

ПОПОЛНЕНИЕ ЧИСЛЕННОСТИ МОРСКИХ ЕЖЕЙ В СООБЩЕСТВАХ

В.В.Евдокимов, Г.И.Викторовская, И.В.Бирюкова – ТИПРО-центр

Морские ежи – ценный промысловый объект, активный промысел которого начат на Дальнем Востоке с 1990 г. Их икра – высококачественный пищевой продукт с необходимыми для организма человека ценными питательными компонентами.

В настоящее время интенсивный промысел морских ежей ведут как за рубежом, так и у нас, на Дальнем Востоке. За рубежом это обоснованное сочетание изъятия и воспроизводства, в нашей стране – только изъятие. Для восполнения популяции необходимо искусственное культивирование морских ежей.

Предлагаемый способ искусственного воспроизводства на примере черного морского ежа (*Strongylocentrotus nudus*) позволяет получать молодь морских ежей на жизнестойких стадиях в любое время года [5, 8, 9].

Биология вида

Эколого-физиологические особенности

Черный морской еж относится к тихоокеанскому приазиатскому субтропическо-нижнебореальному виду. Этот представитель прибрежной фауны Японского моря предпочитает обитать на глубине 40 м, но встречается и на глубине до 180 м. Распространен в заливе Петра Великого, у о-ва Сахалин, у п-ова Камчатка, в Желтом море [1, 7].

Половозрелые черные морские ежи имеют диаметр панциря 40–45 мм [3, 10]. Гонады морских ежей перед нерестом достигают 20–30 г. Диаметр панциря у этих животных 65–85 мм.

Для роста взрослых ежей наиболее благоприятная температура воды 15–24 °С. Нерест этих животных у берегов Приморья приходится на июль–август [7, 10].

Пути повышения промысловых запасов

Для пополнения молоди ежей в популяции существует несколько способов [13]. Во-первых, устанавливается минимальный промысловый размер. Это обеспечивает репродукцию, гонады достигают не-

обходимого размера. Во-вторых, в период нереста, когда качество икры плохое, промысел запрещен. Некоторым участкам присвоен статус необлавливаемых. Это зоны активного воспроизводства. На других участках промысел ведут циклично – раз в три года. Ежей товарного размера отлавливают в первый год, что создает хорошие условия для роста водорослей и, вероятно, до минимума снижает пищевую конкуренцию между молодью и взрослыми особями. Подросшую молодь отлавливают в начале следующего трехлетнего цикла.

Для воспроизводства морских ежей в Японии широко используют коллекторный сбор молоди [16] с последующим выпуском ее в естественные биотопы. Целесообразным считают получение молоди в искусственных условиях с дальнейшим подращиванием ее в садках и высевом в район промысловых участков [12].

Жизненный цикл

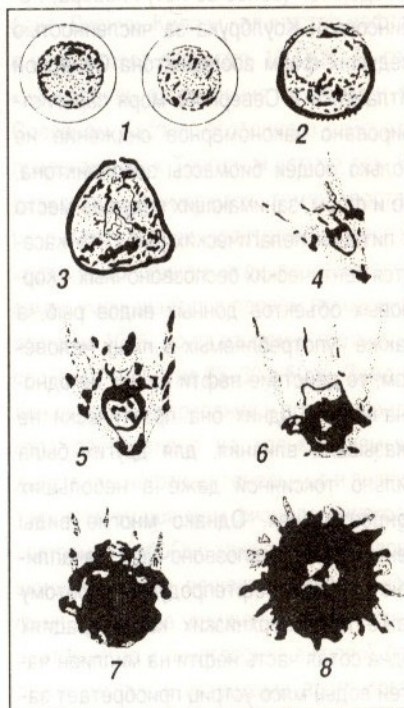
Включает в себя следующие стадии: планктонную (эмбриональное и личиночное развитие), прикрепленную (развитие и рост спата на субстрате) и свободноплавную (обитание на грунте). В ходе раннего онтогенеза последовательно происходит смена стадий развития: бластула, гастрюла, плутеус I стадии, плутеус II, плутеус III стадии, метаморфоз.

Средняя продолжительность жизни черного морского ежа 15 лет, обычные размеры промысловых ежей 60–70 мм.

Размножение

Черный морской еж – раздельнополый вид. Половой зрелости достигает при диаметре панциря 40–45 мм [3]. Плодовитость особей с диаметром панциря от 60 до 75 мм достигает 20–25 млн яйцеклеток.

В период нереста пол животного можно определить визуально. У самок гонады желтоватого цвета, при вскрытии стенки из протоков выступают яйцеклетки бледно-желтого цвета. Гонада самца белесая, при вскрытии протоков спермии белого цвета. Как у самок, так и у самцов железы состоят из большого числа разветвленных



Ранний онтогенез морского ежа: 1 – зигота; 2 – бластула; 3 – призма; 4 – плутеус I стадии; 5 – плутеус II стадии; 6 – плутеус III стадии; 7 – метаморфоз; 8 – еж

протоков, связанных с ацинусами.

Половой цикл черного морского ежа – сложный, многоступенчатый процесс, который зависит от биотических и абиотических факторов среды. Температура при этом играет ведущую роль. Каждый этап гаметогенеза приурочен к определенным температурным периодам [3, 5, 7, 8, 9].

В качестве примера рассмотрим половой цикл морского ежа в бухте Лазурной (залив Петра Великого, Японское море). Нерест его приходится на середину июля – конец августа при температуре 19–22 °С. Активное развитие половых клеток отмечено со второй половины октября и до конца декабря. Гистологическая картина в январе свидетельствует об остановке роста половых клеток. У самок наблюдается резорбция ооцитов, тогда как у самцов резорбция гамет в зимнее время обычно не выражена. В феврале – марте происходит активация гаметогенеза. У самок в конце марта – апреле в железе имеются все генерации половых клеток, но преобладают

оциты на стадии большого протоплазматического роста, у самцов – сперматозоиды 1-го порядка. В мае – июне гаметы созревают, в июле начинается нерест.

Эмбриогенез

Проникновение спермия в яйцо происходит довольно быстро. При этом наблюдается кортикальная реакция, в результате которой за 3–5 с образуется гомогенная и бесцветная оболочка оплодотворения. На ее поверхности еще некоторое время видны постепенно теряющие подвижность и агглютинирующиеся спермии.

Дробление начинается с образования меридиональной борозды, которая закладывается на анимальном полюсе и довольно быстро достигает вегетативного полюса. Через 2 ч наступает стадия двух бластомеров. Ее достигает подавляющая часть зигот (см. рисунок). Отклонения от нормы расценены как патология развития, отмечены неразделившиеся яйцеклетки, яйцеклетки с незаконченной бороздой дробления, эмбрионы с равновеликими бластомерами.

Вторая борозда дробления закладывается перпендикулярно первой, но в той же меридиональной плоскости. В результате возникает стадия четырех равноценных бластомеров.

Третья, экваториальная борозда делит каждый из четырех бластомеров надвое. Возникает типичная для радиального дробления стадия восьми бластомеров.

При дальнейшем дроблении возникает бластула в виде полого шара. Уже на стадии средней бластулы начинается образование первичной мезенхимы. При этом отдельные клетки из стенки бластулы мигрируют в бластоцель. На стадии поздней бластулы они в виде небольшого скопления наблюдаются у вегетативного полюса. Далее начинается гастрюляция, первичные мезенхимные клетки перемещаются в бластоцель и мигрируют вдоль внутренней стенки бластулы к тому месту, где образуют скелет. Вслед за движением первичных мезенхимных клеток происходит инвагинация всего вегетативного полюса, в результате чего образуется первичная кишка. Такую стадию развития эмбриона называют ранней гастролой.

Инвагинирующие клетки очень похожи на первичные мезенхимные. Они изменяют форму, а после формирования первичной кишки образуют псевдопонию и окончательно прикрепляются к внутрен-

ней стенке противоположного (анимального) полюса бластулы. Сокращаясь, клетки втягивают первичную кишку дальше в бластоцель так, что она доходит почти до анимального полюса. В конце концов они отделяются от первичной кишки и становятся вторичной мезенхимой взрослого организма [2].

При дальнейшем развитии у эмбрионов изгибается и становится плоской вентральная сторона. На ней у анимального полюса зародыша образуется рот, начинается формирование целома. Это состояние эмбриона соответствует стадии призмы, то есть началу образования малого плутеуса. У последнего вырастают зачатки рук, образуется желудок. Малый плутеус через 48 ч вырастает в плутеус I стадии. Плутеус II стадии формируется на 11–15-е сутки. Третья стадия плутеуса наступает на 16–21-е сутки. Метаморфоз начинается на 21–29-е сутки и на 31–36-е заканчивается полностью сформировавшимся морским ежом.

Поведение личинок в лабораторной культуре

В течение дробления до бластулы эмбрионы находятся на дне сосуда. На стадии бластулы зародыш ведет свободноплавающий образ жизни. При дальнейшем развитии эмбрионы концентрируются у поверхностного слоя воды.

Плутеусы I, II и III стадий до метаморфоза свободно плавают в толще воды. В период метаморфоза они оседают на субстрат. Затем молодые ежи ведут свободный образ жизни, перемещаясь согласно своим законам миграции.

Биотехнология получения спата в лабораторных условиях

Отлов производителей

Морских ежей с диаметром панциря 60–85 мм, отловленных из естественной среды, помещают в аквариумы с температурой воды, близкой к природной. В зависимо-

сти от сезона года и зрелости гонад ежой определяют режимы содержания. Морские ежи с гонадами без зрелых гамет подвергаются температурной стимуляции [5, 6, 9].

Стимуляция гаметогенеза

Суть ее заключается в том, чтобы в сжатые сроки воспроизвести естественный температурный фон, не меняя при этом экологические факторы.

Стимуляция гаметогенеза морского ежа включает 3 периода:

1. Адаптация к искусственной среде при температуре, соответствующей температуре воды в море.
2. Активация гаметогенеза – сжатое воспроизведение естественного хода температур, при котором созревают гонады.
3. Завершение гаметогенеза с помощью поддержания устойчивых температур. Зависит от уровня развития гонады.

Индукция нереста, оплодотворение, вылупление, культивирование личинок

Половые продукты у половозрелых самок берут с помощью инъекции 0,5 М КСl в перивесцеральную полость, у самцов железу извлекают из перивесцеральной полости в чашку Петри. Концентрированную сперму забирают микропипеткой. Осеменивание проводят в 10-литровых сосудах. Каплю "сухой" спермы разводят 5 мл морской воды и смешивают с яйцеклетками. Зиготы промывают 6 раз с 30-минутным интервалом и ждут вылупления личинок.

Схема культивирования морских ежей



Под микроскопом оценивают процент оплодотворения. Для этого определяют количество зигот в 1 мл суспензии, затем пересчитывают на объем сосуда.

На третьи сутки личинок кормят из расчета 3000 микроводорослей на 1 мл воды в сутки [11]. В качестве корма используют смесь микроводорослей *Platymonas viridis*, *Monochrysis* sp., *Niphrocloris salina*, *Lumnoclenium lanskay*, *Chlorella* sp., *Dunaliella viridis*. Онтогенез черного ежа при температуре 17 °С протекал следующим образом. Плутеус I стадии возникал через 18 ч, II – на 11–15-е сутки, III стадии – на 16–21-е сутки. Метаморфоз начинался на 21-е сутки и на 31-е сутки появлялся морской еж.

Коллекторы оседания личинок

В качестве субстрата для оседания личинок в емкость вносят коллекторы, которыми могут служить раковины моллюсков, кусочки шифера и т.п. Лучшим субстратом для оседания личинок, согласно мнению Саито с соавторами [14, 15], являются волнистые пластины с порослью *Ulsella lens* (дисковидный представитель зеленых водорослей). Осевшие морские ежи размером 3–4 мм питаются бентосными диатомовыми водорослями на коллекторах. В качестве корма для ежей размером 5 мм может служить *Ulva*.

Морские садки

Достигших размера 5 мм морских ежей вместе с коллекторами помещают в сетчатые садки и выставляют в море или в большие емкости (танки) в заводских условиях. Затем их переносят в места естественных популяций.

Культивирование кормов

Микроводоросли для питания личинок морского ежа выращивали на среде Гольберга с использованием морской воды в модификации Ю.Г.Кабановой. Воду фильтровали через песчано-гравийный фильтр, затем стерилизовали [4].

Для приготовления питательной среды в стерилизованную воду добавляют 2 мл раствора № 1 и по 1 мл растворов № 2 и 3 из расчета на 1 л воды и тщательно перемешивают. Готовую питательную среду используют сразу или хранят не более 14 сут при температуре 2–5 °С.

Раствор № 1: в 100 мл дистиллированной воды растворяют 10,1 г KNO_3 .

Раствор № 2: в 100 мл дистиллирован-

ной воды растворяют 1,421 г Na_2HPO_4 .

Раствор № 3: в 100 мл дистиллированной воды растворяют 27,03 мг $FeCl_3 \cdot 6H_2O$; 19,79 мг $MnCl_2 \cdot 4H_2O$; 23,79 мг $CoCl_2 \cdot 6H_2O$.

Срок хранения приготовленных растворов не более 10 сут.

Материалы и оборудование

1. Лабораторное помещение (цех, комната).
2. Емкости для стимуляции нереста.
3. Сосуды (с плоским дном) для инкубации эмбрионов и культивирования личинок.
4. Пипетки на 5 мл:
для взятия на анализ половых продуктов –2;
для подачи корма –5;
для приготовления среды микроводорослям –6.
5. Пипетки для работы с эмбрионами на 1 мл –10.
6. Стеклообразные емкости объемом до 3 л для хранения микроводорослей –15.
7. Термометры 0–40 °С –10.
8. Камеры Богорова (для подсчета плутеусов) –2.
9. Камера Горяева.
10. Предметные стекла –20.
11. Микроскоп МБИ-2.
12. Бинокуляр МБС-6 или МБС-10.
13. Химические реактивы для приготовления питательного раствора (расчет на 1 л раствора):
 KNO_3 – 101 г; Na_2HPO_4 – 14,21 г; $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ – 27,03 мг; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ – 197,9 мг; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ – 237,5 мг.
14. Конические колбы для хранения питательной среды (объем 1 л).
15. Культиваторы для выращивания микроводорослей –10–15.
16. Термостаты (до 200 °С) –2.

Подготовка посуды

Ее моют моющими средствами, отмыывают в проточной теплой воде, сушат и стерилизуют при 170 °С в течение 2 ч. Хранят в шкафу не более 10 сут. Пипетки обрабатывают хромовой кислотой с последующей их промывкой в дистиллированной воде. Сосуды для культивирования водорослей моют горячей водой с добавлением кислоты в течение 10–15 мин, после чего их промывают проточной теплой водой и ополаскивают дистиллированной.

Литература

1. Баранова З.И. Тип иглокожих // Животные залива Петра Великого. – Л.: Наука, 1976. С. 114–120.
2. Боденер Ч. Современная эмбриология. – М.: Мир, 1971.
3. Гнездилова С.М. Сезонные изменения половой железы *Strongylocentrotus nudus* // Биологические и медицинские исследования на Дальнем Востоке. – Владивосток, 1970. С. 118–121.
4. Гуйда Г.М., Бреган Ю.Э., Седова Л.Г., Викторовская Г.И. Получение жизнестойкого спата приморского гребешка в лабораторных условиях // Биология моря. 1988. № 1. С. 64–67.
5. Евдокимов В.В. Морфофункциональная оценка гамет и продукционные возможности гидробионтов при размножении их в моно- и поликультуре: Автореф. дис. д-ра биол. наук. – Владивосток, 1993. С.39.
6. Евдокимов В.В., Викторовская Г.И., Бирюкова И.В. Биотехнология получения молоди морского ежа *Strongylocentrotus nudus* в контролируемых условиях. – Владивосток: ТИНРО, 1993. С. 16.
7. Касьянов В.Л., Медведева Л.А., Яковлев С.Н., Яковлев Ю.М. Размножение иглокожих и двусторчатых моллюсков. – М.: Наука, 1980. С.204.
8. Мотавкин П.А., Евдокимов В.В. Получение у морского ежа в искусственных условиях зрелых половых клеток и их функциональная характеристика // Биология моря. 1975. № 1. С. 58–67.
9. Мотавкин П.А., Евдокимов В.В. Экспериментальная регуляция онтогенеза у морских ежей // Цитология. 1976. Т. 18. № 1. С. 22–26.
10. Fuji A. Studies on the biology of sea urchin. 2. Size at first maturity and sexuality of two sea urchins, *Strongylocentrotus nudus* and *S. Intermedius* // Bull. Fac. Fish, Hokkaido Univ. 1960. Vol. 11. P. 43–48.
11. Hinegardner R., Ralph T. Growth and development of the laboratory cultured sea urchin // Biol. Bull. 1969. Vol. 137. P. 465–475.
12. Kawamura K. Techniques for obtaining sea urchin seed on off-shore longlines // Summary lectures for 1986 of the Fisheries Culture Research Society: Techniques for collecting sea urchin seed and results of releases. 1987. № 39.
13. Mottet M.G. The fishery biology of sea urchins in the family *Strongylocentrotidae* // Wash. Dep. Fish. Tech. Rep. 1976. Vol. 20. P. 1–66.
14. Saito K., Yamashita K., Tajima A. Manual of artificial seed production of sea urchin *Strongylocentrotus intermedius*. – Hokkaido Inst. Maricult. 1985. № 39. P. 22.
15. Saito K. Techniques for artificial culture of sea urchin seed // Summary lectures for 1986 of the Fisheries Culture Research Society: Techniques for collecting sea urchin seed and results of releases. 1987. № 39.
16. Takagi K. Aspects of sea urchin fishery in Japan // Proc. 37th Annu. Gulf Carribb. Fish. Inst. Cacun. Mex. Nov. 1984. P. 41–51.