
10. Правдин, И.Ф. Руководство по изучению рыб / И.Ф. Правдин. – М.: Пищевая промышленность, 1966. –376 с.