

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ФИЗИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ И МЕДИЦИНА EXPERIMENTAL PHYSIOLOGY, MORPHOLOGY AND MEDICINE

---

---

УДК 639.3.034

### ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНОВ НА РЕПРОДУКТИВНЫЕ ФУНКЦИИ РЫБ

*Анна Александровна Бахарева*, кандидат биологических наук, доцент, Астраханский государственный технический университет, Российская Федерация, 414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16, bahareva.anya@yandex.ru

*Юлия Николаевна Грозеску*, кандидат биологических наук, доцент, Астраханский государственный технический университет, Российская Федерация, 414056, г. Астрахань, ул. Татищева, 16, estnauki2009@rambler.ru

Цель исследований – разработка методов повышения качества половых продуктов осетровых рыб. В качестве объектов исследований использовали самок и самцов русского осетра, севрюги. Для улучшения рыболовной продуктивности самок и самцов осетровых рыб целесообразно использовать витаминные препараты, что положительно влияет на скорость созревания производителей, повышает процент ответа на гормональную стимуляцию. Разработанный способ улучшает качество получаемых половых продуктов и повышает жизнестойкость потомства. Преднерестовая подготовка с использованием витаминов сказалась на физиологическом состоянии производителей осетровых рыб. Практически у всех рыб опытной группы, отдавших половые продукты, отмечено улучшение большинства показателей, характеризующих белковый, липидный и углеводный обмены.

**Ключевые слова:** производители, осетровые, самки, самцы, половые продукты, витамины, процент оплодотворения, гормональная стимуляция, жизнестойкость, икра, сперма

### THE EFFECT OF VITAMINS ON FISH REPRODUCTIVE FUNCTIONS

*Bahareva Anna A.*, Ph.D. (Biology), Assistant Professor, Astrakhan State Technical University, 16 Tatishev Str., Astrakhan, 414056, Russian Federation, bahareva.anya@yandex.ru

*Grozescu Yulia N.*, Ph.D. (Biology), Assistant Professor, Astrakhan State Technical University, 16 Tatishev Str., Astrakhan, 414056, Russian Federation, estnauki2009@rambler.ru

The goal of present investigations was the development of improvement of quality of sex products of sturgeons. The females and males of Russian sturgeon, sterlet were objects of research. It is expedient to use vitamins for the increasing of productivity of sturgeon males and females as it has positive effect on the rate of maturation of breeders, increase the percent of the answer to hormonal stimulation. The developed way improves quality of received sexual products and increases viability of offspring. Prespawning preparation with use of vitamins affected a physiological condition of sturgeon breeders. Practically at all fishes of the test group who have given sexual products, improvement of the majority of the indicators characterizing protein, lipid and carbohydrate exchanges is noted.

**Keywords:** breeders, sturgeon, females, males, sexual products, vitamins, the percent of fertilization, hormonal stimulation, viability, eggs, sperm

Повышенное внимание, уделяемое анализу качества половых продуктов при воспроизводстве осетровых рыб, объясняется реальной перспективой потери части уникального потомства. На основные показатели, характеризующие фертильность половых продуктов осетровых рыб, большое влияние оказывают физиологическое состояние производителей и другие параметры, обусловленные как генетически, так и условиями содержания.

Заводское воспроизводство рыб тесно связано с влиянием на их организм стрессовых факторов. Заготовка рыбы сетями на рыбоводных тонях, её транспортировка, преднерестовое выдерживание, пересадки, контакт с человеком являются сильнейшими стрессовыми воздействиями.

Физиологическое состояние производителей и, как следствие, их репродуктивные функции зависят от условий и продолжительности содержания на рыбоводных предприятиях, а также от мест и времени их заготовки и исходного физиологического состояния [3; 6].

При индустриальных методах разведения осетровых рыб значительное внимание должно уделяться технологическим приёмам, снижающим действие на рыб стрессовых факторов, которые угнетают функции гипофизарно-гонадной системы. В результате этого ухудшается качество зрелых половых клеток [8; 13].

Биологически активные вещества уже достаточно давно применяются для активизации защитных физиолого-биохимических реакций организма при воздействии негативных факторов внешней среды [1; 4; 9]. В качестве иммуностимуляторов используют различные вещества, при этом наиболее доступным способом улучшения качества получаемой рыбоводной продукции является использование витаминных препаратов [7; 8; 10; 11].

Целью проведенных исследований явилась разработка методов повышения качества половых продуктов и улучшения физиологического состояния производителей осетровых рыб.

#### ***Материал и методы исследований***

В качестве объектов исследований использовали самок и самцов русского осетра (*Acipenser güldenstaedtii* Brandt et Ratzeburg), севрюги (*Acipenser stellatus* Pallas). Для проведения исследований рыбы каждого пола были поделены на две группы: опытную и контрольную. Производители опытной группы получали витаминные препараты. Гормональная стимуляция самок проводилась с использованием глициринового гипофизарного препарата и сурфагона, самцов – сурфагона.

Для оценки полученных эякулятов использовали методики, применяемые в рыбоводной практике [5]. Сперму и воду (для активации) собирали в стерильные пробирки. Все исследования проводили в охлаждаемом помещении во избежание теплового шока спермиев.

Оплодотворение икры осуществляли «полусухим способом». Инкубацию проводили в аппаратах «Осетр» с нормативной загрузкой в проточной речной воде. Условия инкубации в опытной и контрольной группах были сходными.

Процент оплодотворения икры просчитывали на стадии дробления. Жизнеспособность личинок определяли методом функциональных нагрузок. Личинок тестировали по показателям терморезистентности – устойчивости к сублетальной температуре 32 °С, солеустойчивости – выживаемости в растворе с соленостью 12 ‰.

Гематологические исследования проводили по единым отработанным методикам: концентрацию гемоглобина (Hb) определяли гемиглобинцианидным методом с использованием фотоколориметра; концентрацию эритроцитов (Er) – с использованием электронного прибора “Picoscale PS-4”; общий белок в сыворотке крови (ОБС) – рефрактометрически; общий объем эритроцитов (гематокритную величину – Ht) – с использованием микроцентрифуги [7].

Результаты обработаны статистически с применением программы “Microsoft Excel”, использованы следующие величины: среднее значение и ошибка средней ( $M \pm m$ ), коэффициент вариации (Cv), стандартное отклонение (S).

#### ***Результаты исследований и их обсуждение***

У самцов русского осетра опытной группы процент ответ на спермиацию был на 19 % выше по сравнению с контролем. Сперма русского осетра, полученная от 66 % самцов опытной группы и 33 % самцов контрольной группы, имела цвет и кон-

систенцию цельного молока, внешний вид остальных эякулятов был ближе к разбавленному молоку. Глазомерное определение соотношения живых и мёртвых спермиев не выявило достоверной разнокачественности рассматриваемых проб: большая часть эякулятов характеризовалась оценкой в 5 баллов, у двух самцов контрольной группы – 4 балла. Кроме того, у самцов опытной группы отмечали достоверное увеличение активности сперматозоидов и показателя сперматокрита (табл. 1).

Таблица 1

**Показатели качества спермы самцов русского осетра (*Acipenser güldenstaedtii*)**

Показатели	Варианты опыта	
	Опыт	Контроль
Объем эякулята, мл	308,3 ± 56,9	266,7 ± 19,0
Количество спермиев, млн/мм <sup>3</sup>	1,9 ± 0,2	1,73 ± 0,18
Подвижность, балл	5,0	4,74 ± 0,18
Кол-во мертвых спермиев, %	8,5 ± 0,1	12,5 ± 2,1
Сперматокрит, %	7,1 ± 0,44	6,6 ± 0,45
Время подвижности, мин.*	<u>2,8 ± 0,18</u> 6,6 ± 0,5	<u>1,9 ± 0,2</u> 3,59 ± 0,2

*Примечание:* \* данные над чертой – время до снижения активности спермиев; под чертой – время до полной остановки движения.

Средняя масса самок, получавших витаминные препараты, была на 0,4 г ниже по сравнению с контролем. Из опытной группы самок русского осетра положительно ответили на гормональную стимуляцию 88 %. Созревание у самок опытной группы было более дружным, длительность созревания находилась в пределах нормы. Масса одного ооцита в опыте и контроле достоверно не различалась и составляла 22,0 и 21,1 мг соответственно. То есть по основным показателям икра опытной и контрольной групп рыб значительно не различалась. Однако следует отметить, что самки овулировали икру более высокого рыбоводного качества с процентом оплодотворения выше 90 %.

У рефрактерных самок на ястыках обнаружена частично или полностью недозревшая икра. Масса одной икринки и содержание в ней белка понижены по сравнению с икрой рыбоводно-продуктивных самок.

Из всех самцов севрюги половые продукты удалось получить только в опытной группе (табл. 2).

Таблица 2

**Показатели качества спермы самцов севрюги (*Acipenser stellatus*)**

Показатели	Значение		
	M ± m	S	Cv
Объем эякулята, мл	140,0 ± 36,4	45,8	32,7
Количество спермиев, млн/мм <sup>3</sup>	0,72 ± 0,009	0,16	22,7
Подвижность, балл	4,8 ± 0,2	0,29	5,97
Количество мертвых спермиев, %	15,7 ± 3,5	3,8	5,7
Сперматокрит, %	4,2 ± 0,3	0,47	11,3
Время подвижности, мин.*	<u>3,6 ± 0,2</u> 2,54 ± 0,004	<u>0,34</u> 0,007	<u>21,3</u> 3,1

*Примечание:* \* данные над чертой – время до снижения активности спермиев; под чертой – время до полной остановки движения.

У 75 % самок севрюги опытной группы икра не овулировала или овулировала, но её оплодотворение было снижено до 50 %. В такой икре были обнаружены дегенеративные изменения, сопровождающиеся оводнением. Из контрольной группы на гормональную стимуляцию не ответила ни одна самка.

Преднерестовая подготовка с использованием витаминов положительно сказалась на физиологическом состоянии самок осетровых рыб. Практически у всех рыб опытной группы, отдавших икру, изменилось большинство показателей, характеризующих белковый, липидный и углеводный обмен. Содержание гликогена в печени

самок русского осетра и севриги увеличилось в среднем в 2 раза по сравнению с самками контрольных групп.

У самок русского осетра и севриги контрольных групп отмечали явление гипопроотеинемии. Уровень сывороточного белка у рыбоводнопродуктивных самок русского осетра контрольной группы был снижен на 32 % по сравнению с опытной группой. Этот показатель у самок севриги был ниже референтных показателей (17–19 г/л), что, вероятно, обусловлено их исходным состоянием. Число эритроцитов было также выше у самок русского осетра и севриги опытной группы, причём размер красных клеток был меньше у самок опытной группы, что свидетельствует об увеличении интенсивности эритропоэза.

Многие вещества, поглощаемые рыбой из различных источников как экзогенным, так и эндогенным путём, подвергаются метаболическим превращениям и детоксикации в кишечнике, печени, почках рыб. Основной токсический пресс в организме несёт на себе печень. В печени всех обследованных самок севриги обнаружены те или иные патоморфологические и патогистологические изменения. Отмечали нарушение балочных структур печени. Клетки и ядра отличались полиморфизмом. Цитоплазма клеток содержала достаточно крупные жировые пустоты, которые заполняли не только саму цитоплазму, но и ядро клетки. Таким образом, в цитоплазме наблюдалась крупнокапельная зернистость – один из признаков умеренной жировой дистрофии. Встречались и воспалительные изменения соединительнотканной оболочки, сопровождающей сосуды. Обычно эти изменения предшествуют нарушениям микроциркуляции, которые приводят к развитию воспалительной гиперемии. Капилляры на препаратах обычно были неравномерно расширены, заполнены элементами крови. Диаметр клеток печени составлял  $22,7 \pm 4,5$  мкм, ядер –  $7,8 \pm 1,5$ , жировых пустот –  $6,4 \pm 0,2$  мкм.

Нарушения обмена веществ у производителей существенно влияют на генеративный обмен, что приводит к отклонениям в составе и соотношении белковых и липидных компонентов, накапливаемых в икре рыб. Такая икра, как правило, имеет низкий процент оплодотворения [2].

Самцы русского осетра, получавшие витаминные препараты, в целом характеризовались нормальным физиологическим состоянием. Уровень гемоглобина в крови самцов русского осетра опытной группы был выше на 8 % по сравнению с контролем. Показатели скорости оседания эритроцитов и уровня сывороточного белка находились на уровне референтных показателей, тогда как у рыб контрольной группы эти величины достоверно отличались от нормы (табл. 3).

Таблица 3

**Показатели крови самцов русского осетра**

Показатели	Опыт	Контроль
<i>Положительно отреагировавшие на спермиацию</i>		
Масса рыб, кг	10,4±2,7	12,7±3,8
Гемоглобин, г·л <sup>-1</sup>	87,6±3,5	73,8±1,6
Ht, л/л	0,30±0,3	0,26±0,3
Eg, 10 <sup>6</sup> /мкл	0,46±0,01	0,53±0,02
СОЭ, мм/ч	4,8±0,2	6,1±0,3
СГЭ, пг	173,0±0,4	150,5±2,8
Цветной показатель	6,52±0,02	4,54±0,09
ОСБ, г·л <sup>-1</sup>	17,0±0,1	13,8±0,1
<i>Неотреагировавшие на спермиацию</i>		
Масса рыб, кг	7,7±1,8	6,5±1,7
Гемоглобин, г·л <sup>-1</sup>	70,2±1,8	68,4±0,5
Ht, л/л	0,24±0,5	0,26±0,2
Eg, 10 <sup>6</sup> /мкл	0,48±0,07	0,44±0,1
СГЭ, пг	172,1,1±0,5	158,6
СОЭ, мм/ч	5,2±0,3	6,5±0,5
Цветной показатель	4,89±0,5	4,2±0,07
ОСБ, г·л <sup>-1</sup>	18,2±0,06	21,4±0,09

Таким образом, для улучшения рыбоводной продуктивности самок и самцов осетровых рыб целесообразно в преднерестовый период использовать витаминные препараты. Это позволяет снизить негативное воздействие стрессовых факторов, положительно влияет на скорость созревания самок, повышает процент ответа на гормональную стимуляцию до 88 %, при увеличении оплодотворяемости икры до 91,8 %.

Применение витаминных препаратов оказывает положительное влияние на фертильность самцов осетровых рыб. Наблюдается увеличение количества рыб, ответивших на гормональную стимуляцию, до 43 % (на 19 % выше по сравнению с контролем) у русского осетра и до 100 % – у севрюги. По качественным показателям сперма, полученная от самцов опытной группы, значительно превосходила эякуляты самцов контрольной группы.

Разработанный способ оказывает положительное влияние на жизнестойкость потомства. Содержание протеина и гликогена в икре русского осетра, полученной от самок опытной группы, было на 8 % выше, чем в контроле. Отмечали снижение количества аномалий в период эмбрионального и постэмбрионального развития средним на 22 %.

Переход на активное питание у предличинок, полученных от проинъецированных самок, был более дружным и проходил по времени раньше, чем у рыб контрольной группы. Выживаемость личинок при переходе на активное питание в опытной и контрольной группах составила 59 и 40 % соответственно. Терморезистентность и солеустойчивость была выше у личинок, полученных от проинъецированных самок.

#### **Список литературы**

1. **Бахарева А. А.** Опыт доместикации «дикий» стерляди в условиях рыбоводного комплекса на Волжской ГЭС / А. А. Бахарева, Ю. Н. Грозеску, Д. Н. Сырбулов // Рыбное хозяйство. – 2008. – № 6. – С. 70–71.
2. **Гераскин П. П.** Современное физиологическое состояние каспийских осетровых / П. П. Гераскин, Г. Ф. Металлов, Г. К. Шелухин, Ю. В. Алтуфьев, В. П. Аксенов // Рыбоводство и рыболовство. – 2001. – № 1. – С. 48–50.
3. **Грозеску Ю. Н.** Использование гематологических показателей для отбора рыбводно-продуктивных самок и самцов осетровых рыб / Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. – 2008. – № 3. – С. 18–21.
4. **Земков Г. В.** Эффективность искусственного оплодотворения икры в зависимости от патоморфологических и метаболических нарушений в организме осетровых / Г. В. Земков, Г. Ф. Журавлева // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. – Астрахань : Астраханский гос. тех. ун-т, 2000. – С. 70–75.
5. **Казаков Р. В.** Методика исследования половых продуктов самцов рыб / Р. В. Казаков // Типовые методики исследования продуктивности видов рыб в пределах их ареалов. – Вильнюс : Мокслас, 1981. – Ч. 4. – С. 108–118.
6. **Лукьяненко В. И.** Физиолого-биохимическая и рыбоводная характеристика разновозрастных производителей волго-каспийских осетровых в связи с проблемой их искусственного воспроизводства / В. И. Лукьяненко, П. В. Кулик. – Рыбинск : Академия наук России, Институт биологии внутренних вод им. И. Д. Папанина, 1994. – 266 с.
7. **Пономарев С. В.** Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России / С. В. Пономарев, Е. А. Гамыгин, С. И. Никоноров, Е. Н. Пономарева, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева. – Астрахань : Нова Плюс, 2002. – 264 с.
8. **Пономарев С. В.** Технология применения реабилитационных витаминных инъекций для производителей осетровых рыб / С. В. Пономарев, М. Н. Сорокина, Е. Н. Пономарева, В. В. Говорунова, А. А. Хаустов, В. Е. Дубов, Ю. Н. Грозеску, А. А. Бахарева, В. Г. Чипинов. – Астрахань : Новая линия, 2003. – 13 с.
9. **Brown M. R.** Effects of  $\alpha$ -tocopherol supplementation of rotifers on the growth of striped trumpeter *Latris lineate* larvae / M. R. Brown, G. A. Dunstan, P. D. Nichols, S. C. Battaglione, D. T. Morehead, A. L. Overweter // Aquaculture. – 2005. Vol. 246. – P. 367–378.
10. **Cowey C. B.** The vitamin E requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing polyunsaturated fatty acids derived from fish oil / C. B. Cowey, J. W. Adron // Aquaculture. – 1983. – Vol. 30, № 1–4. – P. 85–93.

11. **Hamre K.** Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish / K. Hamre // *Aquaculture Nutrition*. – 2011. – Vol. 17. – P. 98–115.
12. **Pickering A. D.** Husbandry and stress in fish. Satellite symposium on applications of comparative endocrinology to fish culture / A. D. Pickering // *Almuecar*. – Granada, 1989. – P. 157–167.
13. **Sacai M.** Current research status of fish immunostimulants / M. Sacai // *Aquaculture*. – 1999. Vol. 172, № 1–2. – P. 63–92.

#### **References**

1. Bakhareva A. A., Grozesku Yu. N., Syrbulov D. N. Opyt domestikatsii "dikoy" sterlyadi v usloviyakh rybovodnogo kompleksa na Volzhskoy GES [The experience of the domestication of "wild" sterlet in the conditions of the fish-breeding complex in the Volga hydroelectric power station]. *Rybnoe khozyaystvo* [Fish Industry], 2008, no. 6, pp. 70–71. (in Rus.)
2. Geraskin P. P., Metallov G. F., Shelukhin G. K., Altufev Yu. V., Aksenov V. P. Sovremennoe fiziologicheskoe sostoyanie kaspyskikh osetrovyykh [Modern physiological condition of the Caspian sturgeon]. *Rybovodstvo i rybolovstvo* [Fish Farming and Fishery], 2001, no. 1, pp. 48–50. (in Rus.)
3. Grozesku Yu. N., Bakhareva A. A. Ispolzovanie gematologicheskikh pokazateley dlya otbora rybovodno-produktivnykh samok i samtsov osetrovyykh ryb [The use of hematologic indicators for the selection of fish-breeding-productive females and males sturgeon]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya "Rybnoe khozyaystvo"* [Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series "Fish Industry"], 2008, no. 3, pp. 18–21. (in Rus.)
4. Zemkov G. V., Zhuravleva G. F. Effektivnost iskusstvennogo oplodotvoreniya ikry v zavisimosti ot patomorfologicheskikh i metabolicheskikh narusheniy v organizme osetrovyykh [The effectiveness of the artificial fertilization of caviar depending on pathomorphological and metabolic disorders in the organism of sturgeon]. *Vestnik Astrakhanskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta. Seriya "Rybnoe khozyaystvo"* [Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Series "Fish Industry"], Astrakhan, Publ. Astrakhan State Technical University, 2000, pp. 70–75. (in Rus.)
5. Kazakov R. V. Metodika issledovaniya polovykh produktov samtsov ryb [Technique of research of fish males' sexual products]. *Tipovye metodiki issledovaniya produktivnosti vidov ryb v predelakh ikh arealov* [Typical methods of research productivity of fish species within their ranges]. Vilnyus, Mokslas, 1981, part 4, pp. 108–118. (in Rus.)
6. Lukyanenko V. I., Kulik P. V. *Fiziologo-biokhimicheskaya i rybovodnaya kharakteristika raznovozrastnykh proizvoditeley volgo-kaspiyskikh osetrovyykh v svyazi s problemoy ikh iskusstvennogo vosproizvodstva* [Physiological-biochemical and piscicultural characteristic uneven breeders of the Volga-Caspian sturgeons in connection with the problem of artificial reproduction]. Rybinsk, Russian Academy of Sciences, Institute of Biology of Inland Waters behalf I. D. Papanin, 1994, 266 p. (in Rus.)
7. Ponomarev S. V., Gamygin Ye. A., Nikonorov S. I., Ponomareva Ye. N., Grozesku Yu. N., Bakhareva A. A. *Tekhnologii vyrashchivaniya i kormleniya obektov akvakultury yuga Rossii* [Technologies of cultivation and feeding of aquaculture facilities of the South of Russia]. Astrakhan, Publ. Nova Plus, 2002, 264 p. (in Rus.)
8. Ponomarev S. V., Sorokina M. N., Ponomareva Ye. N., Govorunova V. V., Khaustov A. A., Dubov V. Ye., Grozesku Yu. N., Bakhareva A. A., Chipinov V. G. *Tekhnologiya primeneniya reabilitatsionnykh vitaminnykh inektsiy dlya proizvoditeley osetrovyykh ryb* [The technology of rehabilitation of vitamin injections for sturgeon breeders]. Astrakhan, Publ. New Line, 2003, 13 p. (in Rus.)
9. Brown M. R., Dunstan G. A., Nichols P. D., Battaglone S. C., Morehead D. T., Overweter A. L. Effects of  $\alpha$ -tocopherol supplementation of rotifers on the growth of striped trumpeter *Latris lineate* larvae. *Aquaculture*, 2005, vol. 246, pp. 367–378.
10. Cowey C. B., Adron J. W. The vitamin E requirement of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) given diets containing polyunsaturated fatty acids derived from fish oil. *Aquaculture*, 1983, vol. 30, no. 1–4, pp. 85–93.
11. Hamre K. Metabolism, interactions, requirements and functions of vitamin E in fish. *Aquaculture Nutrition*, 2011, vol. 17, pp. 98–115.
12. Pickering A. D. Husbandry and stress in fish. Satellite symposium on applications of comparative endocrinology to fish culture. *Almuecar*. Granada, 1989, pp. 157–167.
13. Sacai M. Current research status of fish immunostimulants. *Aquaculture*, 1999, vol. 172, no. 1–2, pp. 63–92.