

ГОСУДАРСТВЕННОЕ АГЕНТСТВО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА УКРАИНЫ
ЮЖНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОРСКОГО
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ
КЕРЧЕНСКИЙ ГОРОДСКОЙ СОВЕТ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК УКРАИНЫ
МОРСКОЙ ГИДРОФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК УКРАИНЫ
ФГУП «ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ»
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ЮЖНЫЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК
ИНСТИТУТ ЗООЛОГИИ АКАДЕМИИ НАУК МОЛДОВЫ

МАТЕРИАЛЫ
VII МЕЖДУНАРОДНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
«СОВРЕМЕННЫЕ РЫБОХОЗЯЙСТВЕННЫЕ
И ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ
АЗОВО-ЧЕРНОМОРСКОГО РЕГИОНА»
ТОМ 2

г. Керчь, 20 - 23 июня 2012 г.

УДК 639.2/.3+574.5(262.5+262.54)

Главный редактор:
кандидат географических наук

О. А. ПЕТРЕНКО

Редакционная коллегия:

доктор биологических наук **Н. П. Новиков**
доктор географических наук **В. А. Брянцев**
доктор географических наук **П. Д. Ломакин**
кандидат биологических наук **В. А. Шляхов**
кандидат биологических наук **Л. И. Булли**
кандидат географических наук **Б. Г. Троценко**

А. А. Солодовников

В. Н. Туркулова

Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона : материалы VII Международной конференции. Керчь, 20-23 июня 2012 г. – Керчь: ЮгНИРО, 2012. – Т. 2. – 196 с.

Во втором томе материалов конференции публикуются доклады о состоянии и перспективах аквакультуры Азово-Черноморского бассейна, работы по результатам региональных ихтиологических изысканий и информационному обеспечению исследований.

Сучасні рибогосподарські та екологічні проблеми Азово-Чорноморського регіону : матеріали VII Міжнародної конференції. Керч, 20-23 червня 2012 р. – Керч: ПівденНІРО, 2012. – Т. 2. – 196 с.

У другому томі матеріалів конференції публікуються доклади про стан і перспективи аквакультури Азово-Чорноморського басейну, роботи по результатах регіональних іхтіологічних досліджень та інформаційному забезпеченню досліджень.

Current fishery and environmental problems of the Azov-Black Sea Region : materials of VII International Conference. Kerch, 20-23 June 2012. – Kerch: YugNIRO Publishers', 2012. – Vol. 2. – 196 p.

Volume II contains reports on state and prospects of aquaculture in the Azov-Black Sea basin, papers on the results of regional ichthyologic investigations and information support of the research.

© АВТОРСКОЕ ПРАВО

Исключительное право на копирование данной публикации или какой-либо её части любым способом принадлежит ЮгНИРО.

По вопросу возможности копирования для некоммерческих целей обращаться по адресу: ЮгНИРО, ул. Свердлова, 2, г. Керчь, 98300, Автономная Республика Крым, Украина.

Телефон (приемная): +380 6561 21012

Факс: +380 6561 6-16-27

E-mail: yugniro@kerch.com.ua

<http://yugniro.in.ua>

К РАЗРАБОТКЕ НОРМАТИВОВ ПРОИЗВОДСТВА СПАТА УСТРИЦЫ *CRASSOSTREA GIGAS* В ПИТОМНИКАХ

В. И. Холодов

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского НАН Украины (ИнБЮМ НАНУ)

*Предлагаются нормативы получения посадочного материала (спата) устрицы *Crassostrea gigas*, составленные на основе результатов экспериментальной разработки технологии полноциклического выращивания гигантской устрицы *Crassostrea gigas* в условиях Черного моря и анализа публикаций. Нормативы включают этапы: кондиционирование производителей, проведения искусственного нереста, выращивания личинок, подращивания спата. Высказывается необходимость сотрудничества специалистов, занимающихся формированием маточных стад для производства спата в контролируемых условиях, что необходимо для предотвращения инбридинга.*

Ключевые слова: гигантская устрица, устрицеводство, *Crassostrea gigas*, питомник, спат, триплоиды, личинки устриц, инбридинг

В течение трех десятилетий акклиматизированная в Черном море гигантская устрица не образовала промысловых банок и не стала промысловым видом из-за невозможности оплодотворения ее гамет в природных условиях. В настоящее время можно утверждать, что коммерческое устрицеводство на Черном море все еще отсутствует, хотя экспериментальное выращивание практикуется в научных центрах и в частных предприятиях, например, в ООО «ЯХОИТ ЛТД» (пос. Кацевели, ЮБК), выращивающем по полуциклической технологии гигантскую устрицу *Crassostrea gigas*. Устричную молодь (спат) для подращивания до коммерческого размера, данное предприятие закупает в европейских странах.

Однако устойчивое развитие черноморского устрицеводства должно базироваться на местном производстве посадочного материала, для чего требуется эффективная технология, опирающаяся на нормативы, разработанные для различных этапов биотехнологии производства спата в контролируемых условиях.

Цель работы: описание нормативов производства спата гигантской устрицы, экспериментально разработанных в ИнБЮМе, а также полученных из анализа опубликованных материалов.

Материал и методы

Экспериментальная разработка нормативов выполнялась в период 1999 - 2011 гг. в опытном питомнике ИнБЮМ НАНУ, Севастополь. Исследования проводились на гигантской устрице *Crassostrea gigas* Thunberg, 1793, акклиматизация которой началась в Черном море в 1980 г. путем доставки устричной молоди из Японского моря [1, 3, 5].

В 1998 - 1999 гг. из Карадагского заповедника в ИнБЮМ были переданы две партии производителей, с которыми связано начало проведения экспериментальных исследований с целью разработки биотехники выращивания *Crassostrea gigas*. В 2009 г. исследования были продолжены и с использованием устриц этого же вида, но доставленных с побережья Франции (Атлантический океан).

Результаты

Воспроизводство гигантской устрицы в условиях Черного моря должно проходить через получение спата в контролируемых условиях питомника и включать следующие этапы: 1 – кондиционирование производителей, стимуляцию нереста и проведение оплодотворения; 2 – выращивание личинок и осажение их на субстраты; 3 – подращивание спата в море до товарного размера [4]. Первые два этапа выполняются в питомнике при использовании фильтрованной морской воды необходимого качества, третий этап – на устричной ферме, установленной в море.

Нормативы на кондиционирование производителей. Исследователи, изучающие биологию устриц, обычно исключают этап кондиционирования производителей и проводят искусственный нерест устриц с уже сформировавшимися гаметам. Начало этого периода в районе Севастополя приходится на 15 - 20 июня. Однако в промышленном питомнике, производящем спат круглогодично, обязательно должен реализовываться этап кондиционирования производителей.

Проведение данного этапа обусловлено необходимостью получения качественных гамет и, следовательно, обеспечения высокой выживаемости личинок, а в дальнейшем и спата. Также

эта операция необходима при расширении периода получения спата и при интродукции новых видов.

Производителей подбирают в зависимости от их размера, формы, внешних показателей их состояния и от скорости роста. Маточное стадо составляется из моллюсков, взятых из разных поселений. Для обеспечения баланса полов берут моллюсков разного возраста, но в пределах 1 - 4 года. Общее количество производителей должно быть не менее 100 экз. Производители, участвующие в нересте не должны использоваться в последующие годы.

При кондиционировании производителей проводят стимуляцию процесса созревания гамет, что осуществляется применением двух методов: температурного и химического [1, 4].

Обычно кондиционирование проводится в проточных аквариумах с подачей корма перистальтическими насосами. Однако допускается проведение кондиционирования в замкнутом цикле; при этом сырая биомасса производителей не должна превышать 3 г на литр воды аквариума. Необходимо также 2 раза в неделю полностью менять воду.

Условия проведения кондиционирования производителей *C. gigas* температурным методом:

1. Участок кондиционирования необходимо размещать в спокойном месте (чтобы не тревожить производителей).

2. Кондиционирование предпочтительно проводить в проточных аквариумах. При этом скорость протока должна быть не ниже 25 мл/особь·мин.

3. В проточном аквариуме сырая масса производителей не должна превышать 35 г на литр объема воды в аквариуме.

4. Продолжительность кондиционирования: 30 - 40 суток при температуре 20 - 24 °С.

5. Кормовые водоросли для кондиционирования, которые можно культивировать в интенсивной культуре в больших объемах: *Tetraselmis*, *Isochrysis galbana*, *Pavlova (Monochrysis) lutherii*, *Chaetoceros*, *Thalassiosira pseudonana*, *Skeletonema costatum*. Использование смеси водорослей эффективнее применения корма, состоящего из одного вида. Не рекомендуется использовать плохо перевариваемые водоросли (*Chlorella*, *Dunaliella tertiolecta*). Если в природной воде много кормового фитопланктона, то воду рекомендуется не фильтровать.

6. Размер суточного рациона (в сухом весе) составляет 2 - 4 % от сухого веса мягких тканей производителя, измеренного в начале кондиционирования. При превышении этой величины 6 % начинается быстрый соматический рост, (вместо репродуктивного роста).

При химической стимуляции раствор серотонина вводится шприцом в аддуктор (0,003 % раствор серотонина ($C_{14}H_{19}N_5O_2 \cdot H_2SO_4$) на стерильной морской воде). Затем производителей содержат в море до нереста. Созревание гонад ускоряется на один месяц. При этом методе отмечен отход производителей вследствие травмирования не только мускула, но и тканей других органов.

Нормативы проведения искусственного нереста и оплодотворения. За неделю до нереста и после определения стадии созревания устриц, производителей отбирают и чистят щеткой, удаляя грязь и особенно организмов-обрастателей, которые могут в дальнейшем свести на нет все усилия. Отмытых устриц размещают в аквариуме с проточной водой, профильтрованной через фильтр с ячейей 1 мкм при температуре 22 - 23 °С. Устриц выдерживают таким образом в течение недели без корма. За это время их кишечники освобождаются от непереваренной пищи, а также завершается созревание гонад. Для проведения искусственного нереста и последующего оплодотворения яиц должны быть выполнены следующие требования:

1. Тщательно очистить раковины, затем промыть и прополоскать фильтрованной морской водой.

2. Искусственный нерест проводится методом температурной стимуляции (термошоком). Для термошока предпочтительно использовать аквариумы 150 x 50 x 15 см и глубиной 10 см. Вода подается из двух труб с кранами, например 12 - 15 °С и 25 - 28 °С. Различие температур должно быть порядка 10 °С.

3. Дно аквариума должно быть темным, что облегчает проведение наблюдений за гаметами.

4. Порядок производства нереста следующий: аквариум заполняется холодной водой и добавляется немного микроводорослей с целью стимулирования фильтрации воды моллюсками. Через 30 - 40 мин. воду сливают и заполняют теплой водой и добавляют немного микроводорослей. Через 30 - 40 мин. воду меняют на холодную и т. д. Обычно нерест начинается через 1 - 4 часа после начала процедуры. Если в течение 2 - 3 часов нерест не наблюдается, тогда устриц возвращают на кондиционирование.

5. Первыми начинают нереститься самцы, которых извлекают из воды и держат на воздухе до тех пор, пока не наберется достаточное количество яиц (в воде сперматозоиды быстро стареют).

6. Нерестящихся самок необходимо рассадить в отдельные сосуды при 24 - 26 °С. Самки нерестятся через 30 - 60 мин. после нереста самца. Нерест одной самки продолжается не дольше 40 - 60 мин.

7. Если самка выметала слишком много яиц, ее нужно перенести в другой аквариум с чистой водой.

8. Необходимо иметь гаметы минимум от 6 самок и 6 самцов, что требуется для обеспечения генетического разнообразия.

9. Перед оплодотворением яйца следует просеять через сито с ячейей 90 мкм. При этом сито должно находиться под водой.

10. Для оплодотворения необходимо внести 2 мл сперматозоидов на 1 л ооцитов и выдержать сосуд в течение 60 - 90 мин. для завершения оплодотворения.

При необходимости срочного получения половых продуктов применяется метод стимуляции нереста при помощи 0,003 % раствора серотонина. Раствор (1 мл/особь) вводится шприцом в межстворчатую полость; ткани при этом не травмируются. Применение описанных методов не ведет к гибели производителей, а в процессе нереста высвобождаются только зрелые яйцеклетки и сперматозоиды, что обеспечивает высокую выживаемость личинок.

Широко применяемый в питомниках западных стран метод вымывания половых продуктов из надрезанных гонад [6], приводит к низкой выживаемости личинок на ранних стадиях развития (отход в течение первых трех суток составляет 40 %). Производители гибнут, а половые продукты получают разного качества, поскольку у устриц асинхронное созревание половых клеток.

Нормативы выращивания личинок. Личинок устриц можно выращивать как в непроточных, так и в проточных емкостях. В ИнБЮМе практикуется выращивание в непроточных системах с периодической сменой воды. Поэтому нормативы разработаны применительно к данной системе выращивания. Выращивание личинок осуществляют в баках, изготовленных из полиэтилена, либо из стекловолокна и эпоксидной смолы. Новые баки за 2 - 4 месяца до начала работ необходимо заливать морской водой, которая ежедневно должна заменяться. Использование горячей воды значительно сокращает продолжительность данной операции.

Условия выращивания личинок:

1. Развитие личинки от оплодотворенного яйца до стадии D (2 - 3 суток) осуществляют в цилиндрических или квадратных баках с закругленными углами.

2. На данной стадии пользуются баками с плоским дном, либо со слегка закругленным дном, так как личинки медлительны и склонны скапливаться на дне. Поэтому коническое дно не годится; также баки не должны быть глубокими, а продувка не рекомендуется.

3. После оплодотворения яиц, их необходимо выдержать 2 часа и затем перенести в бак на 24 - 48 часов при очень слабой продувке, либо вообще без продувки.

4. На стадии D плотность для *C. gigas* 10000 - 20000 экз./л, а для *O. edulis* – 2000 - 5000 экз./л. Когда личинки *C. gigas* достигнут 150 - 200 мкм, плотность задают 5000 экз./л, а при 250 - 300 мкм – 2000 экз./л.

5. Личинок на стадии D отбирать ситом с ячейей 35 мкм.

6. Личинки на стадии D желательнее рассортировать по размерам. Слишком большие личинки часто имеют морфологические отклонения, а слишком мелкие – растут медленно. Затем нужно подсчитать количество личинок по размерным группам.

7. Баки следует заполнять фильтрованной водой за сутки до внесения личинок.

8. Необходимо оперировать ситами с ячейей от 20 мкм до 250 мкм. Сита можно выбирать на основе соотношений, указанных в таблице.

Размеры ячеек сита и длины личинки, удерживаемой ситом

Ячейя газа, мкм	Длина личинки, удерживаемой на сите, мкм
45	75
80	120
120	145
150	170
160	210
180	255
200	280
220	300

9. Для личинок оптимальными кормовыми водорослями являются виды: *Chaetoceros calcitrans*, *Ch. muelleri*, *Thalassiosira pseudonana*, *Isochrysis galbana*, *Monochrysis lutherii*, *Tetraselmis*.

10. Для дезинфекции баков, предназначенных для выращивания личинок можно использовать хлорку (раствор гипохлорита натрия) 20 мг/л свободного хлора.

11. Воду в баках необходимо менять через 48 часов следующим образом: 1) выпустить воду с личинками через сито; 2) отмыть

стенки бака (мягкой губкой); 3) заполнить бак фильтрованной водой; 4) отсортировать личинок по размерам и оценить состояние личинок разных размерных групп; 5) группы с плохими показателями удалить; 6) промыть качественных личинок в мерном сосуде; 7) просчитать личинок и запустить их в бак. Все повторить через 48 часов.

Следует отметить, что в современных промышленных питомниках личинок выращивают в баках гораздо большего объема: от 1 до 10 м³, а в американских питомниках объемы баков достигают 40 - 50 м³ при концентрации личинок 2 - 3 тыс. экз./л.

Осаждение личинок. За 48 часов до начала метаморфоза личинки переходят на стадию «педивелигера с глазком». Все оборудование, предназначенное для использования при осаждении личинок, должно предварительно в течение двух месяцев вымачиваться в морской воде. Поверхность коллекторов тщательно отмывается от органических остатков, что предотвратит развитие бактерий, после чего коллекторы выдерживаются в морской воде 2 суток. Процесс осаждения производится в ваннах, либо в бассейнах разного объема. Личинок на стадии педивелигера (средний размер 325 мкм, диаметр глазка 14 мкм) переносят в емкость для оседания с подготовленными коллекторами, распределенными по всему объему емкости. Плотность посадки личинок составляет 1 тыс. лич./л; концентрация корма – 200 - 250 тыс. кл./мл. Оптимальный состав корма: *I. galbana*, *Ch. calcitrans*, *Ph. tricorutum*, *T. suecica*, *Sc. costatum*. Интенсивность аэрации воды понижена.

Вода должна быть профильтрована через фильтр с порами не более 5 мкм. Ванна должна быть заполнена профильтрованной водой за 24 часа до осаждения личинок. Раз в двое суток производится полная смена воды в ванной. Коллекторы, выдержанные в морской воде в течение 36 часов помещают в ванну за 24 часа до внесения личинок. Во вторые сутки, с целью обеспечения равномерного оседания личинок на обе поверхности субстрата, коллекторы необходимо повернуть нижней поверхностью вверх. На третьи сутки оседание личинок завершается. Коллекторы с осевшим спатом переносятся в емкость для подращивания спата.

В современных питомниках в качестве субстрата для осаждения личинок используется крупка, приготовленная из устричных створок размером 300 мкм. На одно зерно такой крупки оседает только одна личинка, что позволяет получать спат, представленный отдельными (не сросшимися) особями. Крупку рассыпают равномерно на сите из расчета 130 мг крупки на 1 см² сита. На 1 млн. личинок требуется два сита диаметром по 500 мм. Внутренняя поверхность боковых стенок сита (цилиндра) покрывается слоем парафина с целью предотвращения оседания личинок на стенки.

Нормативы выращивания спата. Для выращивания спата до размеров 2 - 3 мм можно использовать ванны (бассейны), в которых ранее проводили осаждение личинок на коллекторы. Затем спат переносят во внешние бассейны, расположенные на открытом воздухе.

1. Для обеспечения экономической рентабельности роста (не максимального роста) в неточной воде, нужно выращивать спат при плотности спата 0,2 кг/м³.

2. Пищевые потребности: на 1 млн. шт. спата размером 1 мм (весом 0,3 мг) требуется 17 г сух. веса водорослей в день, что эквивалентно 85700 млн. кл. *Tetraselmis suecica* или 87,7 л культуры плотностью 1 млн. кл./мл.

Для спата длиной 5 мм (вес 32 мг) в количестве 1 млн. шт. пищевая потребность составляет 9130 л *Tetraselmis* при той же плотности культуры. Установлено, что увеличение длины спата на 4 мм приводит к 100-кратному увеличению пищевой потребности. Поэтому для производства относительно крупного спата (длиной 10 - 15 мм) требуется организация и функционирование крупного кормоцеха с выращиванием водорослей в бассейнах объемом в несколько десятков кубометров. Экспериментально нами установлено, что спат размером 3 - 5 мм, при надлежащих условиях (температура 10 - 15 °С и высокая влажности (хлопчатобумажная ткань, смоченная в морской воде)) хорошо переносит транспортировку от питомника до устричных ферм.

Заключение

Несмотря на наличие разработанной технологии производства спата в контролируемых условиях, а также технологии выращивания гигантской устрицы в Черном море, устрицеводство в Черноморском бассейне, за исключением Турции, развивается крайне медленно. Однако уже имеются надежные и достаточные условия для развития черноморского устрицеводства, которое будет базироваться на подращивании спата, полученного в местных питомниках [4]. В связи с отсутствием природных поселений этой устрицы в Черном море, производителям спата придется решать проблему предотвращения инбридинга, что выполнимо только при условии сотрудниче-

ства черноморских устрицеводов, формирующих маточные стада. Потребуется организация обмена производителями и строгий учет всех производителей, участвующих в групповых скрещиваниях, а также разработка нормативов проведения скрещивания [2, 4]. Аналогично необходимо будет организовать обмен информацией о производстве и использовании триплоидов и тетраплоидов в питомниках и устричных хозяйствах.

Литература

1. Орленко А.Н. Основные результаты работ по акклиматизации и культивированию гигантской устрицы *Crassostrea gigas* (Th.) в Черном море за период 1985 - 2004 гг. // Рыбное хозяйство Украины. – 2005. – № 6. – Спецвыпуск. – С. 178 - 180.
2. Томас-Бургнеф М., Молло П. Планктон и аспекты морепользования / Пер. с франц. В.И. Холодова; ред. В.Н. Еремеев; Национальная академия наук Украины, ИнБЮМ. – Севастополь, 2011. – 281 с.
3. Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. Акклиматизация тихоокеанской устрицы *Crassostrea gigas* в Черном море // Рыбное хозяйство Украины. – 2003. – № 2. – С. 6 - 8.
4. Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. Выращивание мидий и устриц в Черном море / под. ред. В.Н. Еремеева. – Севастополь: ИнБЮМ НАН Украины, 2010. – 424 с.
5. Хребтова Т.В., Моница О.Б. Культивирование черноморской и акклиматизация тихоокеанской устриц в Черном море // Биологические основы аквакультуры в морях европейской части СССР. – М.: Наука, 1985. – С. 180 - 185.
6. Robert R., Gerard A. Bivalve hatchery technology. The current situation for the Pacific oyster *Crassostrea gigas* and the scallop *Pecten maximus* in France // Aquatic Living Resources. – 1999. – 12, № 2. – Pp. 121 - 130.