

Academy of Sciences of Moldova

The Ministry of Agriculture and Food Industry
of the Republic of Moldova

**The Chisinau Branch of the State Enterprise on Research and Production
of Water Bio-resources “Aquaculture - Moldova”**

**«AQUACULTURE IN CENTRAL AND EASTERN EUROPE:
PRESENT AND FUTURE»**

The II Assembly NACEE (Network of Aquaculture Centres in Central and Eastern Europe) and
the Workshop on the Role of Aquaculture in Rural Development,

Chisinau, October 17-19, 2011

**«АКВАКУЛЬТУРА ЦЕНТРАЛЬНОЙ И ВОСТОЧНОЙ ЕВРОПЫ:
НАСТОЯЩЕЕ И БУДУЩЕЕ»**

II съезд NACEE (Сети Центров по аквакультуре в Центральной и восточной Европе и
семинар о роли аквакультуры в развитии села,

Кишинев, 17-19 октября 2011 года

Under the general editorship of
Doctor of Biological Sciences Galina Curcubet

6. Редаков Д.В., Протасов В.Р. Скорости движения и некоторые особенности зрения рыб. – М.: Наука, 1964. – 42 с.

7. Сечин Ю.Т., Карагойшиев К. Методы определения коэффициента уловистости донного трала. – Сб. науч. тр. ГосНИОРХ, вып. 198, 1983. – С. 162-188.

УДК: 639.4(262.5)

МЕТОДЫ ИНДУЦИРОВАНИЯ СОЗРЕВАНИЯ И НЕРЕСТА ГИГАНСКОЙ УСТРИЦЫ (*CRASSOSTREA GIGAS THUNBERG*) В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ ЧЕРНОГО МОРЯ

А.П. Золотницкий¹, А.Н. Орленко²

¹Керченский государственный морской технологический университет, Украина, APZ@kerch.net

²Херсонский государственный аграрный университет, Украина, orlenko_an@mail.ru

Abstract: The major task of works related to the industrial growing of giant oyster in the Black Sea was development of methods of mass getting of larvae and spat of this kind in the controlled conditions. Thus experiments on stimulation of ripening and spawning of giant oyster by temperature and serotonin were conducted. On the basis of gotten results of the experiments the biotechnological scheme of getting of larvae and spat of giant oyster in the modern terms of the Black Sea was developed.

Key words: *giant oyster, Black Sea, methods, inducing, serotonin.*

Введение. С 1980 года начали проводить работы по акклиматизации и разработке методов культивирования гигантской устрицы в украинской и российской шельфовых зонах Черного моря. В результате изучения состояния и сезонного развития половых желез этого моллюска в условиях Черного моря на гистологических препаратах нами было обнаружено, что развитие гонад у трансплантированного вида протекает без видимых аномалий. В июне особи отчетливо дифференцировались по полу, у самок в ацинусах половых желез были хорошо видны свободнолежащие ооциты, у самцов – сперма. Несмотря на визуальное отсутствие аномалий в развитии половых желез, личинок в планктоне не наблюдалось [2, 8, 9]. В связи с этим важнейшей задачей работ, связанных с промышленным выращиванием гигантской устрицы в Черном море, являлась разработка методов массового получения личинок и молоди этого вида в контролируемых условиях.

Материал и методы. Материалом для исследований служили половозрелые гигантские устрицы. В первых опытах это были моллюски, которых доставили из Японского моря в Черное море в 1980-1991 годах. С 1995 года мы использовали устриц, личинки и спат которых получали в искусственных условиях модулей устричных питомников. Нами были апробированы доступные нам методы стимуляции созревания и нереста гигантской устрицы. В данной работе мы приводим основные данные, полученные нами в результате повышения температуры и применения нейромедиатора-серотонина. Температуру воды, в которой находились моллюски, или плавно повышали до начала нереста, или плавно повышали до 21°C, а затем резко поднимали её до 28°C. Серотонин устрицам вводили методом инъекций или в мышцу аддуктора, или непосредственно в мантийную полость. В экспериментах с серотонином в качестве контроля использовали физиологический раствор.

Результаты и обсуждения. В лаборатории культивирования моллюсков Южного научно-исследовательского института морского рыбного хозяйства и океанографии с 1982 года были начаты исследования по получению зрелых половых клеток от производителей гигантской устрицы. Эксперименты по индуцированию созревания и нереста половозрелых особей обычно проводили в период, когда температура воды достигала 16°C, и моллюски уже находились в преднерестовом состоянии. Вначале использовалась методика температурной стимуляции созревания половых желез, разработанная для черноморских устриц [2]. После постепенного повышения температуры до 23,5°C обычно начинался нерест сначала у самцов, затем у самок. Оплодотворение в целом происходило без видимых аномалий, о чем свидетельствовало образование перивителлинового пространства в зрелых яйцах. Развитие эмбрионов от начала оплодотворения до стадии свободноплавающей личинки – велигера визуально протекало нормально, однако при переходе на стадию великонха,

происходила массовая гибель. Последующие исследования в этом направлении позволили получить от отдельных производителей жизнеспособное потомство, изучить морфологические изменения и хронологию раннего онтогенеза [4]. Стадия трохофоры при солености воды 17,7-18‰, обычно наступала через 24-26 часов после оплодотворения, а через 36 часов личинки, в основном, были на стадии продиссоконх I (D-стадия). Средняя высота и длина их соответственно составляла 51,6 и 67,7 мкм. На этой стадии онтогенеза личинок с помощью сита (D=44 мкм) концентрировали и переносили в лотки объемом 5 м³, где их выращивали до оседания на субстрат. Первые великонхы появились в воде спустя 13 суток после переноса в лотки, а педивелигеры еще через 2 суток (т.е., соответственно, через 15 и 17 суток после оплодотворения). При длине раковины 285-300 мкм, когда у личинок появлялись науплиальные глаза, они начинали оседать на субстрат. Из-за массовой гибели при метаморфозе плотность осевшей молоди была невысокой и составляла в среднем 8 экз./пластину чашечного коллектора. По достижении спата высоты 7 мм коллекторы с молодью переносились для дорастивания в лагуну, где спустя 15 месяцев большая часть осевшей молоди достигла товарного размера – свыше 80 мм [2, 3, 9].

Таким образом, уже первые опыты в начале 80-х гг., при всей их не совершенности, показали принципиальную возможность получения зрелых половых клеток, оплодотворения яиц, нормального развития и роста личинок до жизнестойких стадий. В то же время нестабильность получения и высокая смертность посадочного материала обусловила необходимость осуществления дальнейших, более углубленных исследований завершающих этапов гаметогенеза. В связи с этим, кроме температурной стимуляции нереста, в лаборатории культивирования моллюсков была апробирована методика гормональной индукции созревания самок, основанная на воздействии биологически активных веществ из семенников моллюсков на процессы овуляции самок [13]. Этот метод дал хорошие результаты и также мог быть использован при разведении устриц, особенно в комбинации с температурной стимуляцией. Но оба метода имели определенные недостатки. При температурной стимуляции нереста индуцирующему влиянию температуры подвергаются ооциты как завершившие трофоплазматический рост, так и физиологически незрелые половые клетки, что приводило к абортному нересту, и потомство в массе своей оказывалось нежизнеспособным. Успешное применение этого метода возможно лишь при точном знании исходного состояния гонад самок, что весьма сложно в методическом отношении. Метод гормональной (гуморальной) стимуляции с помощью суспензии гонад, безусловно, более «биологичен» и, в целом, давал хорошие результаты. Существенным ограничением его применения является то, что он связан с умерщвлением моллюсков, т.е. необходимостью большого расхода живого материала, а это, при сравнительно небольшом количестве половозрелых моллюсков в Черном море, малоприемлемо.

С 1987 г. нами [6, 8] были начаты исследования по получению зрелых гамет от гигантской устрицы с помощью нейротрансмиттера – серотонин-креатинсульфата (5-гидрокситриптамина). Серотонин относится к группе биогенных аминов, являющихся продуктами моноаминэргической системы, осуществляющей регуляцию и интеграцию всех жизненно важных функций организма беспозвоночных животных [5, 12, 14, 15]. Как было отмечено выше, этот метод в 80-е годы апробирован на ряде видов брюхоногих и двустворчатых моллюсков и в ходе экспериментов были получены обнадеживающие результаты [10, 11]. В опытах с серотонином производителей выдерживали в аквариальных условиях при тех же условиях, что и моллюсков, взятых для температурной стимуляции. После кондиционирования, осуществляемого в течение 3-х недель, устрицам вводили в мышцу по 2 мл 0,02% раствора серотонина, приготовленного на профильтрованной и стерилизованной морской воде. Спустя 5-10 мин. после инъекции, первыми начинали нереститься самцы, через 20-30 мин. – самки. У самцов спермация осуществлялась в виде своеобразного «облака» в течение 1-2 мин., у самок яйца выводились порциями в виде струй в течение 2-3 сек. с интервалом между овуляцией 0,5-3 мин. Продолжительность нереста была около 30 минут [7, 8]. Зрелые яйца собирали в сосуды с профильтрованной морской водой, где происходило их оплодотворение и развитие. Личинок, достигших стадии велигера, переносили в пластиковые бассейны объемом 5 м³, где подкармливали водорослью *P. lutheri* в концентрации 4-5×10⁴ кл./мл.

С целью сравнения эффективности этого метода параллельно было проведено получение зрелых половых клеток с помощью температурной стимуляции. Производители для опытов были отобраны из естественных условий в мае 1989 г. при температуре воды 16±1°C. Устриц очищали от обрастаний и содержали при постоянной аэрации и подкормке одноклеточными водорослями рр. *Dunaliella*,

Platimonas, Nitzschia. Период кондиционирования составлял 10-40 суток. Температуру воды вначале плавно повышали до 21°C, а затем резким скачком доводили до 28°C, после чего начинался нерест особей. Зрелые яйца и сперму собирали отдельно в сосуды с профильтрованной морской водой, а затем в 20-литровых сосудах проводили осеменение икры. Через 2 суток личинки находились на стадии прямого замка (D-стадия), а по достижении стадии велигера, личинок переносили в пластиковый бассейн объемом 5 м³ для подращивания до стадии педивелигера, когда происходит оседание спата на субстрат. Сопоставление темпа роста партий личинок, полученных от самок устриц двумя методами, показало, что под влиянием серотонина у личинок часто наблюдалась более высокая скорость роста и развития – стадии педивелигера они достигали через 12 суток, при этом имели размер 310-350 мкм. У особей, стимулированных температурой, личинки достигали стадии педивелигера обычно лишь на 17-е сутки и при этом имели несколько меньшие размеры – 270-290 мкм.

При проведении подобного рода работ большое значение имеет установление дозы гормонального агента, необходимого для индуцирования созревания. С этой целью нами была проведена серия опытов по выбору оптимальной дозы препарата для получения жизнеспособных половых продуктов [1]. Из приведенных в таблице 1 данных, несмотря на значительное различие в величине доз, все использованные в опытах дозы серотонина вызывали нерест самцов и самок устриц.

Таблица 1. Влияние серотонина на созревание и нерест производителей гигантской устрицы

Доза, %	Число опытов	Число моллюсков в опыте	% нерестившихся моллюсков	Реакция, ♂/♀, минуты	% развивающихся ооцитов
0,002	12	12-15	40-50	5-20/50-60	40-65
0,02	12	12-15	45-85	3-5/20-35	50-90
0,2	12	12-15	28-85	1-3/5-20	45-80
Контроль, физиологический раствор	12	12-15	17-33	120-180	45-85

Это указывает на то, что даже небольшие количества биогенных аминов запускают цепь сопряженных между собой биохимических реакций, в конечном итоге приводящих к нересту моллюсков. Вместе с тем, в зависимости от количества введенного препарата наблюдались и определенные различия в реакции моллюсков. При малых дозах гуморальных препаратов созревание опытных моллюсков происходило в более длительные сроки, тогда как при увеличении концентрации нейротрансмиттера эмиссия зрелых половых клеток происходила в более сжатые сроки. Однако, учитывая то, что большая доза (0,2% раствор серотонина) незначительно увеличивала время вымета половых клеток, а также принимая во внимание более низкий процент оплодотворения по сравнению с 0,02%, при стимулировании созревания и нереста устриц наиболее целесообразно использование дозы 0,02 %/особь (средний размер особей 100-140 мм). Личинки, полученные после индукции созревания серотонином, оседали на субстрат на 10-12 сутки, тогда как под воздействием температуры – на 18-20 сутки. Осевшую молодь дорастивали в естественных условиях в лагуне мыса Б. Утриш. Через 2,5 мес. выращивания спат гигантской устрицы достиг высоты 30 мм, а через год большинство особей было промыслового размера [6, 8]. Таким образом, применение серотонина в качестве индуктора размножения гигантской устрицы сокращает сроки наступления нереста и ускоряет прохождение личиночных стадий до метаморфоза. Более крупные размеры личинок на стадии оседания, полученные от особей в результате стимуляции серотонином, свидетельствуют об их лучшей жизнеспособности.

Аналогичные эксперименты по получению зрелых половых клеток личинок и спата гигантской устрицы, кроме побережья Кавказа, проведены также в Керченском проливе, у Южного берега Крыма и в северо-западной части Черного моря [7]. В условиях Керченского пролива, где устрицы содержались в воде пониженной солености (13-15‰), полученные в ходе стимуляции нереста серотонином яйца имели значительно меньшие размеры – 42-50 мкм, чем в акваториях с соленостью 18‰, где их диаметр составил около 50-70 мкм. При развитии яиц размеры личинок на всех стадиях раннего онтогенеза были в проливе значительно меньше, чем в других районах Черного моря. Кроме того, несмотря на сравнительно быстрое развитие яиц, величина элиминации при переходе от велигера до стадии педивелигера в Керченском проливе была значительно выше, чем у побережья

Северного Кавказа и южного побережья Крыма. Характерно, что в Керченском проливе рост даже осевшего на коллекторы спата протекал более медленно, и при размерах 1-2 мм он часто полностью останавливался, после чего происходила массовая гибель молоди. Полученные данные свидетельствуют о важной роли условий формирования ооцитов на выживаемость будущего потомства.

В районах с более высоким и стабильным солевым режимом (17,5-18,5‰) – оз. Донузлав, Джарылгачский залив (северо-западной части Черного моря), побережье Крыма и Кавказа, результаты получения личинок и молоди были более успешными. Это позволило в окончательном варианте разработать биотехнологию получения зрелых половых клеток, личинок и молоди гигантской устрицы, которая сводится к следующему:

Производителей выдерживают в бетонных бассейнах с постоянной проточной водой в течение 2-4 недель. Для стимуляции нереста отбирается партия производителей устриц, которая помещается в 20-30 л аквариумы из расчета 2-3 л на особь. Температуру воды плавно, с интервалом 1,0-1,5°C в сутки, повышают до 28°C. После выдерживания в течение 2-3 суток моллюскам в мантийную полость вводится 0,02%-ный раствор серотонина. В среднем через 5 минут начинается нерест самцов, через 20 – у самок. После завершения вымета зрелых половых клеток яйца осеменяют «мокрым способом», затем эмбрионы переносят в выростные емкости объемом 5-6 м³. Через 12-18 часов после оплодотворения завершается формирование трохофоры, а затем через 7-9 суток они достигают стадии велигера. Выращивание личинок производится на проточной воде. На стадии трохофоры и велигера личинок не подкармливают, поскольку предшествующими опытами, проведенными в лаборатории, показано, что подкормка на этих стадиях существенно не влияет на их выживаемость. Кроме того, необходимо отметить, что с проточной водой из моря поступают водоросли в концентрации 10²-10³ кл./мл. На стадиях великонха и педивелигера устриц подкармливают смесью одноклеточных микроводорослей – *P. luthery*, *P. viridis*, *D. salina* в концентрации 10⁴-10⁵ кл./мл. Аэрацию воды в бассейнах проводят со стадии велигера.

В процессе роста и развития от оплодотворенных яиц до метаморфоза происходит значительная элиминация личинок. Наибольшая численность погибших особей – около 90%, приходится на переход от стадии велигера на стадию великонха и от позднего великонха (стадия педивелигера) до оседания на субстрат. В это время резко замедляется темп роста, что обусловлено морфогенетическими процессами, проходящими у личинок, атрезией провизорных и окончательным формированием дефинитивных органов. Завершение метаморфоза и переход к диссоконху (сформировавшемуся молодому моллюску с раковиной) в наших опытах составляет до 30% от общего числа педивелигеров. Педивелигеры оседают на субстрат, когда у них уже сформировано глазное пятно. Именно в это время в выростных емкостях проводят установку коллекторов – створки моллюсков (устриц, гребешков, мидий), шиферные пластины или различной формы синтетические материалы для сбора спата. Наиболее интенсивное оседание спата имело место на створки мидии, несколько хуже (в порядке убывания) на шиферные пластины, створки устриц и гребешка. Осевший на субстрат спат в течение месяца содержится в бассейнах объемом 4-10 м³ при постоянной аэрации, на проточной воде с подкормкой одноклеточными водорослями – *P. luthery*, *P. viridis*, *D. salina*. Лучшие результаты по выращиванию получены при 4-разовом кормлении в концентрации 10⁵-10⁶ кл./мл. Температура воды может во время роста изменяться в довольно широких пределах – 17-24°C, но желательно, чтобы она соответствовала таковой естественного местообитания. При достижении 5-10 мм, коллектор со спатом можно выставлять в море для их выращивания до промышленных размеров.

Выводы:

Используя предложенную биотехнологию, можно достаточно стабильно получать посадочный материал для товарного выращивания гигантской устрицы в Черном море. Вместе с тем следует отметить, что жизнеспособность полученного спата от общего числа полученных трохофор еще довольно низка и составляла немногим более 1%. В связи с этим, в перспективе необходимо проведение дальнейших исследований, направленных на более глубокое изучение ранних стадий онтогенеза, на которых происходит высокая элиминация особей с целью увеличения выхода жизнестойкого спата.

Литература:

1. Золотницкий А.П., Орленко А.Н. Размножение тихоокеанской устрицы в Черном море // Рыбное хозяйство Украины, 2003. – № 3-4 – С.23-26.
2. Моница О.Б. Интродукция тихоокеанской устрицы в Черное море // Рыбное. хозяйство. – 1983. – № 11. – С. 189-190.
3. Моница О.Б. Получение и выращивание личинок и молоди тихоокеанской устрицы в Черном море // Тез. докл. IV Всес. конф. по пром. беспозвон. – М.: ВНИРО, 1986. – Ч. II. – С. 263-264.
4. Монин В.Л., Моница О.Б., Хребтова Т.В. Личиночное развитие некоторых двустворчатых моллюсков Черного моря // Тез. докл. VIII Всес. совещ. по моллюскам. – Л.: Наука, 1987. – С. 353-355.
5. Мотавкин П.А., Хотимченко Ю.С., Деридович И.И. Регуляция размножения и биотехнология получения половых клеток у двустворчатых моллюсков. – М.: Наука, 1990. – 216с.
6. Орленко А.Н., Золотницкий А.П. Опыт получения спата японской устрицы (*Grassostrea gigas Thunberg*), акклиматизируемой в Черном море // Сб. докл. Междунар. симп. по совр. проблемам марикультуры в соц. странах. – 1989. – С. 68-69.
7. Орленко А.Н. Гигантская устрица *Crassostrea gigas* как перспективный объект марикультуры на Черном море // Тез. докл. V Всес. конф. по пром. беспозв. – М.: ВНИРО, 1990. – С. 125-127.
8. Орленко А.Н. Золотницкий А.П., Спекторова Л.В. Получение спата японской устрицы в Черном море // Рыбное хозяйство. – 1990. – № 3. – С. 60-62.
9. Хребтова Т.В., Моница О.Б. Культивирование черноморской и акклиматизация тихоокеанской устриц в Черном море // Биол. основы аквакультуры в морях Европейской части СССР. – М.: Наука, 1985. – С.180-188.
10. Beiras R., Widdows J. Induction of metamorphosis in larvae of the oyster *Crassostrea gigas* using neuroactive compounds // Mar. Biol. – 1995. – V.123, № 2. – P.327.
11. Gibbons M., Castagna M. Serotonin as induced of spawning in six bivalve species // Aquaculture. – 1984. – V.40. – P. 189-191.
12. Lannan G.E. Broodstock management of *Crassostrea gigas*. IV. Unbridling and larval survival // Aquaculture. – 1980. – V.21, № 4. – P.353-356.
13. Loosanoff V. L., Davis H.C. Rearing of bivalve mollusks//Mar. Biol. – 1963. – V.1. – P.1-136.
14. Lubet P.E. Limited letales thermiques et action de la temperature sur les gametogeneses et l'activite neurosecretrice chez la moule // Haliotis. – 1987. – V.16.
15. Mann R. On the selection of aquaculture species: a case study of marine mollusks // Aquaculture. – 1984. – V.39, №1-4. – P.245-253.

UDC 639.3:95

INTRODUCTION AND GROWTH OF MULLET *MUGIL SO-IUY BASILEWSKY* IN FISH FARMS

Elena Zubcov, Natalia Zubcov, Lucia Biletchi

Institute of Zoology, Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Moldova, Email- ecotox@yahoo.com

Abstract. Показаны возможности интродукции и выращивания дальневосточной кефали пиленгас *Mugil so-iuy Basilewsky* в прудах в поликультуре с карпом и растительноядными видами рыб (*Cyprinus carpio*, *Hypophthalmichthys molitrix*, *Arystichtys nobilis*, *Stenopharingodon idella*). Дальневосточная кефаль пиленгас обладает высокими адаптивными способностями к новым условиям обитания, является перспективным промышленно-ценным видом для выращивания в рыбохозяйственных водоемах как с соленой и солоноватой, так и пресной водой. Наряду с возможностью получения дополнительной рыбной продукции, пиленгас, являясь детритофагом, способствует улучшению экологического состояния прудов.

Key words: *Mugil so-iuy Basilewsky, mullet, fish farm, freshwater ecosystems.*

Introduction. The contemporary fish farming requires well-founded scientific recommendations for the improvement and increase in the efficiency of existent technologies for artificial reproduction and growth of fish species. One promising direction is introduction of new species, which have no big impact on the environment and populations of local species.