

УДК 639.371.2.03:639.3.006.3

Е. Н. Пономарёва, М. Н. Сорокина, В. А. Григорьев, А. В. Ковалёва, А. А. Корчунов

РЕЗУЛЬТАТЫ РАЗРАБОТКИ МЕТОДОВ ФОРМИРОВАНИЯ МАТОЧНЫХ СТАД СТЕРЛЯДИ В УСЛОВИЯХ ЗАМКНУТОГО ВОДООБЕСПЕЧЕНИЯ

Введение

Одним из методов сохранения редкой и исчезающей ихтиофауны южных морей России является аквакультура. Новые биотехнологии аквакультуры служат основой для рационального природопользования, сохранения биоразнообразия и снижения рисков антропогенного воздействия на продуктивность морских экосистем.

В последнее время в мире широкое распространение получила индустриальная аквакультура при использовании интенсивных методов с применением высоких плотностей посадки рыбы и высоким выходом продукции с единицы объема или площади. Одной из форм развития индустриальной аквакультуры является выращивание рыбы и других гидробионтов в установках замкнутого водообеспечения (УЗВ). Это направление получило широкое распространение во всем мире. При выращивании различных объектов в УЗВ можно максимально сократить потребление чистой воды, получить экологически чистую продукцию в максимально короткие сроки [1].

Для компенсации сократившегося количества каспийских и азовских осетровых, сохранения и увеличения их промысловых запасов остается единственный путь – форсированное развитие искусственного воспроизводства или заводского разведения осетровых, а также формирование высокопродуктивных маточных стад редких и исчезающих видов [2, 3].

Долгое время вопрос о необходимости создания маточных стад на действующих осетровых рыбоводных заводах (ОРЗ) по воспроизводству являлся чрезвычайно сложным в биологическом плане и затратным – в экономическом. Однако катастрофическое уменьшение естественных запасов осетровых заставило специалистов коренным образом пересмотреть свое мнение по вопросу формирования маточных стад, поскольку ОРЗ стали ощущать острый недостаток качественных производителей [4].

Для успешного развития осетрового хозяйства России необходимо проводить теоретические и практические работы в области формирования и эксплуатации маточных стад различных видов осетровых рыб и их гибридных форм в условиях действующих ОРЗ [5–7].

Целью исследований явилось изучение развития репродуктивной системы стерляди в зарегулированных условиях водной среды, в сравнении с естественными условиями; разработка методических подходов для проведения отбора производителей стерляди в продукционные стада и методов оптимизации процесса подготовки рыб к нересту.

Материалы и методы исследований

Исследования по формированию продукционных стад и развитию репродуктивной системы стерляди были выполнены в аквакомплексе береговой научно-экспедиционной базы «Каспальник» ЮНЦ РАН в условиях замкнутого водообеспечения в период 2005–2009 гг. Объектом исследования служила разновозрастная стерлядь (*Acipenser rutenus* Linnaeus, 1758) волжской и донской популяций.

Выращивание рыб осуществляли в бассейнах размерами 2 × 2 м и 1 × 1 м при контролируемых гидрологических и гидрохимических условиях. Контроль за развитием репродуктивной системы проводили посредством отбора и анализа биопсийных проб генеративной ткани у исследованных рыб. При достижении четвертой завершённой стадии зрелости гонад осуществляли преднерестовую подготовку производителей к нересту по разработанной ранее методике с использованием комплекса витаминов С, Е и В₁₂ [8, 9].

Пробы гонад отбирали полуавтоматической биопсийной системой и рыбоводным щупом. Изучение развития репродуктивной системы проводили с помощью ультразвукового сканера Sono Scare. Формирование маточного стада донской и волжской стерляди осуществляли в регулируемых условиях, для эффективности нереста проводили искусственную зиму.

Степень зрелости гонад производителей определяли экспресс-методом по коэффициенту поляризации ооцитов. Исследование спермы самцов для определения ее готовности к оплодотворению икры проводили методом микроскопирования, активность спермиев определяли по пятибалльной шкале Персова [8].

Количество гемоглобина определяли колориметрическим способом [9]. Гематокритную величину определяли центрифугированием цельной крови. Общий сывороточный белок измеряли на рефрактометре ИРФ-22 [10].

Микроскопические исследования форменных элементов крови исследуемых рыб проводили на окрашенных препаратах с помощью светового микроскопа МИКМЕД-5. Мазки крови окрашивали раствором азур-эозина по Романовскому [11].

Результаты исследований и их обсуждение

В результате выращивания производителей стерляди в специальных пластиковых бассейнах с регулированием гидрологического режима удалось сформировать продуктивное маточное стадо в течение 3-х лет.

Этапы формирования маточного стада представлены на рис. 1.



Рис. 1. Схема формирования маточного стада стерляди волжской и донской популяций

Гидрохимический режим в бассейнах для производителей поддерживался на оптимальном уровне. Температура колебалась от 20 до 23 °С, содержание кислорода – от 58 до 100 % насыщения, рН – от 5 до 7,6.

Следует отметить, что уже в апреле 2007 г. можно было выделить из стада донской стерляди 6 созревших самцов в возрасте 21 месяц. Осенью их насчитывалось около 15 %. Количество градусо-дней для созревания самцов составило 15 647,5 при среднесуточной температуре воды 21,5 °С.

Тестирование ремонтного стада донской стерляди в декабре 2007 г. (возраст 28 месяцев) показало, что количество созревших самцов достигло 35 %, самок с половыми продуктами на 2–3-й стадии зрелости – 15 %.

В феврале 2008 г. самки донской стерляди находились на 4-й стадии зрелости и были готовы к нересту (в возрасте 32 месяца). Количество градусо-дней для созревания самок составило от 19 800 до 22 252,5 при среднесуточной температуре 21,5 °С. При исследовании гонад донской стерляди генерации 2005 г. были получены следующие результаты: 90 % самок и 100 % самцов оказались на 4-й завершённой стадии зрелости.

Установлено, что скорость развития репродуктивной системы рыб напрямую зависит от гидрологических условий водной среды. У волжской стерляди для полного завершения гаметогенеза самкам необходимо набрать от 19 900 до 22 230 градусо-дней, что достигается за 29–32 месяца выращивания в УЗВ. При выращивании рыб в естественном термическом режиме данное количество градусо-дней возможно набрать за значительно больший промежуток времени – 4–5,5 года.

Динамика развития репродуктивной системы стерляди в зарегулированных и естественных гидрологических условиях представлена в табл. 1.

Таблица 1

**Динамика развития репродуктивной системы стерляди
в естественных и зарегулированных гидрологических и гидрохимических условиях**

Стадия зрелости гонад	В зарегулированных условиях		В естественных условиях	
	при первом созревании, мес.	при повторном созревании, мес.	при первом созревании, мес.	при повторном созревании, мес.
1	3–5	–	5–7	–
2	12	4	18	6
3	18	9	40	12
4	26	12	48	18–20

В зарегулированных условиях водной среды рыбы достигают завершенной 4-й стадии зрелости гонад уже в 25–26 месяцев, а при выращивании на фоне естественных температур имеют полностью сформированные и готовые к нересту гонады только в 48–49 месяцев. Сходная тенденция прослеживается и в длительности межнерестовых интервалов, так, в первом случае самки повторно созревают через 12 месяцев, а во втором – через 18–20 месяцев. Таким образом, интенсивность генеративного обмена у рыб, выращиваемых в зарегулированных условиях водной среды, в 1,8–2 раза выше.

При оценке качества ооцитов на завершающем этапе развития (3–4-я стадии зрелости гонад) каких-либо отклонений обнаружено не было. Оболочки ооцитов сформированы без нарушений, в цитоплазме не отмечено аномальных включений, коэффициент поляризации ядра изменяется в соответствии с биологическими особенностями формирования ооцитов у данного вида рыб.

В процессе выращивания осетровых рыб в УЗВ для целей формирования ремонтно-маточного стада необходимо проведение контроля функционального состояния организма рыб, что позволяет своевременно обнаружить отклонения в развитии организма и принять меры по устранению негативно влияющих факторов, приводящих к нарушениям. Нами была проведена дифференцировка по половому признаку рыб после достижения 2-й стадии зрелости гонад с применением новейших диагностических методов (ультразвуковое исследование и биопсия).

Для формирования репродуктивной системы и нормального функционирования организма в целом при кормлении производителей применяли специальные сбалансированные диеты, а также проводили преднерестовое инъекционное введение комплексом витаминов С, Е и В₁₂ [12, 13].

В результате регулирования параметров водной среды (стабилизация температуры в пределах от 20 до 21,5 °С при содержании кислорода от 65 до 88 % насыщения) и интенсивного кормления в зимний период были созданы оптимальные условия для роста стерляди, а регулирование температурного режима перед нерестом способствовало ускорению процесса овуляции яйцеклеток. В результате проведения экспериментов по регулированию сроков нереста было установлено, что изменение температуры в период перед нерестом позволяет сдвинуть сроки созревания ооцитов у самок и получить качественное потомство в более ранние сроки.

Применение витаминных препаратов для производителей стерляди в преднерестовый период показало их эффективность.

В результате исследования завершающего этапа гаметогенеза самки стерляди были разделены на группы, были даны рекомендации по их дальнейшему использованию. Оптимальные значения величины коэффициента поляризации ооцитов у осетровых рыб в преднерестовом состоянии должны быть в пределах 6–9 %. Более низкое значение этого показателя ($K_n \leq 0,05$) указывает на начало резорбции икры, а более высокое ($0,12 \leq K_n$) подтверждает незавершенность 4-й стадии зрелости самок. Такие рыбы требуют дополнительного выдерживания на фоне нерестовых температур с учетом видовых особенностей рыб.

Для оптимизации работы эндокринной системы стерляди в условиях замкнутого водоснабжения в преднерестовый период проводили искусственную зиму, постепенно снижая температуру воды до 6 °С в течение недели на 1–1,5 °С в сутки. В таких условиях производителей содержали минимум две недели. Затем начинали поднимать температуру до нерестовой (15 °С) и до введения гормональных препаратов поддерживали такой режим в соответствии с рис. 2.

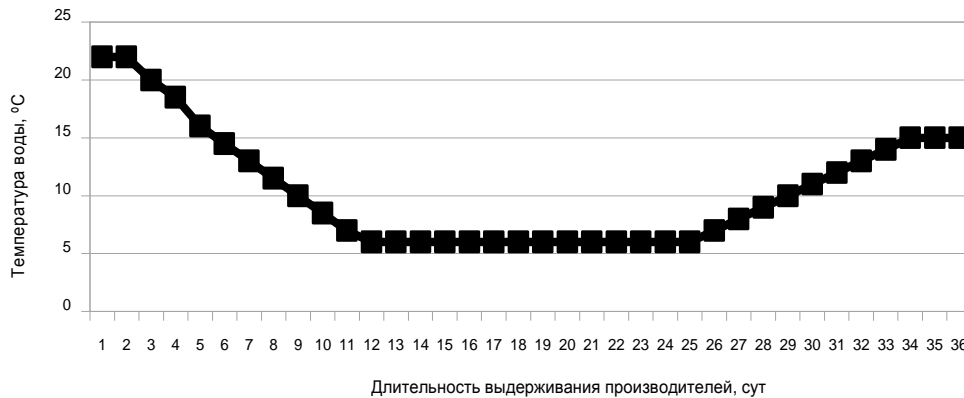


Рис. 2. График ввода производителей стерляди в нерестовое состояние

У самок после гормонального стимулирования отбирали икру и отсаживали их в пустой бассейн, с целью профилактики вводили витамины или антибиотики.

Исследование влияния продолжительности искусственной зимы на эффективность нереста позволило выявить оптимальное время содержания самок стерляди при низких значениях температуры (табл. 2).

Таблица 2

Исследование влияния продолжительности искусственной зимовки на производителей осетровых рыб на примере стерляди при выращивании в УЗВ

Продолжительность искусственной зимы (недели)			
1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели
Малоэффективно, созревает 10–20 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов 7–8, время созревания – более 30 часов	Оптимально, созревает 80–100 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов 9–11, время созревания – от 22 до 26 часов	Оптимально, созревает 80–100 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов 9–11, время созревания – от 24 до 28 часов	Возможно для рыб с низким коэффициентом поляризации ооцитов 13–15 для завершения гаметогенеза, оказывает негативное влияние на ооциты рыб с высоким коэффициентом поляризации ооцитов 7–9 (разрушение оболочек ооцитов)

В июне 2009 г. было получено потомство для пополнения стада волжской стерляди, для исключения близкородственного скрещивания самок отобрали из завезенных в 2006 г., самцов – в 2007 г.

При исследовании физиологического состояния рыб высокий уровень белка отмечался в течение всего периода выращивания (18–22 г/л). Колебания концентрации гемоглобина находились в пределах физиологической нормы (65–74 г/л), что характерно для рыб, выращиваемых в промышленных условиях на искусственных кормах. Увеличение концентрации данного хромопротеида в русле крови объясняется увеличением потребности в кислороде при переваривании продукционных кормов. Одновременно крови рыб свойственны и черты высокой специализации: огромное количество лейкоцитов и тромбоцитов. Гематокритный показатель, характеризующий количество растворенных в крови форменных элементов, находился на оптимальном уровне – 0,19–0,23 г/л. У выращиваемых в УЗВ осетровых также установлено наличие в периферическом русле эритроцитов с полиморфными ядрами. Это явление в последнее время стало часто встречаться у производителей стерляди, что связано с колебаниями гидрохимического режима (температура, недостаток кислорода, наличие повышенного количества аммонийного азота в воде). Необходимо отметить, что данные отклонения морфологии клеток крови не оказывают существенного влияния на репродуктивные способности организма.

Таким образом, показано, что скорость развития репродуктивной системы исследованных рыб напрямую зависит от гидрологических условий водной среды. В результате проведения опытов по разработке методов формирования маточного стада стерляди волжской и донской популяций выявлено, что время созревания донской стерляди составило от 19 800 до 22 252,5

градусо-дней при среднесуточной температуре 21,5 °С. У волжской стерляди для полного завершения гаметогенеза самкам необходимо набрать от 19 900 до 22 230 градусо-дней, что достигается за 29–32 месяца выращивания в УЗВ. При естественном термическом режиме необходимое количество градусо-дней возможно набрать только за 4–5,5 года.

Заключение

Установлено, что при стабильном термическом режиме 21,5 °С длительность межнерестового интервала составляет 10–12 месяцев, при естественном термическом режиме – 18–20 месяцев. Стабилизация показателей водной среды увеличивает интенсивность генеративного обмена стерляди в 1,8–2 раза.

Выявлено, что оптимальное время искусственной зимы составляет 2–3 недели. Это способствует повышению эффективности нереста и получению от 80 до 100 % созревших производителей.

В результате фундаментальных исследований биологии стерляди донской и волжской популяции были разработаны методы ускоренного формирования высокопродуктивных маточных стад в зарегулированных условиях, позволяющие в 3–4 раза сократить сроки созревания и межнерестовые интервалы.

Создание маточных аквакультурных стад редких и исчезающих видов осетровых позволит обеспечить сохранение генетического разнообразия рыб, выпускаемых в естественные водоемы, и снизить риски антропогенного воздействия на продуктивность морских экосистем.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Жигин А. В. Установки с замкнутым водоиспользованием в аквакультуре // Рыбное хозяйство. Сер. Пресноводная аквакультура. – 2003. – Вып. 1. – С. 1–68.
2. Лукьяненко В. И., Кулик П. В. Физиолого-биохимическая и рыбоводная характеристика разновозрастных производителей волго-каспийских осетровых рыб. – Рыбинск, 1994. – 266 с.
3. Технология выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России: учеб. пособие / С. В. Пономарев, Е. А. Гамыгин, С. Н. Никоноров и др. – Астрахань: Нова, 2002. – 264 с.
4. Васильева Л. М. Биологические и технологические особенности товарной аквакультуры осетровых в условиях Нижнего Поволжья. – Астрахань, 2000. – 189 с.
5. Подушка С. Б. Формирование и эксплуатация маточных стад осетровых рыб с целью получения посадочного материала для выпуска в естественные водоемы // Первый Конгресс ихтиологов России: тез. докл. – М., 1997. – С. 293.
6. Баранникова И. А., Никоноров С. И., Белоусов А. Н. Проблема сохранения осетровых в современный период // Осетровые на рубеже XXI века: тез. докл. Междунар. конф. – Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2000. – С. 7–9.
7. Результаты опытно-промышленных работ по созданию маточного стада белуги на ОРЗ дельты Волги / А. А. Попова, В. Н. Шевченко, Л. В. Пискунова и др. // Рыбохозяйственные исследования на Каспии: Результаты НИР за 2000 год. – Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2001. – С. 303–310.
8. Персов Г. М. Дозирование спермиев как способ управления оплодотворением яйцеклеток осетровых: Докл. АН СССР. – 1953. – Т. 90, № 6. – С. 1183–1185.
9. Крылов А. А., Кац А. М., Канторович А. С. Руководство для лаборантов клинико-диагностических лабораторий. – М.: Медицина, 1981. – С. 31–33.
10. Филиппович Ю. Б., Егорова Т. А., Севастьянова Г. А. Практикум по общей биохимии. – М.: Просвещение, 1982. – С. 68–70.
11. Иванова Н. Т. Атлас клеток крови рыб. – М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1982. – 184 с.
12. Сорокина М. Н. Эффективность использования α -токоферола и аскорбиновой кислоты при подготовке самок осетровых рыб к нересту: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2004. – 24 с.
13. Ковалёва А. В. Эффективность использования цианокобаламина для повышения резистентности объектов аквакультуры на разных этапах онтогенеза: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2006. – 24 с.

Статья поступила в редакцию 2.03.2010

**RESULTS OF METHODS DEVELOPMENT
FOR FORMING SPAWNING STARLET SCHOOLS
IN CLOSED WATER CIRCULATION**

*E. N. Ponomareva, M. N. Sorokina, V. A. Grigoriev,
A. V. Kovaleva, A. A. Korchunov*

Regulation of water environment parameters (stabilization of the temperature range from 20 to 21.5 °C, oxygen from 65 to 88 % saturation) and intensive feeding provide optimal conditions for the growth of Don and Volga starlet, and the regulation of the temperature regime before spawning (creating an artificial winter) has helped to accelerate ovulation of eggs in females. As a result, a scheme of accelerated formation of a highly productive spawning starlet school in an over-regulated conditions of the water environment to enlarge and recovery the natural population in the area, has been developed.

Key words: installation of closed water circulation, Don starlet, Volga starlet, manufacturers, spawning school, over-regulated conditions of the water environment, reproductive system.