

## БИОЛОГИЯ

УДК 639.3.043.13 : 636.087.73

### ПОВЫШЕНИЕ РЕЗИСТЕНТНОСТИ ОСЕТРОВЫХ РЫБ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ВИТАМИННЫХ ПРЕПАРАТОВ

© 2005 г. Е.Н. Пономарева<sup>1</sup>, С.В. Пономарев<sup>2</sup>, М.Н. Сорокина<sup>2</sup>, А.В. Храмова<sup>2</sup>

Для подготовки самок осетровых рыб к нересту и улучшения их физиологического состояния были проведены инъекции комплекса витаминов С, Е и В<sub>12</sub>. Результаты исследований показали высокую эффективность применения комплекса витаминов для самок осетровых рыб с целью повышения качества полученного потомства. Отмечено влияние цианкобаламина на повышение жизнестойкости развивающейся икры и личинок русского осетра. Процент выживаемости свободных эмбрионов увеличивается на 9 %, личинок – на 6%.

В мировой практике вопросы совершенствования методов искусственного разведения ценных промысловых рыб и дальнейшее повышение продуктивности водоемов за счет обеспечения высококачественным посадочным материалом выдвигаются на первый план. Индустриальные технологии выращивания в последнее время широко применяются на предприятиях, занимающихся промышленным воспроизводством ценных видов промысловых рыб. В то же время до сих пор существует необходимость в совершенствовании технологий выращивания жизнеспособной крупной молоди. Ухудшение экологических показателей водной среды на юге России, мощные антропогенные воздействия, в том числе – перелов, привели к сокращению численности ценных промысловых видов рыб. В связи с этим роль искусственного воспроизводства в формировании и сохранении видового состава и запасов осетровых рыб еще более возрастает и приобретает доминирующее значение [1].

В настоящее время ведется поиск биологически активных веществ, ослабляющих отрицательное воздействие окружающей среды, с целью их использования на самых ранних стадиях развития. Применяется несколько групп веществ, повышающих жизнестойкость рыб. Потребление витаминов – необходимое условие нормального функционирования живого организма. Витамины в течение последней четверти века успешно применяют в животноводстве с целью увеличе-

ния общей сопротивляемости организма неблагоприятным воздействиям и акселерации роста [2]. Доказана защитная роль аскорбиновой кислоты и витамина Е при отравлении хлорорганическими токсикантами и ртутью [3, 4]. Однако до настоящего времени очень мало работ посвящено изучению возможного защитного действия биологически активных веществ на организм в периоды раннего онтогенеза на фоне интоксикации [5].

В качестве стимулятора развития в периоды раннего онтогенеза успешно применяются витамины группы В. Витамин В<sub>12</sub> – единственный водорастворимый витамин, способный аккумулироваться в организме. Он связан с осуществлением биокаталитических реакций, обеспечивающих кроветворную функцию организма, и способствует нормализации функции печени, благоприятно влияет на регенерацию нервных волокон. Витамин В<sub>12</sub> необходим для нормального роста и функционирования организма. Совместно с холином и метионином он обладает эффективным липотропным действием (предотвращает отложение жира в печени). Витамин В<sub>12</sub> повышает жизнестойкость и резистентность рыб к действию токсикантов как органической, так и неорганической природы. Результаты обработки витамином В<sub>12</sub> особей кижуча, сима, балтийского лосося и радужной форели в концентрации 0,4–1,0 мг/л и экспозиции 2–6 часов существенно повышают токсикорезистентность и жизнестойкость рыб. При этом не отмечено нарушений в развитии, скорости эмбриогенеза и массовости вылупления [6]. Цианкобаламин совместно с тиамином используют для увеличения

<sup>1</sup> Южный научный центр РАН, г. Ростов-на-Дону

<sup>2</sup> Астраханский государственный технический университет, г. Астрахань

токсикорезистентности производителей карпа и растительноядных рыб и получения жизнестойких личинок в условиях повышенного загрязнения водоемов. Применение инъекций витаминов В<sub>1</sub> и В<sub>12</sub> производителям в процессе получения потомства, на стадии предварительного инъектирования самок гипофизарной инъекцией, повышает выход трехдневных личинок карпа, пестрого и белого толстолобиков, снижает посленерестовую гибель [7].

Таким образом, использование комплекса витаминов С, Е и В<sub>12</sub> в преднерестовый период будет способствовать повышению жизнестойкости не только производителей, но и впоследствии улучшит качество полученного потомства, повышая жизнестойкость ранней молоди осетровых рыб и увеличивая выход молоди.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследований послужили взрослые особи русского осетра, икра и личинки. Для подготовки самок осетровых рыб к зимнему содержанию и улучшения их физиологического состояния были проведены инъекции комплекса витаминов С, Е и В<sub>12</sub>. Инъектирование витаминами проводили перед зимовкой и перед нерестом. Кратность инъектирования перед зимовкой составила один раз в месяц – с сентября по ноябрь, а перед нерестом – один раз в две недели. В контрольном варианте инъекции витаминов самкам не проводили. Для проведения инъекций использовали фармацевтические препараты аскорбиновой кислоты (5% раствор), α-токоферол-ацетата (10%) и витамин В<sub>12</sub> (500 мкг).

Влияние витаминных инъекций определяли на основании данных созревания производителей, процента оплодотворения, выхода икры, а также выживаемости эмбрионов и личинок. Для определения процента оплодотворения икры брали пробы на стадии второго деления – 4 бластомера, стадия 5 [8].

Обработку икры русского осетра цианкобаламином проводили в период отмывки в аппаратах обесклеивания икры в течение 45 минут перед размещением на инкубацию. Нормы введения витамина В<sub>12</sub> составили 0,5 мг/л, 1,0 мг/л и 1,5 мг/л. Самки, которым проводили инъектирование, созрели раньше по времени. Вся отобранная от них икра была доброкачественной, однако процент оплодотворения в опытном варианте у самок русского осетра был выше на 3%.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты использования витамина В<sub>12</sub> в период подготовки икры русского осетра к инкубации представлены в таблице 1. Во всех опытных вариантах отмечен высокий выход свободных эмбрионов. Лучшие результаты были получены во втором варианте опыта (1 мг/л В<sub>12</sub>), где выход свободных эмбрионов составил 75%, в контроле – 68%.

Вторая серия опытов, где витамины С, Е, и В<sub>12</sub> вводили производителям перед нерестом в виде инъекций и дополнительно обрабатывали икру в период отмывки цианкобаламином, выявила лучшие результаты (табл. 1).

При искусственном воспроизводстве качество и жизнестойкость личинок и молоди зависят не только от условий выращивания, но и от качества исходного материала (икры и спермы), которое в свою очередь определяется состоянием производителей [9]. Поэтому необходимо было оценить качество икры, полученной от производителей после проведения витаминных инъекций.

Поступая в организм витамины накапливаются в ооцитах, создавая резерв, который в эмбриональный и постэмбриональный периоды используется для обеспечения зародыша витаминами [10–12]. Определение содержания витаминов С и Е в икре показало, что у русского осетра опытной группы содержание этих витаминов было выше на 40,1% и 29,4%, соответственно при  $P < 0,001$ .

Биохимический анализ показал, что икра, полученная от проинъектированных витаминами

Таблица 1. Результаты влияния витаминов С, Е и В<sub>12</sub> на икру и личинки русского осетра

Показатели	Обработка икры витамином В <sub>12</sub> перед инкубацией			Контроль
	0,5 мг/л	1 мг/л	1,5 мг/л	
Выход свободных эмбрионов, %	70	75	73	68
Выход личинок при переходе на активное питание, %	59	64	63	56
Инъектирование самок витаминами С, Е, В <sub>12</sub> и обработка икры витамином В <sub>12</sub>				
Выход свободных эмбрионов, %	72	78	76	69
Выход личинок при переходе на активное питание, %	60	66	64	60

Таблица 2. Общий химический состав икры русского осетра

Показатели	Опыт	Контроль
Влага %	48,3% ± 14***	54,6 ± 1,2
Сухое вещество, %	51,7 ± 1,0***	45,4 ± 1,3
Протеин	30,1 ± 1,1***	24,8±0,8
Жир	16 ± 0,7**	14±0,8
Углеводы	2,5 ± 0,2**	2,4±0,3
Зола	3,1	4,2

Примечание: различия достоверны при \*\*P < 0,01; \*\*\*P < 0,001

Таблица 3. Нарушения в эмбриональном развитии, %

Виды нарушений	Опыт	Контроль
Процесс дробления	2,2±0,41***	4,6±0,33
Закрытие бластопора	1,0±0,32***	2,7±0,28
Укороченная или искривленная нервная пластинка	3,6±0,91*	5,9±0,36
Недоразвитие передних отделов головы и тела	3,4±0,25***	6,8±0,49
Укороченное или искривленное тело	4,3±0,62*	5,9±0,54

Примечание: различия достоверны \*P < 0,05; \*\*\*P < 0,001

самок, отличалась от контрольной группы более высоким содержанием протеина (на 6,7%) и жира (на 5%), что важно в период эмбрионального развития и в дальнейшем может оказать влияние на жизнестойкость эмбрионов (табл. 2). Высокая концентрация липидов является свидетельством того, что их расход в организме был значительно ниже.

При исследованиях в период эмбриогенеза отмечено, что наибольшая гибель эмбрионов в период инкубации была в контрольной группе и составила 31,9%, тогда как в опытной группе этот показатель составил 25,4%. Высокая гибель эмбрионов в контрольной группе отмечена до начала гастрюляции. Наибольший отход эмбрионов в опытных группах наблюдали в период прохождения критических стадий развития, но он был меньше, чем в контрольной группе. Вылупление эмбрионов опытной группы проходило на 4–5-е сутки и по продолжительности составило сутки. Продолжительность зародышевого развития икры контрольной группы было на 2–3 суток дольше, период вылупления предличинок составил двое суток. Очевидно, наибольший отход и замедленное развитие в период эмбриогенеза свидетельствует о более низком качестве икры контрольной группы. Это согласуется с литературными данными [13, 14].

В период развития эмбрионов, полученных от производителей контрольной группы, по сравнению с опытной группой, был отмечен больший процент нарушений в развитии (табл. 3).

В период дробления на стадии второго деления (5 стадия) наблюдали возникновение сразу нескольких бластомеров. Процент таких нарушений в опытной группе составил 2,2%, в контрольной группе он был выше в два раза. В конце гастрюляции в контрольной группе наблюдали значительное количество эмбрионов с большими желточными пробками (2,7%), что привело в дальнейшем к нарушению в образовании нервной пластинки (5,9%) и, как следствие, недоразвитию различных отделов тела (6,8%). В опытной группе таких нарушений было в два раза меньше. При вылуплении процент эмбрионов с искривленным и укороченным телом, а также недоразвитием передних отделов тела, в опытной группе составил 3,4%, в контроле – 6,8%. По данным Т.А. Детлаф и др. [13], причиной отмеченных нарушений в развитии могут являться нарушения в период созревания ооцитов, приводящие к снижению качества икры, что, в свою очередь, приводит к атипичному течению процессов дробления, гастрюляции, а затем и всего последующего развития.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о высоком качестве икры, полученной от проинъецированных витаминами самок. Очевидно, это связано с лучшей подготовленностью производителей к нересту. Это подтверждается данными ряда авторов, отмечающих, что высокий процент морфологических аномалий неоплодотворенной икры и характер нарушений в эмбриогенезе может служить показателем неудовлетворительного физиологического состояния производителей осетровых рыб в преднерестовый период [9].

Подготовка производителей с использованием витаминных инъекций в преднерестовый период способствовала улучшению качества икры и увеличению процента оплодотворения в опытном варианте. Обработка икры русского осетра цианкобаламином перед закладкой на инкубацию увеличила процент выживаемости свободных эмбрионов на 9%, личинок – на 6%.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали высокую эффективность применения комплекса витаминов для самок осетровых рыб, повышающим выживаемость полученного потомства и снижающим процент нарушений в их развитии.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шагаева В.Г., Никольская М.П., Акимова Н.В., Марков К.П., Никольская Н.Г. // Вопросы ихтиологии, 1993. Т. 33. № 2. С. 230–240.
2. Савезо В.И. Биологические стимуляторы роста и развития сельскохозяйственных животных. Минск: Изд. Наука, 1981. 50 с.
3. Agrawal N.K., Juneja G.J., Mahajan C.E. // Toxicology, 1978. V. 11. № 4. P. 269–375.
4. Kling L.J., Soares J.M. // Nat. Rep. Int., 1981. V. 24. № 1. P. 39–46.
5. Глубоков А.И. Способ повышения жизнестойкости икры и личинок рыб. БИ, 1986. № 26. Авт. свидет. № 1243667.
6. Глубоков А.И. // Водная токсикология и оптимизация биопродукционных процессов в аквакультуре. М.: Изд. ВНИРО, 1988. С. 130–138.
7. Духовенко Г.С., Сергеева Н.Р. // Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре. Тез. докл. Междунар. симп., Адлер, 21–24 окт., 1996 г. Краснодар, 1996. С. 80.
8. Детлаф Т.А., Гинзбург А.С. Зародышевое развитие осетровых рыб (севрюги, осетра и белуги) в связи с вопросами их разведения. М.: Изд. АН СССР, 1981. 216 с.
9. Соколова С.А., Горюнова В.Б. // Воспроизводство рыбных запасов. Мат. совещ., Ростов-на-Дону, 28 сент. – 2 окт., 1998 г. М.: Изд. ВНИРО, 2000. С. 89–99.
10. Остроумова И.Н. Биологические основы кормления рыб. С.-Пб.: Изд. ГосНИОРХ, 2001. 372 с.
11. Sandnes K., Braekkan O.R. // Comp. Biochem. Physiol., 1981. V. 70. P. 545–546.
12. Seymor E.A. // J. Fish. Bid., 1981. V. 19. P. 652–682.
13. Детлаф Т.А., Гинзбург А.С., Шмальгаузен О.И. Развитие осетровых рыб (Созревание яиц, оплодотворение, развитие зародышей и предличинок). М.: Наука, 1981. 234 с.
14. Земков Г.В., Журавлева Г.Ф. // Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та., 2000. С. 70–75.

## INCREASE OF RESISTANCE OF STURGEON SPECIES AT EARLY STAGES ONTOGENESIS AT USE OF VITAMIN PREPARATIONS

**E.N. Ponomareva, S.V. Ponomarev, M.N. Sorokina, A.V. Hramova**

For preparation females sturgeon species to the winter maintenance and improvements of their physiological condition have been lead injections of a complex of vitamins C, E and B<sub>12</sub>. Results of the researches have shown high efficiency of application of a complex of vitamins for females sturgeon fishes with the purpose of improvement of quality of the received posterity. Influence cyanocobalamin on increase of viability developing caviar and larvae the Russian sturgeon is marked. The percent of survival rate of free embryos increases for 9%, larvae – on 6%.