

ОСОБЕННОСТИ ПОЛУЧЕНИЯ И ИНКУБАЦИИ ИКРЫ ВЫРЕЗУБА (*RUTILUS FRISI*)

Д. В. КОВАЛЬКОВ, А. В. МЫШКИН, Ю. М. САЛТАНОВ

УО «Белорусская государственная сельскохозяйственная академия»,
г. Горки, Могилевская обл., Республика Беларусь

(Поступила в редакцию 25.09.2017)

Резюме. Приведены результаты исследовательских работ по промышленному разведению вырезуба в индустриальных условиях. Объектом исследования было маточное стадо вырезуба рыбного хозяйства ООО «Биоакустик», Московская область, Клинский район. Были проведены морфометрические измерения особей стада, предложен и опробован новый метод гормональных инъекций карповым гипофизом, для получения половых продуктов в искусственных условиях. Описана нативная и оплодотворенная икра, проведены наблюдения за 9 стадиями эмбрионального развития вырезуба, от оплодотворения до выхода личинки из инкубатора.

Ключевые слова: вырезуб, гормональные инъекции, сперма, икра, эмбриональное развитие.

Summary. The article concentrates on the results of research into industrial breeding of kutum. The subject of the research was the broodstock of ООО «Bioacoustics» fish farm, Moscow region, Klin district. We carried out morphometric measurements of the stock specimens, devised and tried out a new method of hormonal injections by the carp pituitary to obtain reproductive products under artificial conditions. In this paper we describe native and fertilized eggs, discuss observations of 9 stages of embryonic development of kutum, from fertilization to hatching and release of larvae from the incubator.

Key words: kutum, hormonal injections, sperm, fish eggs (roe), embryonic development.

Введение. Вырезуб является ценной промысловой рыбой и обладает отличными вкусовыми качествами, высоко ценится в ресторанном бизнесе. Из-за высоких вкусовых качеств в XIX веке вырезуб приближался по стоимости к осетрам [2]. Является типичной проходной рыбой и еще в начале XX века поднимался по Днепру до пределов Беларуси и отмечался в реках Припять, Стырь, Горынь, Сож, Ясельда, Ипуть, Березина [3], однако возведенная плотина Днепровской ГЭС в 1932 году преградила путь вырезубу и с середины XX века этот вид в ихтиологических сводках не упоминался и считается регионально исчезнувшим на территории Республики Беларусь [4]. По этой причине вид является мало изученным, но крайне перспективным объектом исследования, для разведения в условиях установок замкнутого водоснабжения. В Российской Федерации для целей разведения используют жилой подвид вырезуба, несмотря на это механизм размножения изучен не полностью, икру удается получить не в каждый нерестовый сезон, поэтому важной задачей является всестороннее изучение половых процессов вырезуба, а также условий, удовлетворяющих нерестовые потребности рыбы.

Анализ источников.

Систематика.

Название рыбы: Вырезуб

Отряд: Карпообразные – Cypriniformes

Семейство: Карповые – Cyprinidae

Вырезуб (*Rutilus frisii*) – это ценная промысловая рыба, уловы которой в двадцатые годы прошлого века составляли только в Днепровско-Бугском лимане 200–240 т в год [1].

Ареал вырезуба включает бассейн Черного и Азовского морей от рек Восточной Болгарии до Западного Закавказья (Болгария, Молдавия, Украина, Россия, Грузия). Проходная рыба, но есть и жилые формы (Днестр, Днепр, Дон, озера Палеостомы в Грузии и Деркос в Турции, близ Стамбула). В настоящее время проходная форма фактически исчезает.

В естественном ареале обитания особи достигают максимальной массы 8 кг и длины до 70 см [8]. Лоб широкий, спина темная, бока светло-серебристые, брюхо белое. Спинной и хвостовой плавники темные, остальные сероватые. Тело удлинненное, с боков уплощено несильно. Рот конечный, полунижний или нижний, верхняя челюсть слегка выдается над нижней. Рыло тупое, закругленное. Половозрелыми самки вырезуба становятся на четвертом–пятом году жизни, самцы созревают на год раньше. В боковой линии имеется 53–68 чешуй. Жаберных тычинок 7–12. Глоточные зубы однорядные, мощные, короткие, обычно 6–5, редко 6-6 или 5–5, позвонков 42–44. Кариотип: 2n=50, NF=82 [1]. У вырезуба наблюдается половой диморфизм: самки крупнее самцов. Перед нерестом самцы

приобретают «брачный наряд», тело покрывается эпителиальными бугорками – «жемчужной сыпью», которая исчезает сразу же после нереста (рис. 1).



Рис. 1. Вырезуб покрытый «жемчужной сыпью»

Вырезуб мечет икру в апреле–мае на участках с чистой водой и быстрым течением с каменистым дном [6]. При прогревании воды до 9–10 градусов самцы уходят на нерестилища дабы подготовить места для нереста. Они трутся о камни своими наростами (шипами), которые появляются на время нереста, используя их в качестве щетки, очищая камни от икры других рыб, слизи, водорослей и т. д. Самки к этому времени заходят в ямы недалеко от мест нереста. Нерест начинается при температуре воды 12–14 градусов. Первыми нерестятся самые крупные особи. Далее нерестятся особи помельче и так далее в порядке убывания. Нерест разовый, протекает около двух–трех недель, в зависимости от температуры воды и ее перепадов. Плодовитость вырезуба довольно высока 50–150 тысяч.

Цель работы – изучить особенности размножения и эмбриональный период вырезуба, а также усовершенствовать методику получения половых продуктов при незапланированных колебаниях температуры на 2 °С в сторону уменьшения.

Материал и методика исследований. Исследования проводились на базе ФГБНУ ВНИИПРХ, маточное стадо вырезуба было представлено осетровым рыбным заводом «БИОАКУСТИК».

Для получения половых продуктов вырезуба в искусственных условиях воду необходимо подогреть до 14 °С и удерживать эту температуру без колебаний. Если вырезуб был выловлен из естественного водоема при нерестовой температуре, то есть вероятность, что самки в течение нескольких часов могут дать икру. Если этого не происходит, то икру можно получить при помощи гипофизарной инъекции.

Рекомендуется сделать предварительную инъекцию 1 мг для самок и 2 мг для самцов на 1 кг массы рыбы, а затем спустя 12 часов – разрешающую 9 мг/кг только для самок, через 12 часов получать половые продукты (табл. 1) [5].

Если температура в цеху колеблется от 12 °С до 14 °С, что в производственных условиях может встречаться достаточно часто, вероятность получения икры рекомендуемым способом сильно снижается, вплоть до отказа самок от нереста.

Для усовершенствования методики получения половых продуктов при случайных колебаниях температуры в сторону уменьшения было решено разделить маточное стадо на 2 группы, для проведения двух разных способов инъектирования гипофизарными гормонами производителей. На первой группе апробировали стандартный метод, описанный выше, ко второй группе применили разработанный экспериментальный способ.

Суть экспериментального способа заключалось в следующем – в первую очередь производили предварительное дробное инъектирование самок. С утра кололи гормон в дозе 0,5 мг, спустя 12 часов 6 мг на 1 кг массы рыбы. На следующий день утром производили инъектирование самцов, гормон кололи в дозе 2 мг на 1 кг массы рыбы, вечером этого дня кололи разрешающую инъекцию для самок (спустя 24 часа с последней инъекции) 10 мг на 1 кг массы рыбы. Через 12 часов получали половые продукты от самцов и самок (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Дозы гормона при рекомендуемой стандартной методике и экспериментальном способе инъектирования производителей

Доза гормона / пол	Сутки					
	1		2		3	
	Время суток					
	утро	вечер	утро	вечер	утро	вечер
Рекомендуемая стандартная методика при 14 °С – 1 группа						
Доза гормона мг/л самцы	2	–	Получение спермы	–	–	–
Доза гормона мг/л самки	1	9	Получение икры	–	–	–
Предложенная экспериментальная при 12–14 °С – 2 группа						
Доза гормона мг/л самцы	–	–	2	–	Получение спермы	–
Доза гормона мг/л самки	0,5	6	–	10	Получение икры	–

В качестве гонадотропного гормона использовался карповый гипофиз 2,5 мм.

Результаты исследований и их обсуждение. Перед получением половых продуктов самок и самцов следует содержать отдельно. Крупные и старшие по возрасту самки созревают и отдают половые продукты раньше, чем мелкие и младшие. Одним из показателей зрелости самки является крупное, мягкое, слегка розоватое и провислое брюшко.

Производственные испытания метода проходили на осетровом заводе «БИОАКУСТИК». Бралось стадо вырезуба из 51 производителя, 22 самца и 29 самок.

Т а б л и ц а 2. Результаты основных измерений всего маточного стада вырезуба

Таблица основных измерений маточного стада самцов вырезуба на «БИОАКУСТИК»												
Пол	масса, г		наибольший обхват тела, см		вся длина тела, см		длина туловища, см		максимальная высота тела, см		минимальная высота тела, см	
	M±m	Cv±mCv	M±m	Cv±mCv	M±m	Cv±mCv	M±m	Cv±mCv	M±m	Cv±mCv	M±m	Cv±mCv
Самки	503,3 ±22,8	24,4 ±3,2	19,3 ±0,4	10,8 ±1,4	34,4 ±0,5	7,9 ±1,0	29,5 ±0,5	8,4 ±1,1	7,6 ±0,2	10,7 ±1,4	2,8 ±0,1	9,7 ±1,3
Самцы	459,3 ±18,5	18,8 ±2,8	18,3 ±0,4	9,1 ±1,3	34,4 ±0,5	7,2 ±1,0	29,5 ±0,5	7,3 ±1,1	7,1 ±0,1	6,9 ±1,1	2,7 ±0,1	8,9 ±1,3

В нерестовой компании приняли участие четырехгодовалые, впервые нерестующие самки вырезуба, массой от 260 до 750 грамм и длиной тела от 29 до 38 сантиметров.

Самцы также были четырехгодовальными, второй раз приобретающими брачный наряд, массой от 340 до 650 грамм и длиной тела от 33 до 39 сантиметров. Самцы были несколько легче и прогонистее по отношению к самкам.

При этом средняя масса самок составила 503,3±22,8 г, а самцов 459,3±18,5 г, а коэффициент изменчивости 24,4±3,2 и 18,8±2,8 соответственно, что свидетельствует о достаточной однородности стада по этому показателю. При этом средняя длина тела самцов и самок была одинаковой и составила 34,4±0,5 см.

Маточное стадо 29 самок и 22 самца разделили на 15 самок в первой группе и 14 самок во второй, а также по 11 самцов с примерно одинаковой средней массой в каждой группе.

Утром вторых суток после начала инъектирования была вскрыта одна самка массой 600 грамм, из первой группы для изучения степени зрелости икры. Яичники были парные бледно розовые, с крупными хорошо разветвленными сосудами и с небольшой жировой прослойкой (рис. 2).

Масса яичников 67 и 56 г, в одном грамме содержалось 372 икринки, всего примерно 25132 икринок, что является нормой для впервые нерестующей самки. Икра оказалась не овулировавшей IV–III стадии зрелости, икринки были соединены сосудами и тканями яичника, в которой залегали крупные кровеносные сосуды.



Рис. 2. Яичники с икрой

Встречались икринки как нормального размера, так и вдвое меньшего, также были среди них и небольшие группы ооцитов – резервных половых клеток, составляющих фонд на следующий нерест (рис. 3а, б).

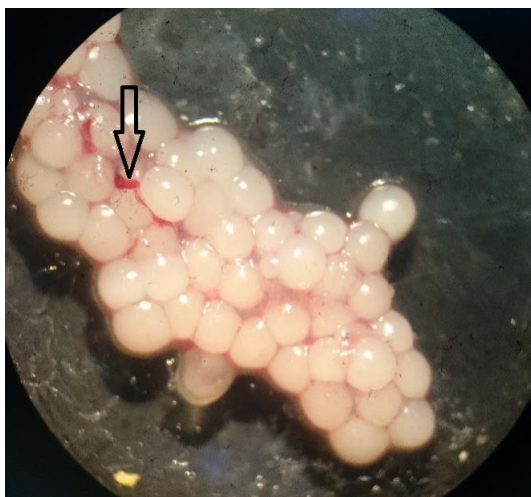


Рис. 3а. Кровеносный сосуд питающий икру

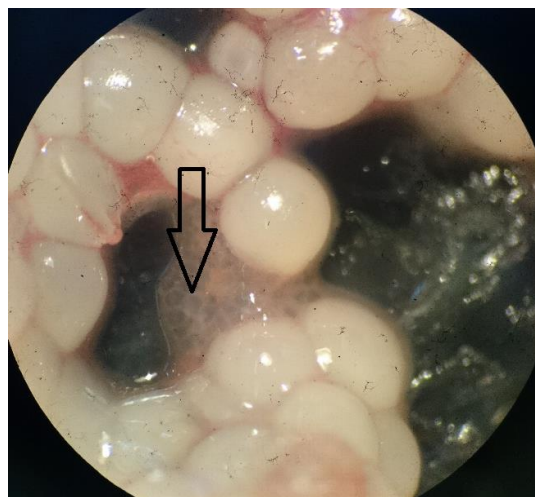


Рис. 3б. Группа ооцитов среди икры

При применении рекомендуемого стандартного способа инъектирования производителей первой группы была получена только сперма самцов, самки икру не дали.

При применении экспериментальной методики инъектирования второй группы удалось получить икру и провести успешное ее оплодотворение, далее провести наблюдение за ее развитием до выплывания личинки.

Всего 80 % самок дали икру, которая успешно оплодотворилась, спустя 9 суток из нее выклюнулись личинки.

Во время получения половых продуктов самцы ведут себя более бойко чем самки. При получении спермы необходимо надевать на руки перчатки, защищающие от травм, которые вырезуб способен нанести «жемчужной сыпью». Всего 90 % самцов дали сперму без проблем, объем полученной семенной жидкости варьируется от 0,1 до 1,5 мл с одного самца, качество спермы различное.

Яйца вырезуба относительно крупные – диаметр желточного мешка зрелой икринки 1,5–1,7 мм, тяжелые, как у всех карповых рыб, в спокойной воде оседают на дно. Оболочка яиц слегка белесова-

тая, мало прозрачная из-за густого слоя ворсинок, которыми яйцо приклеивается к камням. Окраска желтка яиц у различных самок может незначительно варьироваться от бледно-оранжево-желтой до бледно-зеленовато-желтой. Попадая в воду, оболочка отстает от яйца, между ней и яйцом образуется значительное перивителлиновое пространство. Диаметр яйца после набухания оболочки 2,8–3,0 мм, относительный размер перивителлинового пространства, т. е. отношение диаметра яйца с набухшей оболочкой к диаметру желточного мешка – 1,8 [7].

Икра вырезуба, выращенная в производственных условиях на осетровом заводе «БИОАКУСТИК», была меньше, диаметр икринок колебался в пределах от 1,6 мм до 2,1 мм, а диаметр набухших как оплодотворенных, так и неоплодотворенных икринок был одинаков от 2,2 мм до 2,6 мм (рис. 5). Цвет икринок варьировался от серо-желтоватого до оранжевато-розоватого (рис. 6).



Рис. 5. Икра вырезуба с лева нативная с права набухшая.

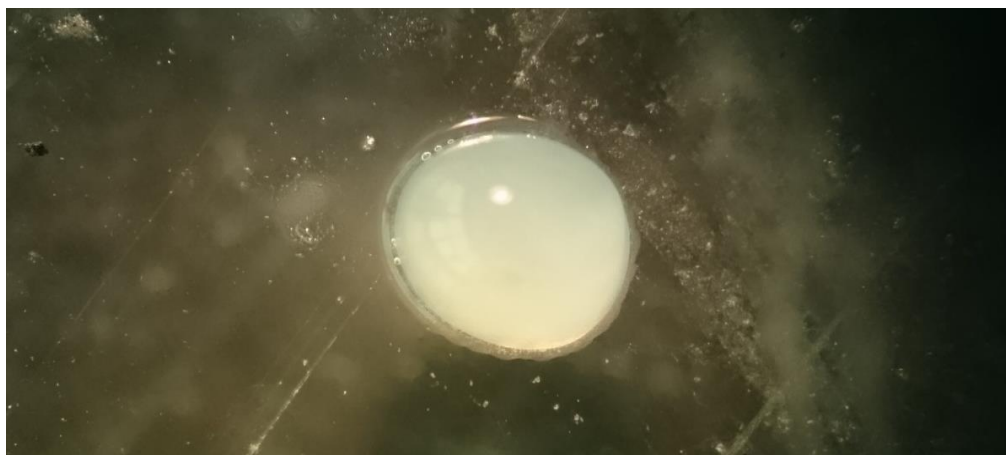


Рис. 6. Нативная икринка вырезуба

На оводненной икринке отчетливо можно разглядеть бывшее место прикрепления сосуда, питавшего икринку во время ее роста – микропиле, которое заметно на протяжении всего эмбрионального периода, кроме того, это единственное прозрачное место в оболочке икринки (рис. 7а, б).

Эмбриональный период жизни (с момента оплодотворения до начала активного питания внешней пищей) вырезуба при колебаниях температуры воды в пределах 12,5–18,5 градусов длится 9–16 суток. С момента оплодотворения и до начала активного питания внешней пищей происходит эмбриональный период жизни. Этот период хорошо описан Смирновой, которая поделила его на 9 этапов. Из-за малой степени прозрачности оболочки икринок вырезуба, этот этап мало описан и не иллюстрирован. Мы попытались детально изучить его и дополнить иллюстрациями. Для этого часть икры, полученной от самок вырезуба, выращенных в промышленных условиях, мы поместили в чашки Петри и провели наблюдения в лабораторных условиях.



Рис. 7а. Микропиле (искусственное освещение)



Рис. 7б. Микропиле (солнечное освещение)

На первом этапе происходит образование перивителлинового пространства и бластодиска. У неоплодотворенной икринки оболочка плотно прилегает к желтку. После оплодотворения в воде при температуре 20 °С икринки приклеивались к поверхности чашки Петри в течение 2–4-х минут. Затем набухли за 15–30 минут, образовав перивителлиновое пространство. Диаметр икры увеличивается в среднем 1,3–1,8 раза. Образование бластодиска у разных икринок начиналось от 1 ч 25 мин., до 1 ч 45 мин. Одновременно в период набухания образуется зародышевый диск, или бластодиск (рис.8а, б).



Рис. 8а. Начало образования бластодиска

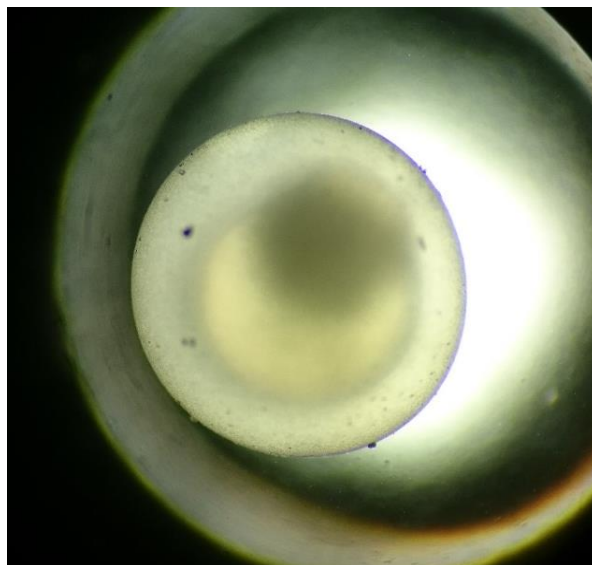


Рис. 8б. Сформированный бластодиск

На втором этапе происходит дробление бластодиска, на его вершине образуются две крупные клетки-бластомера от 1 ч 30 мин., до 2 ч 25 мин. (рис. 9), далее наступают стадия четырех бластомеров от 1 ч 45 мин. до 2 ч 40 мин. (рис. 10), после стадия восьми бластомеров от 2 ч 30 мин. До 6 часов (рис. 11). Через 6 часов с момента оплодотворения наступает стадия морулы крупных клеток (рис. 12).

Далее клетки бластодиска все более дробятся, образуя мелкоклеточную морулу от 8 часов до суток с момента оплодотворения (рис. 13).

Третий эмбриональный этап – образование бластулы – отмечен в возрасте 1 суток 11 часов при температуре воды 16°С.

Четвертый эмбриональный этап – гаструляция, начинается в возрасте 2 суток (рис. 14). Надо отметить, что основная гибель икры происходит, как правило, до этого этапа.

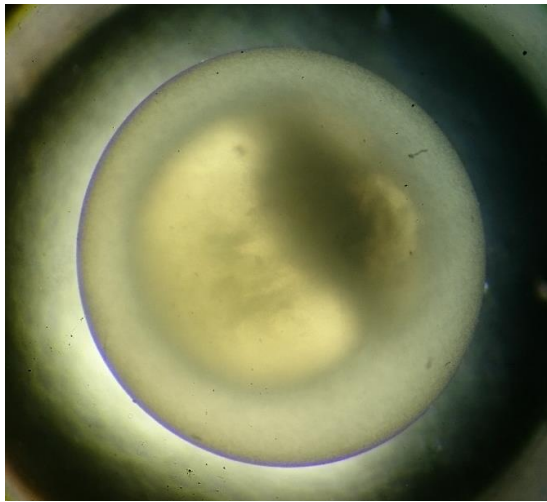


Рис. 9. Два blastomера
(40 градусо-часов, $t^{\circ} 20^{\circ}C$)

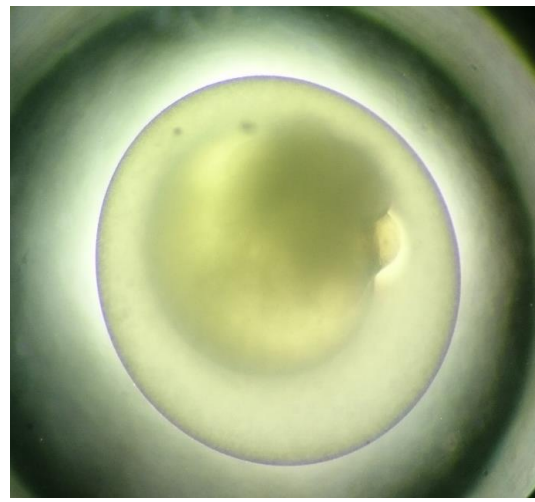


Рис. 10. Четыре blastomера
(50 градусо-часов, $t^{\circ} 20^{\circ}C$)

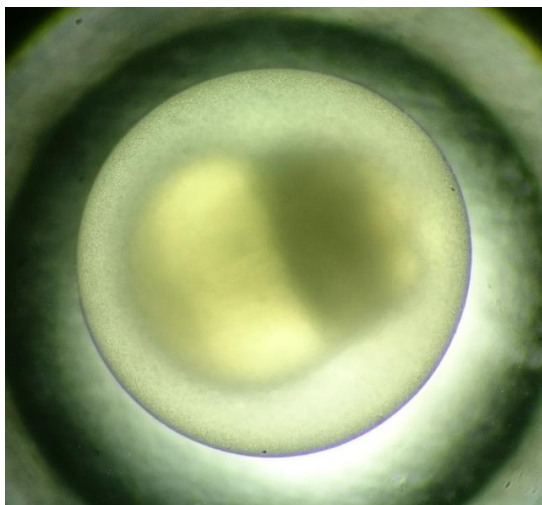


Рис. 11. Восемь blastомеров
(80 градусо-часов, $t^{\circ} 20^{\circ}C$)



Рис. 12. Стадия морулы крупных клеток
(120 градусо-часов, $t^{\circ} 20^{\circ}C$)

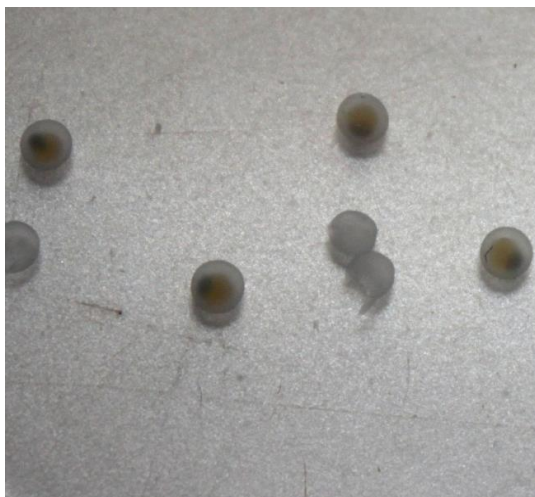


Рис. 13. Мелкоклеточная морула
(128 градусо-часов, $t^{\circ} 16^{\circ}C$)



Рис. 14. Начало сегментации
(48 градусо-дней, $t^{\circ} 16^{\circ}C$)

Пятый эмбриональный этап характеризуется сегментацией туловищной мезодермы, образованием головного и туловищного зачатков, зачатков основных органов: глаз, мозга, слуховых пузырьков, хорды, купферова пузырька, сердца, кишечника.

На этой стадии мы попробовали перевозить икру. Икра перевозилась в термосумках при температуре 16 °С в течение 7 часов. Перевозка прошла успешно, гибели икры не зафиксировано.

Шестой эмбриональный этап характеризуется окончанием сегментации туловищного отдела, образованием отолитов и хрусталиков, а мышечные волокна приобретают способность сокращаться (рис. 15).

Седьмой эмбриональный этап характеризуется отделением головы от желточного мешка, окончанием сегментации, появлением форменных элементов крови. На этом этапе развиваются эмбриональные органы дыхания – кювьеровы протоки и нижняя хвостовая вена, появляются железы вылупления, пигмент в глазах (рис. 16). В конце этапа отмечено начало вылупления эмбрионов вырезуба.



Рис. 15. Шестой эмбриональный этап
(64 градусо-дня, t° 16 °С)



Рис. 16. Седьмой эмбриональный этап
(118 градусо-дней, t° 18 °С)

Восьмой эмбриональный этап характеризуется появлением новых черт в строении и поведении эмбрионов вырезуба. Плавниковая складка дифференцируется на лопасти. Основания грудных плавников становится вертикальными. Развивается плавательный пузырь. Кроме кювьеровых протоков и нижней хвостовой вены как эмбриональный орган дыхания функционирует мощная сеть сегментальных сосудов в спинной плавниковой складке. Развивается пигмент на теле (рис. 17).

Девятый эмбриональный этап является переходным от эмбрионального периода к личиночному. На этом этапе голова совершенно выпрямлена, начинает функционировать рот. Глаза и грудные плавники подвижны (рис. 18). Наряду с эмбриональными органами дыхания, которые к концу этапа оказываются заметно редуцированными, начинают функционировать жабры. После наполнения плавательного пузыря воздухом, эмбрионы переходят к пелагическому образу жизни.



Рис. 17. Восьмой эмбриональный этап
Начало вылупления вырезуба
(154 градусо-дня, t° 18 °С)



Рис. 18. Девятый эмбриональный этап.
Массовый выклев.
(172 градусо-дня, t° 18 °С)

На этом этапе личинка вырезуба обладает одной особенностью: в отличие от многих других карповых рыб она не вымывается потоком воды из аппарата «Вейса», а стремится вниз на ток воды. При этом она умудряется даже заходить в трубы подачи воды на аппараты. Поэтому необходимо оснастить краны регулировки воды на аппараты «Вейса» сеточками, через которые не сможет пройти личинка вырезуба (рис. 19). Для успешного выхода личинок нужно сильно увеличивать проточность в аппаратах «Вейса», и через несколько часов личинки вымываются в личинкоприемник, состоящий из садка, изготовленного из мельничного газа № 18 (рис. 20).



Рис. 19. Кран оснащенный сеткой



Рис. 20. Личинкоприемник с аппаратами «Вейса»

Сумма тепла за время инкубации составила 172 градусо-дня. Икра наблюдалась при ультраярком свете светодиода, размещенного непосредственно под ней. Наблюдения проводились в бинакуляр с увеличением 10*10.

Заключение. Исследования показали, что предложенный экспериментальный способ инъекцирования вырезуба можно применять для успешного нереста при колеблющейся температуре от 12 до 14⁰С. При этом половые продукты можно получить от 80 % производителей. Рассмотрены, описаны и наглядно продемонстрированы 9 этапов эмбрионального периода развития вырезуба. Подсчитаны градусо-дни каждого эмбрионального периода и отмечены их особенности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Атлас пресноводных рыб России / под ред. Ю. С. Решетникова. – М.: Наука, 2003. – Т. 1. – 379 с.
2. Васильева, Е. Д. Природа России: жизнь животных. Рыбы / Е. Д. Васильева. – М.: ООО «Фирма Изд-во АСТ», 1996. – 640 с.
3. Жуков, П. И. Рыбные ресурсы Белоруссии / П. И. Жуков – Минск: Ураджай, – 1983. – 127 с.
4. Красная книга Республики Беларусь. Животные: редкие и находящиеся под угрозой исчезновения виды диких животных / пред. редкол. И. М. Качановский // Министерство природных ресурсов и охраны окружающей среды Республики Беларусь; Национальная академия наук Беларуси. – Минск: Беларуская Энцыклапедыя імя Петруся Броўкі, 2015. – 317 с.
5. Мышкин, А. В. Технологические особенности выращивания и формирования ремонтно-маточного стада вырезуба в условиях различных типов хозяйств / А. В. Мышкин, Р. С. Ражуков // ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт пресноводного рыбного хозяйства». – 2012. – Т. 13. – № 3–51. – С. 643–651.
6. Сироватська, Н. І. Вирозуб *Rutilus frisii* (Nordmann) / Н. І. Сироватська // Праці Українск. філії Озівсько-Чорноморського інституту морського рибного господарства. Т. 7., Вип. 1. Харків: Видавництво наркомпостачання УРСР. 1933. – 80 с.
7. Смирнова, Е. Н. Морфо-экологические особенности развития вырезуба *Rutilus frisii* (Nordm.) // Труды Института морфологии животных им. А. Н. Северцова. Вып. 20. – М.: Издательство Академии наук СССР, 1957. – С. 95–120.
8. Смирнова, Е. Н. Основные задачи по восстановлению и увеличению численности запасов вырезуба / Е. Н. Смирнова, М. Б. Трушинская // Известия ГосНИОРХ, 1964. – Т. 57. – С. 69–76.