

УДК 597.553.2.591.16

## СОСТОЯНИЕ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ У БЕЛОРЫБИЦЫ *STENODUS LEUCICHTHYS* (SALMONIFORMES, COREGONIDAE) ПРИ ЗАВЕРШЕНИИ ПОЛОВОГО ЦИКЛА В УСЛОВИЯХ РЫБОВОДНОГО ЗАВОДА

© 2007 г. В. П. Дюбин

Институт физиологии Санкт-Петербургского государственного университета

E-mail: I\_A\_Bar@vd6221.spb.edu

Поступила в редакцию 02.08.2006 г.

Антропогенное воздействие на экосистему Волго–Каспия и отсутствие необходимых условий для выдерживания белорыбицы *Stenodus leucichthys* на рыбноводном заводе негативно сказываются на состоянии репродуктивной системы рыб. В результате нормально созревают лишь единичные самки, а число особей с различной степенью резорбции икры в 2005 г. составило 18%. Применение гормональной стимуляции позволило добиться созревания практически всех самок и получить зрелые половые клетки высокого рыбноводного качества. Исследование не выявило значимых различий в репродуктивной системе производителей, заготовленных в зимний и весенний периоды нерестовой миграции. Травмы и заболевания самок оказывают негативное влияние на рыбноводные показатели (удельная рабочая плодовитость, оплодотворение икры, развитие эмбрионов). Завершение созревания гонад и спермация у 97% самцов происходили при снижении температуры воды спонтанно, причем 88% особей имели высокую фертильность.

Белорыбица *Stenodus leucichthys*, обитающая в Каспийском море, до зарегулирования стока Волги совершала нерестовые миграции большой протяженности, проводя в реке более года. Миграция белорыбицы в устье Волги начиналась в сентябре–октябре, при снижении температуры воды до 18–19°C, и продолжалась 6–7 мес. (Казанчев, 1963). По литературным данным (Гербильский, 1947), гонады у белорыбицы в начальный период речной миграции развиты слабо (II–III стадия зрелости). После 7–8-месячного пребывания рыб в реке их гонады достигали III–III–IV стадий зрелости, а завершался вителлогенез перед самым нерестом, который происходил при температуре воды 0.2–6.0°C. В настоящее время вид малочисленен, так как гидростроительство на Волге лишило белорыбицу естественных нерестилищ в реках Уфа и Белая, а размножение ее в нижнем бьефе приплотинной зоны Волгоградской ГЭС неэффективно (Васильченко, 2002). Для сохранения этого ценнейшего промыслового вида разработан заводской метод его воспроизводства, включающий длительное выдерживание производителей в специальных цехах, с охлаждением воды в летний период до 15°C. В 1960–1980-е годы созревание белорыбицы в заводских условиях проходило под влиянием экологических факторов (течение, температура), а попытки использовать инъекции гипофизов сазана для ускорения наступления овуляции оказались неэффективными (Летичевский, 1983). Современное состояние

экосистемы Волго–Каспия, подвергающейся значительному техногенному воздействию, негативно сказывается на состоянии репродуктивной системы рыб, в частности, осетровых (Акимова и др., 2005). В результате отсутствия в настоящее время всех необходимых условий для содержания белорыбицы в неволе спонтанно созревают, как правило, почти все самцы и лишь единичные самки. Для стимуляции завершения созревания и овуляции у остальных особей применяются инъекции гормональных препаратов (Дюбин, 2002).

Целью настоящей работы было сравнить состояние репродуктивной системы у белорыбицы, отловленной в дельте Волги в разные периоды нерестовой миграции (зима, весна) и выдерживаемой на рыбноводном заводе до получения зрелых половых клеток. Это необходимо для усовершенствования биотехники заводского воспроизводства белорыбицы путем разработки метода гормональной стимуляции созревания производителей.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работа выполнена на Александровском осетровом рыбноводном заводе (АОРЗ) Управления Севкаспрыбвод в 2005 г. Белорыбицу отлавливали в дельте Волги в период с 22 декабря 2004 г. по 21 января 2005 г. (77 экз.) и с 18 марта по 9 апреля 2005 г. (86 экз.). На завод рыб доставляли в индивидуальных полиэтиленовых пакетах с водой и кислородом. На АОРЗ производителей содержа-

**Таблица 1.** Выживаемость производителей белорыбицы *Stenodus leucichthys* разных сроков заготовки и их характеристики к моменту получения зрелых половых клеток

Показатели	Группы производителей	
	I	II
Период заготовки	21.12.2004–21.01.2005 гг.	18.03–09.04.2005 г.
Число рыб, экз.	77	86
Продолжительность выдерживания до сортировки (08.11.2005 г.), мес	10–11	7–8
Выживаемость, %	35.1	83.7
Самки : самцы, экз.	12 : 15	27 : 45
Длина тела до окончания чешуйного покрова, см:		
самки	87.7 ± 0.7 (12)	90.0 ± 0.5 (24)
самцы	85.0 ± 1.8 (8)	85.0 ± 0.8 (28)
Масса тела, кг:		
самки	8.1 ± 0.3 (12)	8.3 ± 0.2 (27)
самцы	5.8 ± 0.3 (8)	6.0 ± 0.1 (28)

Примечание. В скобках – число исследованных рыб.

ли в бассейнах объемом 90 м<sup>3</sup> (20 × 5 × 1 м) при частично замкнутом водоснабжении и охлаждении воды в летне-осенний период до 15–16°C.

При снижении температуры воды до 8.9°C (08.11.2005 г.) производителей рассортировали по полу. Стимуляцию созревания самок и получение икры провели в период 25.11–21.12.2005 г. при естественном снижении температуры воды с 6.2 до 3.9°C. В качестве гормонального препарата применяли суперактивный аналог гонадолиберина млекопитающих: des Gly<sup>10</sup>-[D-Ala<sup>6</sup>]-Pro<sup>9</sup>-NH-Et-ГнРГ (сурфагон), изготовленный НПО Биотехцентр (г. Москва), который вводили в объеме 0.2–1.0 мл в мышцы спины рыб. Для проверки возможности спонтанного созревания белорыбицы первоначально были оставлены интактными 2 из 39 самок, отобранных для проведения работ.

Для гистологического анализа состояния оболочек икринок материал фиксировали в жидкости Буэна. Срезы толщиной 5 мкм окрашивали методом азан по Гейденгайну (Роскин, Левинсон, 1957).

Все материалы обработаны статистически с использованием принятых в биологии методов (Урбах, 1963) и пакета прикладных программ Microsoft Office Excel.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Раздельное содержание производителей белорыбицы, заготовленных зимой в пик нерестовой миграции в дельту Волги (группа I) и весной при ее завершении (группа II), позволило провести сравнительный анализ состояния и рыбоводных характеристик производителей этих групп в мо-

мент получения зрелых половых клеток. По размерно-весовым показателям статистически значимых различий между исследуемыми группами рыб не выявлено (табл. 1). Более высокая смертность наблюдалась среди производителей, заготовленных в зимний период. Наибольшая гибель белорыбицы при зимней заготовке отмечена в течение первых 75 сут после доставки рыб на АОРЗ, при весенней заготовке – в течение первых 16 сут. В дальнейшем, в период выдерживания с мая по ноябрь, число погибших рыб в исследуемых группах было незначительно – соответственно 1.3 и 3.5%. Среди выживших к осени производителей преобладали самцы при соотношении полов в группах I и II соответственно 1 : 1.25 и 1 : 1.67.

Спонтанного созревания 2 интактных самок не произошло вплоть до снижения температуры воды до 4.1°C (16.12.2005 г.); после введения сурфагона эти особи созрели через 3 и 5 сут. Для гормональной стимуляции созревания самок применяли градуальные инъекции сурфагона, начиная с дозы 80 мкг/особь (9.6–12.2 мкг/кг). Через 2–4 сут несозревшим самкам повторно вводили по 160 мкг/особь сурфагона, увеличивая суммарную дозу препарата до 24.0–32.9 мкг/кг. При отсутствии овуляции через 4 сут после 2-й инъекции рыбам дополнительно вводили по 200 мкг/особь, в результате чего суммарная доза вводимого препарата составила для этих особей 46.1–73.3 мкг/кг. В период проведения работ одна самка погибла от сапролегниоза, а от всех остальных инъецированных рыб была получена икра (табл. 2). Причем после 1-й инъекции созрели 7 самок, после 2-й – 17, после 3-й – 14. Продолжительность созревания

**Таблица 2.** Рыбоводные показатели самок белорыбицы *Stenodus leucichthys* разных сроков заготовки

Показатели	Группы самок	
	I (n = 12)	II (n = 26*)
Число самок, экз.:		
– доброкачественная икра, в т.ч.:		
– частичная резорбция	12	25
– тотальная резорбция	5	1
– тотальная резорбция	0	1
Коэффициент зрелости, %	23.8 ± 1.2	21.6 ± 0.5
Рабочая плодовитость, тыс. шт.	204.1 ± 12.5	190.8 ± 6.5
Удельная рабочая плодовитость, тыс. шт./кг	25.51 ± 1.08	23.04 ± 0.63
Масса 1 икринки, мг	8.95 ± 0.19	8.85 ± 0.17
Оплодотворение, %	95.5 ± 0.9	91.6 ± 2.4
Число оплодотворенных икринок на 1 кг массы тела самки, тыс. шт./кг	23.74 ± 1.14	21.24 ± 0.85
Нормальное развитие эмбрионов на этапе органогенеза, %	93.8 ± 1.1	91.1 ± 1.9

Примечание. \* – показатели рассчитаны без учета самки с тотальной резорбцией икры.

самок (от момента введения 1-й дозы сурфагона) варьировала от 3 до 11 сут. Статистически значимых различий по продолжительности созревания самок, различающихся временем заготовки и длительностью выдерживания, не выявлено. Рыбоводные характеристики самок исследуемых групп приведены в табл. 2. Ни по одному из анализируемых показателей достоверных различий между сравниваемыми группами особей не установлено. Ранее Летичевский (1983) также не выявил различий между одноразмерными самками белорыбицы, заготовленными во время весенней и осенней нерестовых миграций по таким показателям, как плодовитость и диаметр овулировавших икринок.

Проведение осенней сортировки белорыбицы по полу и последующий регулярный контроль созревания производителей сопровождался быстрым ухудшением состояния рыб. От 25 до 44% самок обеих групп имели на момент получения икры катаракту одного или двух глаз и сапролегниоз жабр. У 42–48% самок выявлены значительные потертости и покраснения покровов тела и плавников, приводящие к их некрозу. В целом, число больных и травмированных особей в группах зимней (I) и весенней (II) заготовки составило на момент получения икры соответственно 75 и 82%. Ранее (Дюбин, 2002) было установлено, что такие самки не созревают спонтанно во всем диапазоне нерестовой температуры и погибают. Овуляцию икры у больных и травмированных особей удавалось получить только благодаря своевременному применению гормональной стимуляции.

Чтобы не допустить потери для воспроизводства малочисленных производителей, гормональную стимуляцию созревания больных и травми-

рованных самок групп I и II начали при достижении температуры воды 6.2°C – верхней границы нерестового диапазона (25.11.2005 г.). Самки с повреждениями покровов тела, глаз (катаракта) и жабр (сапролегниоз) имели более низкие рыбоводные показатели по сравнению со здоровыми особями (табл. 3). Продолжительность созревания этих самок была в среднем на 16% больше, чем особей без травм. Количество заложенных на инкубацию оплодотворенных икринок (в расчете на 1 кг массы тела самок) оказалось на 27% выше у здоровых особей, по сравнению с больными и травмированными рыбами. В целом отмечено снижение показателей оплодотворения икры и нормального развития эмбрионов по мере увеличения продолжительности созревания инъекцированных самок, о чем свидетельствуют коэффициенты корреляции между этими величинами (соответственно  $r = -0.389$ ,  $p < 0.05$  и  $r = -0.452$ ,  $p < 0.01$ ). Данное явление, вероятно, отражает наличие нарушений в репродуктивной системе особей при задержке созревания, поскольку выявлена достоверная отрицательная корреляция между продолжительностью созревания самок и их удельной рабочей плодовитостью ( $r = -0.516$ ,  $p < 0.01$ ). Не исключено, что часть икры у этих особей находилась на разных стадиях резорбции, но подтвердить это удавалось не всегда, ввиду отсутствия возможности вскрывать рыб после отцеживания икры. Суммарная доза введенного сурфагона достоверно не влияла на величину оплодотворения икры ( $r = -0.290$ ), но имела достоверную отрицательную связь с показателем нормального развития эмбрионов на этапе органогенеза ( $r = -0.457$ ,  $p < 0.01$ ).

Масса 1 икринки у всех созревших после гормональной стимуляции самок ( $n = 37$ ) варьирова-

**Таблица 3.** Показатели самок белорыбицы *Stenodus leucichthys* разного состояния, созревших после гормональной стимуляции

Показатели	Состояние самок	
	нормальные <i>n</i> = 8	травмированные <i>n</i> = 30 <sup>1</sup>
Число самок, экз.:		
– доброкачественная икра, в т.ч.:		
– частичная резорбция	8	29
– тотальная резорбция	1	5
Продолжительность созревания, ч	0	1
Рабочая плодовитость, тыс. шт.	126.0 ± 15.1	146.4 ± 6.5
Удельная рабочая плодовитость, тыс. шт./кг	217.7 ± 15.1	188.9 ± 6.0
Масса 1 икринки, мг	26.95 ± 1.50	22.44 ± 0.75*
Оплодотворение, %	8.94 ± 0.34	8.87 ± 0.14
Число оплодотворенных икринок на 1 кг массы тела самки, тыс. шт.	97.2 ± 0.6	91.7 ± 2.1*
Нормальное развитие эмбрионов на этапе органогенеза, %	26.02 ± 1.32	20.44 ± 0.85**
	95.9 ± 0.6	90.9 ± 1.6**

Примечание. <sup>1</sup> – показатели рассчитаны без учета самки с тотальной резорбцией икры; различия между выборками достоверны при: \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.01$ .

ла в пределах 7.46–10.53 (в среднем  $8.88 \pm 0.13$ ) мг. Оплодотворяемость икры не зависела от массы икринок, о чем свидетельствует низкое значение коэффициента корреляции между этими показателями ( $r = +0.039$ ). По данным Летичевского (1983), при спонтанном созревании белорыбицы в неволе под влиянием только экологических факторов масса овулировавших икринок составляла 8.47–8.70 мг, что практически совпадает со значениями данного показателя у инъецированных самок в наших опытах.

Причиной относительно невысоких показателей оплодотворения икры у отдельных самок белорыбицы (43–78%,  $n = 6$ ), имевших сравнительно крупную овулировавшую икру (7.94–9.35 мг), явились дефекты в строении ее оболочек. Гистологический анализ икринок этих самок выявил истончение и разрушение участков их оболочек. Сходные аномалии в строении оболочек зрелых неоплодотворенных яйцеклеток выявлены у осетровых (сем. Acipenseridae) Волго-Каспийского бассейна, что объясняется следствием воздействия на рыб техногенных факторов среды (Акимов и др., 2005). При получении икры белорыбицы у одной самки выявлена тотальная ее резорбция, еще у 6 особей обнаружена частичная резорбция икры, т.е. данное нарушение репродуктивной функции присутствовало у 18% самок.

Гормональной стимуляции созревания выдерживаемых самцов белорыбицы, как правило, не требуется, т.к. при снижении температуры воды до нерестовой они почти все созревают спонтанно. Различий между исследованными особями зимней (15 экз.) и весенней (42 экз.) заготовок не выявля-

но. Среди 57 исследованных самцов лишь 2 (3.5%) оказались незрелыми. У 50 особей (87.7%) наблюдалась хорошая спермиация, что позволяло осеменить спермой от каждого самца от 5 до 8 порций икры. Фертильность 5 самцов (8.8%) была невысокой. Для получения необходимого количества спермы для осеменения икры самок, созревающих после гормональной стимуляции у верхнего порога нерестовой температуры, проведена гормональная стимуляция 11 самцов. С этой целью им однократно вводили по 80 мкг/особь (13–17 мкг/кг) сурфагона за 3 сут до предполагаемого времени созревания самок. Кроме того, ранее (Dyubin, 1999) при выдерживании белорыбицы после отлова в садках в приплотинной зоне Волгоградской ГЭС было установлено, что гормональная стимуляция повышает фертильность находящихся в угнетенном состоянии самцов. Спермиация однократно инъецированных самцов продолжается обычно до 2 недель, что позволяет получить от них 2–3 раза зрелые половые клетки высокого рыбоводного качества.

Сравнение продолжительности поступательного движения сперматозоидов, полученных от самцов после гормональной стимуляции созревания и от интактных особей, не выявило достоверных различий между этими группами. После активации водой сперматозоиды белорыбицы при 5.8–4.1°C сохраняли поступательное движение в среднем  $60.9 \pm 2.6$  с ( $n = 16$ ), с вариациями у разных особей от 43 до 86 с.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование не выявило различий по состоянию репродуктивной функции у производителей белорыбицы, заготовленных в зимний и весенний периоды нерестовой миграции, завершение полового цикла которых происходило в бассейнах рыбоводного завода в дельте Волги. Наличие травм и заболеваний у самок в преднерестовый период оказывает негативное влияние на их рыбоводные показатели. При отсутствии в настоящее время всех необходимых условий для длительного (7–11 мес) выдерживания производителей (водоподготовка, организация оптимального гидродинамического режима в бассейнах) спонтанного созревания самок не произошло, при значительном ухудшении состояния большинства особей в результате регулярных проверок. Градуальная гормональная стимуляция сурфагоном вызывает завершение созревания и овуляцию икры практически у всех рыб. В результате выполненной работы было заложено на инкубацию 6.75 млн. оплодотворенных икринок белорыбицы, из которой получено около 5 млн. личинок, переведенных на выращивание в пруды.

Гонадолиберин, синтетическим аналогом которого является сурфагон, увеличивает синтез и секрецию гонадотропных гормонов гипофиза, оказывающих стимулирующее действие на гонады. У некоторых рыб, в частности, у карповых (Cyprinidae), в регуляции репродуктивной функции важная роль принадлежит также гонадотропин рилиз-ингибирующему фактору (ГРИФ). В этом случае стимулирующий эффект от введения препаратов гонадолиберина проявляется только при комбинированном введении блокаторов дофамина, таких как пимозид и домперидон (Баранникова, Дюбин, 1992). Высокая эффективность инъекций одного сурфагона на созревание белорыбицы свидетельствует о незначительной роли ГРИФ в регуляции репродуктивной функции у этого вида и, вероятно, у других сиговых, как это установлено для лососевых (Salmonidae) и осетровых (Баранникова и др., 1991, 2005).

Получение с помощью гормональной стимуляции созревания зрелых половых клеток высокого рыбоводного качества от производителей белорыбицы, выдерживаемых на рыбоводных заводах, позволяет в современных условиях эффективно осуществлять ее воспроизводство. Этот ценнейший промысловый вид может стать важным объектом пастбищной марикультуры, учитывая сравнительно высокую скорость роста бе-

лорыбицы в природных условиях и хорошо развитый хоминг.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Автор выражает искреннюю признательность Л.Ф. Рудометкину за помощь при проведении работы с производителями на АОРЗ, О.Г. Мочарук за гистологическую обработку материала и С.В. Аршавской за помощь в подготовке рукописи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Акимова Н.В., Шагаева В.Г., Рубан Г.И., Горюнова В.Б. 2005. Морфологическое исследование зрелых яйцеклеток осетровых (Acipenseridae) из низовьев Волги // *Вопр. ихтиологии*. Т. 45. № 5. С. 665–679.
- Баранникова И.А., Баюнова Л.В., Колмаков Н.Н., Семенкова Т.Б. 2005. Динамика стероидных гормонов в крови при гормональной стимуляции созревания у северодвинской стерляди *Acipenser ruthenus* // *Вопр. ихтиологии*. Т. 45. № 1. С. 131–138.
- Баранникова И.А., Буковская О.С., Боев А.А., Дюбин В.П. 1991. Гормональная регуляция репродуктивной функции рыб (теоретические и практические аспекты) // *Эндокринология репродукции*. В.Г. Шаляпин (ред.). СПб.: Наука. С. 147–190.
- Баранникова И.А., Дюбин В.П. 1992. Становление регуляции гонадотропной функции гипофиза в эволюции позвоночных // *Онтогенез*. Т. 23. № 3. С. 260–267.
- Васильченко О.Н. 2002. Биологические основы повышения эффективности воспроизводства белорыбицы в низовьях Волги. Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 114 с.
- Гербицкий Н.Л. 1947. Гонадотропная функция гипофиза у костистых и осетровых // *Тр. Лаб. основ рыб-водства*. Т. 1. С. 24–95.
- Дюбин В.П. 2002. Заводское воспроизводство белорыбицы в современных условиях // *Мат-лы междунар. конф., посвящ. 105-летию Касп. НИИ рыб. хоз-ва. Современные проблемы Каспия*. М.И. Карпюк (ред.). Астрахань: Изд-во КаспНИРХ. С. 100–104.
- Казанчев Е.Н. 1963. Рыбы Каспийского моря. М.: Рыб. хоз-во, 180 с.
- Летичевский М.А. 1983. Воспроизводство белорыбицы. М.: Лег. пром-сть, 112 с.
- Роскин Г.И., Левинсон Л.Б. 1957. Микроскопическая техника. М.: Сов. наука, 468 с.
- Урбах В.Ю. 1963. Математическая статистика для биологов и медиков. М.: Изд-во АН СССР, 323 с.
- Dyubin V.P. 1999. Induced maturation in Caspian inconnu, *Stenodus leucichthys* (Guld.), Salmoniformes // *Abstr. VI Int. symp. reproduct. physiol. fish*. Bergen, Norway. P. 153.