

Рыбоводно-биологическая и гематологическая характеристика ремонтно-маточного стада стерляди, выращиваемой в установках замкнутого водоснабжения

Е.В. Сементина, аспирантка кафедры аквакультуры, д-р биол. наук, проф. Г.Г. Серпунин - ФГБОУ ВПО «Калининградский государственный технический университет», serpunin@kltgu.ru

Изучена динамика рыбоводно-биологических и гематологических показателей разновозрастной стерляди ремонтно-маточного стада при выращивании в установках замкнутого водоснабжения. Определены температурные и гидрохимические условия выращивания исследуемых объектов. Установлены особенности роста разновозрастной стерляди. Выявлены гематологические показатели, значения которых достоверно отличаются у младшей возрастной и старшей возрастной ремонтной группы стерляди.

Ключевые слова: стерлядь, ремонтно-маточное стадо, установки с замкнутым водоснабжением, показатели гидрохимические, рыбоводно-биологические, гематологические, цитометрические



В условиях антропогенного загрязнения водоемов создание маточных стад осетровых с использованием промышленных методов выращивания – путь к сохранению генофонда этих ценнейших представителей мировой ихтиофауны и получения посадочного материала для пастбищной аквакультуры и товарного рыбоводства. В связи с применением промышленных методов выращивания рыб повышается необходимость их физиологического контроля.

Одним из чувствительных методов, позволяющим оперативно и точно устанавливать физиологическое состояние рыб, а также оценивать условия их выращивания, является гематологический метод, поскольку кровь является полифункциональной системой организма, динамично реагирующей на все изменения как внутренней, так и внешней среды.

Цель исследования – определить рыбоводно-биологические и гематологические показатели разновозрастного ремонтно-маточного стада стерляди и качество условий ее выращивания в установках замкнутого водоснабжения (УЗВ).

Исследования проводились с октября 2009 г. по ноябрь 2010 г. на базе рыбоводного цеха ООО «КМП Аква», расположенного в г. Светлый Калининградской области. В начале исследования младшая возрастная группа стерляди ремонтного стада, которую выращивали в бассейне № 14 (УЗВ-2), достигла возраста 18 мес., а группа старшего возраста из бассейна № 5 (УЗВ-1) – 28 месяцев. К апрелю 2010 г. вторая группа рыб в возрасте 34 мес. впервые созрела и была переведена из ремонтного в маточное стадо. Объем бассейнов составлял 1,5 м³, глубина воды в них поддерживалась на уровне 0,5-0,6 м. Фильтр УЗВ-1 представлял собой

биореактор совмещенный с отстойником, а УЗВ-2 – фильтр-биореактор, совмещенный с механическим фильтром и отстойником. Ежесуточная подпитка УЗВ составляла 7 % от общего количества циркулирующей воды. Плотность посадки рыбы в бассейне № 5 на момент исследований составляла 40 шт./м³, а в бассейне № 14 – 180 шт./м³.

Кормили рыбу 2 раза в светлое время суток. Суточную норму корма рассчитывали по кормовым таблицам. Рыбам массой до 500 г давали продукционные корма рецептуры *Aller Forel 45/15*, стерлядь массой от 500 г и выше кормили кормом рецептуры *Aller Sturgeon REP* (для производителей осетровых рыб). Вся исследуемая стерлядь ежедневно, дополнительно вместе с кормом, 2 раза в день получала пробиотик «Субтилис» в дозе 0,5 мл/кг корма.

В период выращивания стерляди контролировалась температура и гидрохимические показатели. Температура воды измерялась постоянно, 1 раз в 7 дней определялась концентрация в воде кислорода, аммонийного азота, нитритов, нитратов, аммиака, железа, сульфатов, хлоридов, а также pH воды.

На протяжении всего времени выращивания проводили контрольные взвешивания и измерения стерляди. На основании полученных данных рассчитывали показатели темпа роста по величине относительного среднесуточного прироста и коэффициента массонакопления, а также, по полученным данным, вычисляли среднесуточную скорость роста и коэффициент упитанности по Фультону.

Изучали гематологические показатели стерляди разных возрастных групп. Перед взятием крови, рыбу выдерживали 2-4 мин. в ваннах с раствором прописцина, в качестве успокаивающего препарата [1]. Кровь для анализа у рыб брали прижизненно из хвостового гемального канала с помощью шприца каждые 2 мес. в течение всего периода исследований. Определяли следующие показатели крови: концентрацию гемоглобина, эритроцитов, лейкоцитов, ОБС, лейкоцитарную формулу, индекс сдвига лейкоцитов, индекс сдвига нейтрофилов, цитометрические характеристики эритроцитов.

Гематологические исследования проводили по единым отработанным методикам [2]. Косвенным методом на 500 эритроцитов подсчитывали относительное количество: лейкоцитов; эритроцитов на разных стадиях развития: полихроматофильных нормобластов, оксифильных нормобластов; круглых и овальных тромбоцитов.

Подсчет лейкоцитарной формулы производили на сухих мазках, окрашенных по Паппенгейму, с использованием микроскопа «Микмед» и иммерсионного объектива. На каждом мазке идентифицировали 200 лейкоцитов, с учетом стадий их цитогенеза по классификации Н.Т. Ивановой (1983) [3]. Определение цитометрических параметров эритроцитов осуществляли с помощью системы анализа изображений

Таблица 1. Гидрохимические показатели в период исследований

Показатель	Оптимальные границы [5]	Гидрохимические показатели в УЗВ-2	Гидрохимические показатели в УЗВ-1
Кислород, мг/л	Не менее 6,0	5,90 – 11,00	5,80 – 10,70
Водородный показатель (pH)	6,0 – 8,0	6,0 – 7,0	6,0 – 7,0
Азот аммонийный, мг/л	0,5 – 1,0	0,08 – 1,00	0,01 – 1,18
Аммиак, мг/л	0,1	0,0001 – 0,0060	0,0001 – 0,0040
Азот нитритный, мг/л	До 0,1	0,02 – 0,13	0,01 – 0,19
Азот нитратный, мг/л	До 1,0	0,18 – 1,06	0,74 – 1,30
Железо (общее), мг/л	До 1	0,05 – 0,60	0,05 – 0,90
Хлориды, мг/л	До 10	0,50 – 5,00	0,01 – 8,00
Сульфаты, мг/л	До 10	0,05 – 20,00	0,10 – 12,00

«ВидеоТест – Морфо» [4]. Статистическую обработку полученных цифровых данных выполняли по общепринятым методикам. Для подтверждения достоверности различий использовали критерий Стьюдента при уровне значимости $p < 0,05$; $0,01$ и $0,001$.

В период исследования температура воды колебалась в бассейнах УЗВ-1 и УЗВ-2 от 12 до 26°C. В 2009 г. с октября по ноябрь температура в обоих УЗВ находилась в пределах 18-20°C, что соответствовало оптимальному диапазону температуры воды (18-25°C) для выращивания осетровых рыб. С начала декабря 2009 г. температуру постепенно снижали, создавая искусственную зиму. В марте 2010 г. наблюдались минимальные значения температур в обоих УЗВ. С апреля температуру стали постепенно повышать. Максимальные ее значения наблюдались в июле-августе 2010 года. Затем вновь последовало снижение температуры, значение которой в конце исследований в обоих УЗВ составило 17°C. В июле и августе 2010 г. в регионе наблюдалась аномальная жара, и температура воды в рыбободных бассейнах обоих УЗВ была выше оптимальной на 1°C (26°C).

Во время исследования стерляди в обоих УЗВ концентрация кислорода больший период времени превышала 7 мг/л. Однако в период повышения температуры воды до 26°C отмечалось снижение этого показателя до 5,8-5,9 мг/л. Разница значений концентраций кислорода в бассейнах УЗВ-2 и УЗВ-1 на протяжении всего периода исследований не превышала 1,2 мг/л.

Некоторые из показателей, такие как аммонийный азот, нитритный и нитратный азот, сульфаты иногда кратковременно незначительно превышали оптимальные значения для осетровых, вследствие накопления органических загрязнений. В целом циркулирующая вода в УЗВ-1 и УЗВ-2 соответствовала нормам для установок с замкнутым водоснабжением и была пригодна для выращивания ремонтно-маточного стада стерляди (таблица 1).

Значения температуры воды и гидрохимических показателей, а также их динамика в бассейнах УЗВ-2 и УЗВ-1 были сходными, что позволило нам сравнивать между собой рыб, содержащихся в разных установках.

За период исследования индивидуальная средняя масса стерляди в УЗВ-2 увеличилась с 440,50 до 1316,00 г, а в УЗВ-1 с 1010,50 до 1737,8 г. Существенное снижение абсолютного прироста наблюдалось лишь в период искусственной зимовки, когда температура воды не поднималась выше 12°C. Причем наибольший прирост у младшей возрастной группы рыб ремонтного стада наблюдался при температуре 16-18°C, а старшей возрастной – при температуре 23-25°C.

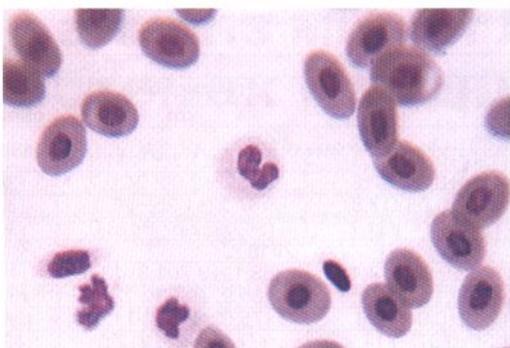
Наиболее интенсивный рост наблюдался в младшей возрастной группе ремонтного стада. Высокий коэффициент упитанности по Фультону в обеих группах рыб (0,40-0,51) свидетельствовал о достаточном качестве и количестве корма.

В периферической крови всех исследованных особей, наряду со зрелыми эритроцитами, были обнаружены молодые эритроциты. У старшей возрастной группы ремонтного стада стерляди количество оксифильных нормобластов было достоверно выше, чем у младшей возрастной группы в октябре 2009 г. ($p < 0,05$) и июне 2010 г. ($p < 0,001$), что свидетельствует о высокой интенсивности обменных процессов в эти периоды в организме этих рыб, очевидно, в связи с созреванием половых клеток.

У рыб младшей группы ремонта с октября 2009 г. по июнь 2010 г. в период роста с 18 до 26 мес. достоверных различий в концентрации эритроцитов не наблюдалось (таблица 2). В августе 2010 г. их концентрация эритроцитов достоверно увеличилась ($p < 0,05$) относительно июньских значений, а затем в ноябре снизилась ($p < 0,001$).

У рыб старшей группы ремонта наблюдалась иная картина. С декабря 2009 г. по февраль 2010 г. у них отмечено достоверное увеличение ($p < 0,05$) концентрации эритроцитов, за которым последовало снижение ($p < 0,01$). В конце исследования (ноябрь 2010 г.) концентрация эритроцитов у этих рыб находилась на уровне показателей, установленных для осетровых рыб Л.Д. Житеновой [6] и составила 0,98 млн./мл. Между группами ремонтного стада различия наблюдались с февраля по апрель, а также с августа по ноябрь 2010 г. (таблица 2).

Колебания концентрации гемоглобина находились в пределах физиологической нормы (65-74 г/л), что характерно для рыб, выращиваемых в промышленных условиях на искусственных кормах [7]. В обеих группах наблюдалась одинаковая динамика концентрации гемоглобина



в крови. Отмечено повышение уровня гемоглобина в зимний период, что, вероятно, было связано со снижением температуры воды и увеличением в тканях и крови продуктов метаболизма [8], и последовавшее его снижение в весенний и летний периоды. В период увеличения концентрации гемоглобина в крови прослеживалось и увеличение его содержания в эритроците.

Несмотря на то, что в процессе онтогенеза концентрация гемоглобина в крови рыб увеличивалась, достоверные различия в этом показателе между младшей и старшей возрастными ремонтными группами наблюдались лишь в октябре 2009 г. (таблица 2).

СО₂ у рыб обеих групп колебалась от 2,33 до 5,60 мм/ч и находилась в пределах нормы (1-6 мм/ч) [9].

В течение всего периода выращивания в обеих группах стерляди отмечался высокий уровень белка в сыворотке крови, что говорит о хорошей обеспеченности исследуемых рыб пищей и благоприятных условиях выращивания. Пониженный температурный режим в зимний период способствовал снижению пластического обмена, что повлекло увеличение концентрации белка в сыворотке крови исследованных рыб (таблица 2).

У младшей возрастной группы стерляди достоверных изменений концентрации лейкоцитов не выявлено, в то время как у старшей возрастной группы наблюдались достоверные изменения этого показателя в декабре 2009 г. и июне 2010 г. – увеличение, и в августе 2010 г. – снижение (таблица 2). Установлено, что у старшей возрастной группы рыб концентрация лейкоцитов с октября по декабрь 2009 г. была достоверно выше, чем у младшей возрастной группы стерляди (таблица 2).

Лейкоциты в периферической крови разновозрастной стерляди в период исследования были представлены девятью типами клеток: из гранулоцитов – промиелоцитами, миелоцитами и метамиелоцитами нейтрофильными, палочкоядерными и сегментоядерными нейтрофилами, эозинофилами; из агранулоцитов – большими и малыми лимфоцитами и моноцитами.

Кровь разновозрастной стерляди носила лимфоидный характер. Доля лимфоцитов у младшей возрастной группы ремонта колебалась в пределах 75,20-82,85 %. У старшей возрастной группы рыб в период нахождения в ремонтном стаде доля лимфоцитов составляла 60,80-79,15 %, а после перевода в маточное стадо – 71,50-83,70 %. В периферической крови преобладали малые лимфоциты. На долю больших лимфоцитов у рыб из УЗВ-2 приходилось 3,2-7,7%, а у рыб из УЗВ-1 ремонтного стада – 3,8-6,9 %, маточного – 1,3-3,5 %.

Второе место по численности занимали нейтрофилы, находящиеся на различных стадиях цитогенеза. Их процент в зимние месяцы достоверно возрос у старшей возрастной группы рыб за счет увеличения метамиелоцитов нейтрофильных ($p < 0,01$ и $0,001$). У младшей возрастной группы рыб достоверных различий в динамике относительного количества нейтрофилов не выявлено. Среди нейтрофилов у обеих групп рыб преобладали юные формы (нейтрофильные миелоциты и метамиелоциты). Однако в летний период их доля у младшей возрастной группы рыб достоверно снижалась ($p < 0,001$), в связи с достоверным увеличением ($p < 0,05$) процента палочкоядерных нейтрофилов. У старшей возрастной группы изменение соотношения юных и зрелых форм проходило менее выражено, поэтому снижение процентного количества метамиелоцитов нейтрофильных ($p < 0,05$) в июне 2010 г. было связано с общим снижением нейтрофилов в крови исследованных рыб.

В крови младшей возрастной группы стерляди постоянно встречались моноциты и эозинофилы. На их долю приходилось соответственно 0,1-0,6 и 0,9-5,5 %, в то время как у старшей возрастной группы стерляди моноциты встречались эпизодически, преимущественно в зимний период (0,1-1 %), а процентное количество эозинофилов недостоверно изменялось в диапазоне 0,4-2,5 %.

Индекс сдвига лейкоцитов у младшей возрастной ремонтной группы стерляди на протяжении всего исследования находился в норме, которая для осетровых рыб составляет 0,25-0,40 [10], что указывает на отсутствие воспалительных процессов в организме рыб. У старшей возрастной ремонтно-маточной группы рыб этот показатель, также находящийся в пределах нормы, резко возрос в феврале 2010 г. до 0,54, что, вероятно, было связано с созреванием у этих рыб половых клеток.

На всех мазках крови стерляди встречались тромбоциты двух видов – круглые с малым количеством цитоплазмы и овальные, веретенообразные с большим количеством цитоплазмы. Располагались они

Таблица 2. Показатели крови разновозрастной стерляди, выращиваемой в УЗВ

Месяц	Возраст, мес.	Показатели			
		эритроциты, млн/мкл	гемоглобин, г/л	общий белок в сыворотке крови, г/л	лейкоциты, тыс./мкл
2009 г.					
Октябрь	18	(1,18±0,13)/32,3	(32,79±1,30 ^{2,3})/11,9	(21,94±2,00 ^{3,3})/27,3	(34,50±3,26 ¹)/28,3
	28	(1,50±0,15)/30,6	(44,83±3,09 ^{2,3})/20,7	(38,04±3,17 ^{3,1})/25,0	(47,00±3,68 ^{1,2})/23,5
Ноябрь	20	(1,28±0,08)/17,8	(67,52±1,35 ^{3,3})/6,0	(33,64±1,54 ^{3,3})/13,7	(43,25±5,43 ¹)/37,7
	30	(1,35±0,14 ¹)/31,7	(66,09±2,87 ^{3,3})/13,0	(30,58±1,37 ^{1,3})/13,4	(59,00±1,48 ^{1,2,2})/7,5
2010 г.					
Февраль	22	(1,29±0,06 ³)/14,1	(88,12±3,70 ^{1,3})/12,6	(46,26±1,80 ^{3,3})/11,7	(34,00±4,77)/42,1
	32	(1,73±0,10 ^{3,1,2})/16,5	(85,92±3,60 ³)/12,6	(51,58±2,96 ^{1,3})/17,2	(40,00±4,91 ²)/36,8
Апрель	24	(1,19±0,04 ¹)/9,8	(75,02±2,98 ¹)/11,9	(34,67±1,30 ^{2,3})/11,2	(45,00±3,99)/26,6
	34	(1,36±0,07 ^{1,2})/14,9	(77,29±3,21)/12,5	(42,21±2,10 ^{2,1,1})/14,9	(39,0±4,05 ³)/31,1
Июнь	26	(1,11±0,08 ¹)/21,7	(74,09±4,72)/19,1	(28,93±2,11 ¹)/21,9	(58,00±6,22)/32,2
	36	(1,28±0,14)/33,1	(71,59±3,77)/15,8	(31,34±4,60 ¹)/44,0	(62,50±4,08 ^{3,3})/19,6
Август	28	(1,48±0,11 ^{1,3})/22,4	(66,15±3,48)/15,8	(29,61±1,92 ²)/19,4	(47,75±5,66)/35,5
	38	(1,19±0,06 ¹)/15,9	(65,32±2,16)/9,9	(39,21±1,89 ²)/14,4	(35,75±4,25 ³)/35,7
Ноябрь	30	(0,76±0,04 ^{1,3})/17,3	(60,56±3,58)/17,7	(31,37±1,47 ³)/14,1	(36,25±3,93)/32,6
	40	(0,98±0,08 ¹)/24,8	(66,92±3,39)/15,2	(43,10±1,22 ³)/8,5	(29,50±2,96)/30,1

Примечание. Над чертой среднее значение показателя и ошибка средней, под чертой – коэффициент вариации, %. 1, 2, 3 - различия между группами достоверны соответственно при p < 0,05; 0,01; 0,001. 1, 2, 3 – различия между рыбами разных возрастов внутри группы достоверны соответственно при p < 0,05; 0,01; 0,001.

на мазке одиночно и агрегировано. Количество овальных тромбоцитов преобладало над круглыми.

У младшей возрастной группы стерляди в период исследований были выявлены достоверные различия в периметре эритроцитов лишь в декабре 2009 г. в возрасте 20 месяцев. Остальные различия в цитометрических параметрах эритроцитов коснулись фактора формы круга, эллипса, округлости и отношения большой оси к малой. Это позволяет сделать вывод о том, что у этой группы рыб в зимний период, наряду с ростом концентрации эритроцитов, происходило изменение их формы от округлой к овальной, что говорит о созревании клеток в периферической крови исследованной стерляди. Аналогичные изменения происходили и в крови старшей возрастной группы рыб. Однако у них отмечено в декабре 2009 г. достоверное изменение всех изученных параметров эритроцитов: увеличение площади, периметра, фактора формы эллипса, большой и малой оси эритроцитов (p < 0,001), при этом фактор формы круга и округлость снизились (p < 0,001).

Выводы:

1. При выращивании в УЗВ наиболее интенсивный рост наблюдался в младшей возрастной ремонтной группе стерляди в диапазоне температур 16-18°C, тогда как у старшей возрастной маточной группы в диапазоне более высоких температур 23-25°C.
2. У старшей возрастной ремонтно-маточной группы стерляди в осенний и весенний периоды наблюдался более активный гемопоэз, а также повышение индекса сдвига лейкоцитов в сравнении с младшей возрастной группой стерляди, что вероятно, было связано с созревaniem половых клеток.
3. Индекс сдвига лейкоцитов и скорость оседания эритроцитов у стерляди обеих возрастных групп на протяжении всего исследования находились в пределах нормы, что свидетельствует об отсутствии воспалительных процессов в организме рыб.
4. Высокий уровень белка в сыворотке крови отмечался в течение всего периода выращивания, как у младшей, так и старшей возрастной группы стерляди, что говорит о хорошей обеспеченности исследуемых рыб пищей и благоприятных условиях выращивания.

Литература:

1. Kazun K., Andrzej K. Siwicki Propiscn – a safe new anaesthetic for fish / Pol. Fish. of Polish Fisheries, 2001. Vol.9. Fasc. 2. p. 183-190.
 2. Серпунин Г.Г., Савина Л.В. Методы гематологических исследований

рыб: методические указания для самостоятельной работы студентов высших учебных заведений по направлению 110900.68 – Водные биоресурсы и аквакультура. Калининград: Издательство КГТУ, 2005. 54 с.

3. Иванова Н.Т. Атлас клеток крови рыб. - М.: Легкая и пищ. пром-сть, 1983. 184 с.
 4. Серпунин Г.Г. Гематологические показатели адаптации рыб: дисс. д-ра биол. наук. Калининград: КГТУ, 2002. 482 с.
 5. Мильштейн В.В. Осетроводство. М.: Пищевая пром-сть, 1972. 129 с.
 6. Житенева Л.Д., Полтавцева Т.Г., Рудницкая О.А. Атлас нормальных и патологически измененных клеток крови рыб. Ростов н/ Д: Кн. изд-во, 1989. 112 с.
 7. Результаты разработки методов формирования маточных стад стерляди в условиях замкнутого водообеспечения / Е.Н. Пономарева, М.Н. Сорокина, В.А. Григорьев [и др.] // Вестник АГТУ. Сер.: Рыбное хозяйство, 2010. № 1. с. 86 – 90.
 8. Головина Н.А., Тромбицкий И.Д. Гематология прудовых рыб / Монография. Кишинев, 1989. 157 с.
 9. Валова В.Н., Хованский И.Е. Сравнительная характеристика физиологических показателей производителей амурских осетровых рыб из естественных популяций и управляемых систем // Вопросы рыболовства, 2009. Т. 10. № 3 (39). с. 575 – 589.
 10. Методы оценки гематологических характеристик // Физиология и биохимия гидробионтов. <http://bugayov.moy.su>

Sementina E.V., post-graduate, Serpunin G.G., Doctor of Science, professor, Head of Department of Aquaculture – FSBEI Kaliningrad State Technical University, e-mail: serpunin@klgtu.ru

Fish-breeding, biological, and hematological characteristics of maintenance-breeding stock of sterlet reared in a closed recirculating water system

The dynamics of fish-breeding, biological, and hematological indicators of maintenance-breeding multiple-age stock of sterlet cultivated in a closed recirculating water system is studied. Thermal and hydrochemical conditions for optimal cultivation are determined. Some features of different-age sterlet growth are ascertained. It is found out that the values of hematological indicators differ significantly in younger and older sterlet age-groups from the maintenance stock.

Keywords: sterlet, maintenance-breeding stock, closed recirculating water system, hydrochemical indicators, fish-breeding, hematology, cytometry

КНИЖНАЯ ПОЛКА



Вышла в свет книга Жигина А.В. «Замкнутые системы в аквакультуре», в которой изложены предпосылки создания, исто-рия развития и современное состояние мировой аквакультуры в замкнутых системах.

Изложены вопросы водоснабжения, качества воды, методы и аппараты для его поддержания в заданных параметрах, предотвращения аварийных ситуаций. Показано значение технологического освещения, режимов кормления и содержания гидробионтов, профилактики и лечения заболеваний.

Приведены частные особенности биотехники культивирования рыб и ракообразных в условиях УЗВ. Сформулированы основные направления интенсификации эксплуатации замкнутых систем путём осуществления полициклического выращивания, применения поликультуры, культивирования растений и утилизации осадка с использованием вермикультуры.

Рассмотрены основные технико-экономические аспекты создания и эксплуатации УЗВ.

Книга содержит 78 таблиц, 75 рисунков и 1593 библиографических ссылки. Объём – 664 с. (39 п.л.), тираж – 500 экз., стоимость 1 тыс. руб. без почтовых расходов.

Заявки направлять автору по адресу: azhigin@gmail.com, тел./факс (495) 771-38-01