

Федеральное агентство научных организаций
Институт морских биологических исследований имени А.О. Ковалевского РАН
Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН
Российский фонд фундаментальных исследований

МОРСКИЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

*Всероссийская научно-практическая конференция
с международным участием,
приуроченная к 145-летию
Севастопольской биологической станции*

Севастополь, 19–24 сентября 2016 г.

Сборник материалов

Том 3

Севастополь
ЭКОСИ-Гидрофизика
2016

УДК 574.5(063)
ББК 28.082.14
М 80

Редакторы: д.б.н. И.В. Довгаль

Морские биологические исследования: достижения и перспективы :
М 80 в 3-х т. : сборник материалов Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к 145-летию Севастопольской биологической станции (Севастополь, 19–24 сентября 2016 г.) / под общ. ред. А.В. Гаевской. – Севастополь : ЭКОСИ-Гидрофизика, 2016. – Т. 3. – 493 с.

ISBN 978-5-9907936-5-1

ISBN 978-5-9907936-8-2 (том 3)

Сборник подготовлен на основании материалов докладов, представленных на Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, приуроченной к 145-летию Севастопольской биологической станции. В третий том вошли статьи по радиохемозологии; проблемам загрязнения и биоиндикации качества водной среды; рациональному природопользованию, особо охраняемым природным территориям и акваториям; морским биологическим ресурсам; биотехнологии и аквакультуре.

УДК 574.5(063)

ББК 28.082.14

Marine biological research: achievements and perspectives: in 3 vol. : Proceedings of All-Russian Scientific-Practical Conference with International Participation dedicated to the 145th anniversary of Sevastopol Biological Station (Sevastopol, 19–24 September, 2016) / Ed. A.V. Gaevskaya. – Sevastopol : EKOSI-Gidrofizika, 2016. – Vol. 3. – 493 p.

Proceedings were prepared on the basis of reports submitted to the All-Russian scientific-practical conference with international participation dedicated to the 145th anniversary of Sevastopol Biological Station. The third volume includes articles on radioecology, the problems of pollution and the bio-indication of water quality; rational use of natural resources, marine and terrestrial protected areas; marine biological resources, biotechnology and aquaculture.

Сборник издан при финансовой поддержке РФФИ (грант № 16-04-20627)

Оргкомитет конференции не несет ответственности
за оригинальность и достоверность подаваемых авторами материалов

Печатается по решению ученого совета
Института морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН
(протокол № 7 от 24.06.2016 г.)

ISBN 978-5-9907936-5-1

ISBN 978-5-9907936-8-2 (том 3)

©Авторы статей, 2016

©Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, 2016
©Карадагская научная станция им. Т.И. Вяземского – природный заповедник РАН, 2016

МЕТОДЫ УПРАВЛЕНИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ ФУНКЦИЕЙ ОСЕТРОВЫХ РЫБ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА

Е. Н. Пономарева, М. Н. Сорокина, В. А. Григорьев, А. В. Ковалева, А. А. Корчунов

Южный научный центр РАН, Ростов-на-Дону, РФ, kafavb@mail.ru

Проведены исследования по разработке эффективных методов управления репродуктивной функцией и нерестом осетровых рыб при искусственном воспроизводстве. Установлено, что в условиях зарегулированного гидрологического режима у стерляди увеличивается интенсивность генеративного обмена в 1,8–2,0 раза, что позволяет получить зрелых самцов за 21–26 месяцев, самок – за 26–31 месяц с дальнейшим минимальным межнерестовым интервалом 6,5 месяца. Разработана комплексная методика, позволяющая управлять нерестом стерляди при моделировании условий водной среды и использовании витаминов.

Ключевые слова: аквакультура, репродуктивная функция, производители осетровых рыб, искусственное воспроизводство, установка замкнутого водоснабжения, витамины

В современный период популяция осетровых рыб формируется под влиянием природных и антропогенных факторов, и сохранение этих ценных видов возможно только благодаря ряду предпринимаемых мер по искусственному воспроизводству, что не только позволит сохранить уникальный генофонд, но и будет способствовать поддержанию и увеличению их численности.

Основной сложностью при выращивании осетровых рыб является позднее половое созревание. Одним из механизмов управления репродуктивной функцией рыб является регулирование сроков достижения половой зрелости самок и самцов за счет изменения продолжительности ранних фаз развития половых клеток и периодичности нереста [1]. Данный механизм, регулирующий созревание половых клеток рыб и процесс нереста в естественных условиях, запускается под влиянием ряда природных факторов и их сочетания — освещенности водоема, температуры и химического состава воды, содержания в воде кислорода и т. п.

Проведенные ранее в нашей стране и за рубежом исследования осетровых показали, что этой группе рыб свойственна высокая адаптационная пластичность [2–4] по отношению к влиянию самых разнообразных природных факторов (температура, содержание кислорода, соленость, кормовая база). Правильное моделирование этих факторов позволяет использовать их для управления жизненными циклами [5, 6].

Актуальными становятся методы, сочетающие в комплексе моделирование условий водной среды с дополнительным воздействием на репродуктивную систему биологически активных веществ (витаминов). Витамины Е, С и В₁₂ играют важную роль в размножении и в преднерестовый период, способствуя нормализации развития, повышению качества и количества половых продуктов [7].

Целью исследований была разработка комплексной методики управления развитием репродуктивной функции и регулирования нереста осетровых рыб для искусственного воспроизводства.

Материал и методы. Исследования проводились в Южном научном центре РАН. Объектом исследования служили производители стерляди (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758). Эксперименты проводили в модульной установке-комплексе, пред-

ставляющей собой систему замкнутого водообеспечения с круглогодично регулируемым водным режимом. Для выращивания рыбы применяли пластиковые бассейны размером 2,0 x 2,0 x 0,7 м. В опытах использовали производителей, выращенных от икры, полученной в УЗВ, в возрасте 3–4 года.

При достижении самками четвертой завершенной стадии зрелости гонад осуществляли перевод производителей в течение двух недель в условия сезонно изменяющегося температурного режима («искусственная зима») путем снижения температуры воды до 6 °С с градиентом 1,0–1,5 °С в сутки.

Выведение на нерестовый режим осуществляли линейным повышением температуры с суточным градиентом в 2 °С и по достижении 15 °С проводили гормональную стимуляцию. Скорость течения в период пониженных температур во время зимы поддерживали на уровне 0,1 м/с. При подготовке производителей к нересту ее изменяли в соответствии с особенностями нерестовой миграции осетровых рыб в естественных условиях обитания от 0,6 до 0,7 м/с (рис. 1).

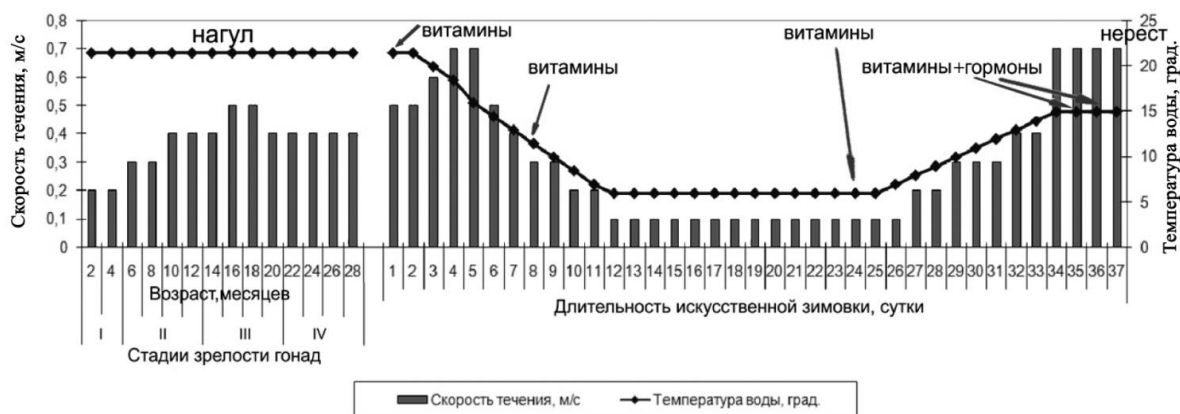


Рис. 1 Схема комплексной подготовки производителей стерляди к нересту

При подготовке производителей к нересту использовали комплекс витаминов С, Е и В₁₂ в виде фармацевтических препаратов: раствора 10%-ной аскорбиновой кислоты (100 мг/мл), 30%-ного α-токоферол-ацетата (300 мг/мл) и цианокобаламина (500 мкг/мл). Витамин Е относится к группе жирорастворимых витаминов, поэтому перед введением ампулу с препаратом разогревали на водяной бане.

В ранее разработанную методику использования комплекса витаминов внесли некоторые изменения: первую дозу витаминных препаратов Е и С вводили за неделю до изменения температурного режима перед понижением, вторую – в период понижения, третью – перед поднятием температуры, последнюю – за сутки до введения гормональных препаратов, витамин В₁₂ – непосредственно перед введением гормонов.

При исследовании рыба была разделена на три группы: опыт 1 – комплекс факторов + витамины, опыт 2 – УЗВ + витамины, контроль – УЗВ. Средняя масса рыб в начале эксперимента в опыте 1 составила 1,66 ± 0,13 кг, в опыте 2 – 1,7 ± 0,11 кг, в контроле – 1,4 ± 0,10 кг. Объем контрольной и опытных групп рыб составил по 30 экз.

Физиологическое состояние оценивали с применением общепринятых методик по содержанию в крови гемоглобина, сывороточного белка, общих липидов, холестерина и СОЭ [8–12].

Материалы обработаны вариационно-статистическими методами [13]. При этом использовали элементы статистического анализа с определением стандартной ошибки. Сравнительные признаки оценивали с помощью критерия достоверности Стьюдента.

Результаты и обсуждение. Исследования показали, что процесс завершения формирования гонад проходил нормально, без нарушений.

Анализ полученных результатов показал, что применение комплексной методики значительно улучшило качество полученной икры и положительно повлияло на репродуктивные показатели производителей. Созревание самок в опытных вариантах было выше на 2,5–3,5 %. Рабочая плодовитость при использовании витаминных инъекций и «искусственной» зимы была наибольшая – 26,2 тыс. шт. Икра, полученная от опытных самок, отличалась более высоким процентом оплодотворения – 94 % (табл. 1).

Табл. 1 Репродуктивные показатели самок стерляди

Показатель	Опыт (искусственная зима + витамины)	Опыт (УЗВ + витамины)	Контроль (УЗВ)
Масса тела, кг	1,66 ± 0,11	1,7 ± 0,11	1,4 ± 0,10
Созревание, %	100	90	87,5
Рабочая плодовитость, тыс. шт.	26,2 ± 0,28	21,3 ± 0,26	18,9 ± 0,34
Кол-во самок, давших доброкачественную икру, %	90	85,5	85,0
Масса одной икринки, мг	7,8 ± 0,8	7,8 ± 1,2	7,6 ± 0,9
Оплодотворение, %	94,0	90,0	85,0

Производители, подготовленные к нересту при использовании терморегуляции (проведения искусственной зимы) и биологически активных веществ, имели коэффициент поляризации от 10,5 до 7,8, продолжительность созревания составила 22–26 ч. В контроле созревание было более растянутым.

Биохимические показатели отражают ответную реакцию организма, и их можно использовать как индикаторы, позволяющие оценить влияние на рыб различных факторов. Стоит отметить, что инъекции витаминов существенно улучшили физиологическое состояние производителей стерляди. Содержание гемоглобина и сывороточного белка в крови самок, инъецированных витаминами, было достаточно высоким – 66,0 и 42,0 г/л соответственно. У рыб в других вариантах эти показатели были ниже. Очевидно, это связано с важной ролью аскорбиновой кислоты и цианкобаламина в процессе кроветворения [14, 15].

Сравнительный анализ икры, полученной от самок стерляди в опытах и контроле, выявил различия по некоторым показателям. Биохимический состав икры, полученной от проинъецированных витаминами самок стерляди, характеризовался большим содержанием белка и жира. Уровень белка в икре опытной группы на 3,3 % выше, чем в контроле, при достоверности различий $P < 0,05$.

Определение содержания витаминов С и Е в икре показало, что у самок опытной группы этих витаминов было выше на 39,3 и 29,5 %, соответственно, при $P < 0,001$.

Имитирование при искусственном выращивании условий окружающей среды, к которым стерлядь приспособилась в процессе эволюции в местах ее естественного обитания, создало стимулы, обеспечивающие высокие репродуктивные показатели самок. Отмечено 100 % созревание самок, высокое значение процента оплодотворения – 94 %.

При использовании витаминов отмечены более высокие показатели, что подтверждается литературными данными, в которых отмечено, что в преднерестовый период витамины используются для направленного действия на гаметогенез [16–19].

Являясь низкомолекулярными антиоксидантами, витамины имеют большое значение для гаметогенеза рыб, т. к. развитие гонад стимулирует гонадотропин, непосредственно взаимодействующий с катехоламинами и стероидными гормонами и их рецепторами, который регулирует механизм поглощения антиоксидантов (аскорбатов), их транспорт и метаболизм (деградацию и синтез) в репродуктивной системе.

Гематологические показатели самок, инъецированных комплексом витаминов, свидетельствовали о лучшем физиологическом состоянии: уровень гемоглобина – на 4 г/л, гематокрита – на 0,05 л/л, количество эритроцитов – на 0,022 млн/мм³ были выше, чем у контрольной группы самок. Такое состояние объясняется действием аскорбиновой кислоты и цианокобаламина на качество крови.

Выводы. Применение данной схемы подготовки к нересту стерляди показало, что моделирование условий водной среды (период нерестовой миграции, зимы и нереста) и использование комплекса биологически активных веществ (витаминов) позволило управлять нерестом стерляди в зарегулированных условиях, ускорить созревание, повысить оплодотворение икры на 10–15 %, выход свободных эмбрионов – на 15–20 %, снизить количество аномалий в развитии эмбрионов на 10 %, что явилось основой комплексной методики подготовки рыб к нересту при искусственном воспроизводстве.

Исследования выполнены в рамках ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020 годы», соглашения № 14.604.21.0098 по теме «Создание научно-технического задела и структуры производственного кластера интегрированной этажной биотехнологии получения экологически чистой продукции аквабиокультуры для формирования высокоэффективного рыбного хозяйства с учетом региональных особенностей юга Российской Федерации», уникальный идентификатор прикладных научных исследований (проекта) RFMEFI60414X0098.

1. Шатуновский М. И., Рубан Г. И. О некоторых новых подходах к изучению воспроизводства рыб // Актуальные проблемы современной ихтиологии (к 100-летию Г. В. Никольского). Сборник статей. М.: Т-во научных изданий КМК, 2010. С. 241–261.
2. Баранникова И. А. Основные пути развития осетроводства в условиях комплексного использования водных ресурсов // В кн.: Биологические основы осетроводства. М.: Изд-во АН СССР, 1983. С. 8–22.
3. Bergeron J. F., Brousseau J. Acipenseridae // Guide des poissons d' eau douce du kuebec, Reimpression, 1983. 11–14 s.
4. Гераскин П. П. Влияние загрязнения Каспийского моря на физиологическое состояние осетровых рыб // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Т. 8. № 1. 2006. С. 273–282.
5. Самойленко Д. А. О факторах ускоренного полового созревания осетровых рыб // Осетровые рыбы и их будущее: Сборник статей Междунар. конф. Бердянск: НИАМ, 2011. С. 176–179.
6. Подушка С. Б. Ускоренное формирование маточных стад осетровых в рыбноводных хозяйствах // Проблемы современного товарного осетроводства: Тезисы докладов первой научно-практической конференции. Астрахань: Волга, 1999. С. 71–73.
7. Остроумова И. Н. Биологические основы кормления рыб. СПб.: ФГБНУ «ГосНИОРХ», 2012. 564 с.
8. Van Kampen E. J., Zijlstra W. G. Standardization of hemoglobinometry. II. The hemoglobincyanide method // *Clin. Chim. Acta*. 1961. V. 6. P. 538–545.

9. Zolner N., Kirch K. Z. Uber die quantitive Bestimmung von Lipoiden (micromethode mittels die vieles naturlischen Lipoiden allen Bekannten plasmolipoiden) gemeinsamen sulfophosphovanillin-reaction // *Zeitschrift fur die gesamte experimentelle Medicin*. 1962. Vol. 135. № 6. P. 545–561.
10. Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor // *Ann. Clin. Biochem*. 1969. – Vol. 6. – P. 24–27.
11. Knight J., Anderson S., Rawle J. Chemical basis of the sulfo-phospho-vanillin reaction for estimating total serum lipids // *Clin Chem*, 1972. Vol. 18. P. 199–202.
12. Филиппович Ю. Б., Егорова Т. А., Севастьянова Г. А. Практикум по общей биохимии. М.: Просвещение, 1975. 318 с.
13. Лакин Г. Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 293 с.
14. Войнар А. И. Микроэлементы в живой природе. М., 1962. С. 85–94.
15. Князева Л. М. Влияние обогащения диеты витаминами Е и С на физиологические изменения в организме рыб при С-витаминной недостаточности // Тез. докл. Всесоюзн. конф. по экологической физиологии и биохимии рыб. Астрахань, 1979. С. 171–172.
16. Глубоков А. И. Витамин В₁₂ как препарат для повышения жизнестойкости рыб в периоды раннего онтогенеза // *Водная токсикология и оптимизация биопродукционных процессов в аквакультуре*. М.: ВНИРО, 1988. С. 130–138.
17. Гутиева З. А., Шахмуразов М. М., Шестерин И. С. Изучение влияния биологически активных веществ на выживаемость молоди карпа // *Вестник КБГУ*. Сер. Биологические науки. Вып. 5. Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2002. С. 36–38.
18. Долгачева И. М., Александров А. А., Пышный Ю. Ю., Елисеева С. П. Опыт применения тиаминовых ванн на ранних этапах развития лососевых рыб // *Рыбное хозяйство*. Инф. Пакет. Сер. Болезни гидробионтов в аквакультуре. М.: 2000. № 1. С. 26–27.
19. Шестерин И. С., Ильин А. И. Методические указания по улучшению качества водной среды, повышению продуктивных качеств производителей и выживаемости молоди рыб. М.: ВНИИПР, 1999. 11 с.

METHODS OF REPRODUCTIVE FUNCTION CONTROL IN STURGEONS FOR THE PURPOSE OF ARTIFICIAL REPRODUCTION

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

Southern Science Center of RAS, Rostov-on-Don, RF, kafavb@mail.ru

Studies on the development of effective methods of control reproduction and spawning sturgeon in artificial reproduction were carried out. It was found that under conditions of regulated hydrologic regime in sterlet increases the intensity of generative exchange 1.8–2.0 times that allows you to mature for 21–26 months males, females – 26–31 per month with the further minimum interval between spawning of 6.5 months. A comprehensive methodology that allows to manage spawning sterlet in the simulation of water environment conditions and the use of vitamins was developed.

Key words: aquaculture, reproductive function, manufacturers sturgeon, artificial reproduction, recirculation system, vitamins