

# Апробация экспресс-методов оценки качества икры у радужной форели

Шиндавина Н.И.<sup>1</sup>, Моисеева Е.В.<sup>2</sup>, Никандров В.Я.<sup>1</sup>, Янковская В.А.<sup>2</sup> – <sup>1</sup> ФГУП Федеральный селекционно-генетический центр рыбоводства, [shindavina@mail.ru](mailto:shindavina@mail.ru); <sup>2</sup> ФГУП Племенной форелеводческий завод «Адлер», [elenavkn@mail.ru](mailto:elenavkn@mail.ru)

В статье приведены результаты апробации двух экспресс-методов оценки качества икры, предложенных зарубежными учеными: по относительному увеличению массы икринок при набухании в воде и по характеру распределения жировых капелек на поверхности желтка у овулировавших икринок. В каждом эксперименте исследовали икру, полученную от отдельных самок разного возраста и разных пород, содержащихся на Адлерском племзаводе. В нашей работе не было обнаружено положительной взаимосвязи между степенью набухания икры и ее качеством. Мы предположили, что на структуру оболочки икры и, соответственно, характер набухания могли влиять внешняя среда или биотехника выращивания. При оценке качества икры, связанной с картированием жировых капелек, были получены противоречивые результаты, не совпадающие с данными авторов метода.

**Ключевые слова:** радужная форель, качество яйцеклеток, набухание икры, жировые капли

Качество икры является важной племенной характеристикой самок, а также исходной характеристикой потомства. В последние годы появился ряд работ зарубежных авторов, посвященных тестированию качества икры на ранних сроках развития потомства с помощью быстрых и доступных методик. Одним из методов экспресс-анализа является оценка икры по относительному увеличению ее массы при набухании в воде [6,7]. Исследования, проведенные в Австрии на озерной и радужной форели, показали, что увеличение относительной массы икринок во время поглощения воды при набухании положительно коррелировало с выживаемостью эмбрионов на стадии пигментации глаз. Другой метод, предложенный польскими учеными, состоит в визуальной оценке овулировавших икринок по характеру распределения жировых капелек на поверхности желтка. При изучении кумжи, арктического гольца и радужной форели было выявлено, что икра отдельных самок, различающаяся по проценту развивающихся зародышей на стадии «глазка», имела отличия и по расположению жировых капелек на желточной оболочке [5,9].

Мы провели апробацию этих методов на радужной форели разных пород, выращиваемых на племзаводе «Адлер».

## Результаты оценки икры по относительному увеличению ее массы при набухании в воде

Методика проведения работ заключалась в следующем. Порцию отцеженной икры делили на две части. Одну из них осеменяли с оплодотворяющим раствором и инкубировали до стадии пигментации глаз. Вторую порцию неоплодотворенной икры взвешивали и помещали в воду для определения степени набухания. Через 120 мин., когда процесс набухания был завершен, неоплодотворенную икру снова взвешивали и определяли относительное увеличение ее массы. Полученные данные сравнивали с выживаемостью эмбрионов на стадии пигментации глаз.

Апробацию предложенного метода мы провели на племенном форелеводческом заводе «Адлер» в нерестовый сезон 2009-2010 гг. Форель выращивали в условиях естественного фотопериода, используя артезианскую воду. Сезонные изменения температуры воды в выростных сооружениях составляли от 8 до 17°С, в инкубационных аппаратах от 8 до 15°С. Для эксперимента мы использовали самок трех пород, которые созревали в разное время нерестового сезона. Также провели проверку рыб разного возраста для того, чтобы оценить характер набухания икры в зависимости от массы икринок и кратности нереста самок, которые меняются с возрастом.

Оценку форели Камлоопс проводили в октябре и начале ноября, форели Адлер – в ноябре, а Стальноголового лосося – в феврале. В каждом варианте опыта, самок, созревших в один день, отбирали рандомно в количестве 15-34 экземпляра. Из отцеженной икры брали две порции икринок по 250-300 шт.: одну, для определения степени набухания, помещали в воду, другую – оставляли для последующего осеменения. Сперму от каждого самца отцеживали в отдельные пробирки. Отбраковывали пробы с визуальной непригодной спермой (малый объем эякулята, жидкая сперма, а также с кровью). Свежеприготовленной сме-



сью спермы (от 10-15 самцов) осеменяли все порции опытной икры с применением оплодотворяющего раствора. В качестве критерия оценки икры, по аналогии с авторами методики, использовали выживаемость эмбрионов на стадии пигментации глаз, которую измеряли отношением количества выживших зародышей к числу оплодотворенных икринок (%).

Результаты представлены в таблице 1. Все исследованные самки достоверно различались по массе овулировавших икринок. Этот показатель увеличивался с возрастом рыб, зависел от породной принадлежности, а также варьировал в значительных пределах внутри каждой выборки. При этом масса яйцеклеток не была связана с выживаемостью эмбрионов.

В зависимости от срока проведения оценки, температура воды в инкубационных аппаратах менялась от 9 до 15°С.

Степень набухания икры у всех рыб составляла в среднем 12,0%. В разных вариантах опыта этот показатель менялся от 9,3% до 15,9%. В пределах каждой выборки было выявлено еще большее разнообразие: максимальные значения превышали минимальные в 2,5-7 раз, а в одном случае в – 10,4 раза

(двухгодовики форели Камлоопс).

Качество икры было высоким: почти во всех случаях выживаемость эмбрионов была в среднем выше 90%. Относительно низкие показатели наблюдали лишь у двухгодовиков форели Камлоопс. При этом можно отметить существенное разнообразие значений внутри отдельных выборок.

Степень набухания была наименьшей (9,3%) у двухгодовалых самок форели Камлоопс, отличавшихся самым низким качеством икры (76%), и наибольшей (15,9%) – у двухгодовиков форели Адлер с высокой выживаемостью эмбрионов (96%). Однако такая взаимосвязь, по-видимому, была случайной. Корреляции, полученные между степенью набухания и качеством икринок внутри выборок в двух вариантах опыта, носили отрицательный характер. Кроме того, в других трех вариантах степень набухания икры отрицательно коррелировала с массой икринок.

Полученные нами данные не совпадали с результатами исследования авторов предложенного метода.

В работе австрийских ученых у озерной форели масса икринки при набухании возрастала в среднем на 25,6%. Корреляция между этим показателем и выживаемостью эмбрионов составляла  $r=0,58$ . При оценке радужной форели из 25 вариантов отобрали шесть проб с выживаемостью эмбрионов ниже 25% и шесть проб, у которых жизнеспособность зародышей была выше 75%. Икра высокого качества имела достоверно больший уровень поглощения воды ( $12,1 \pm 2,1\%$ ) по сравнению с икрой низкого качества ( $3,4 \pm 1,7\%$ ). В среднем этот показатель составлял 10,2%.

Можно предположить, что противоречивость результатов оценки, полученных в опытах австрийских ученых и в наших экспериментах, могла быть обусловлена несходством внешних факторов, сопутствующих проведению исследований. Прежде всего, следует отметить существенные различия в температуре воды и, возможно,

Таблица 1. Степень набухания и качество икры у самок разных пород радужной форели

Порода, возраст (год)	Температура воды при набухании, °C	Средняя масса овулировавших икринок, мг	Степень набухания икры, %	Выживаемость эмбрионов %	Корреляции
		1	2	3	
Камлоопс (2), n=31	15	42,5±1,11* 26,7-55,6	9,3±0,70 1,5-15,6	76±4,2 10-99	R <sub>1-2</sub> = -0,56 (p=0,01)
Камлоопс (3), n=28	13	61,8±1,74 51,0-82,0	15,1±1,23 6,9-34,7	83±5,5 2-100	
Камлоопс (4), n=33	15	80,0±1,88 61,0-104,2	12,8±2,58 8,6-20,3	94±1,1 72-100	
Адлер (2), n=18	12,5	49,1±1,25 35,2-57,5	15,9±0,97 8,6-24,2	96±1,2 80-100	R <sub>2-3</sub> = -0,52 (p=0,05)
Адлер (3), n=34	13	79,5±1,69 64,9-104,2	11,4±0,83 4,0-23,6	90±1,9 41-100	R <sub>2-3</sub> = -0,43 (p=0,05)
Ст. лосось (2), n=17	9	58,1±1,59 44,9-69,3	11,3±0,90 4,9-21,8	97±0,5 93-100	R <sub>1-2</sub> = -0,58 (p=0,05)
Ст. лосось (3), n=33	9	85,3±1,59 70,5-110,7	13,0±0,70 3,0-21,1	92±1,5 60-100	R <sub>1-2</sub> = -0,47 (p=0,01)

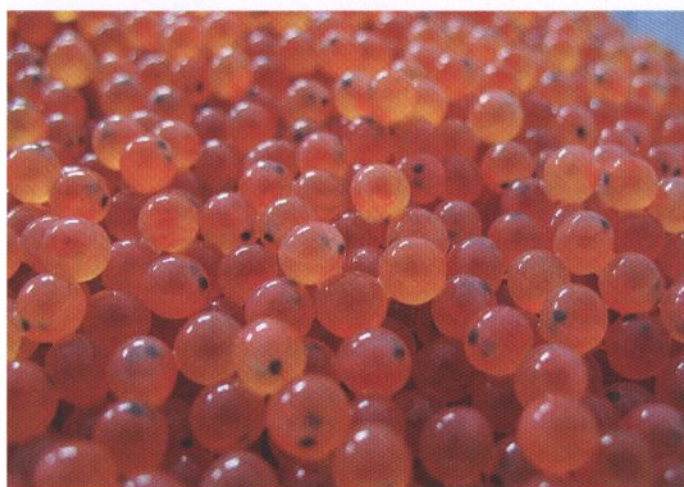
\*Здесь и дальше: над чертой – M ± m, под чертой – min-max

в условиях выращивания. Авторы метода проводили исследования на одном из хозяйств Австрии, где рыб содержали в естественном световом режиме и стабильной температуре грунтовой воды 5-6° C, масса тела самок в возрасте 3+ была в среднем 820 г. Набухание икринок происходило при 5-6° C и рН воды 7,8 [6]. На Адлерском племзаводе самки такого же возраста, выращенные в условиях более высоких температур, имели среднюю массу тела около 2000 г. Икра набухала при температурах от 9 до 15° и рН– 8,2-8,6.

Известно, что условия выращивания рыб могут оказывать влияние на формирование микроструктуры оболочки икры. Так, например, в исследованиях, проведенных на карпе, испытывали два рациона кормления производителей: белковый, с преобладанием в корме кислых элементов, и углеводный, где преобладали щелочные элементы. Белковый рацион ускорял созревание самок, при этом оболочка икринок была на 18,2 % толще, а ее прочность в 2,3 раза больше [1]. В другой работе неблагоприятные условия зимовки сазана в прудах привели к тому, что у одноразмерных икринок толщина оболочки оказалась меньше, чем у икринок из естественных водоемов. Размер перивителлинового пространства и масса икринок у первых оказался немного больше, чем у вторых [4].

Изменения в структуре оболочки икры лососевых рыб во время набухания были исследованы еще в середине прошлого столетия [2,3]. Поглощение воды из окружающей среды осмотически активными веществами, выделяемыми яйцеклеткой в перивителлиновое пространство, началось сразу после активации икринок. В это время наблюдали ослабление прочности оболочки. Начавшееся увеличение прочности оболочек препятствовало дальнейшему поступлению воды и, в конечном итоге, определяло размеры перивителлинового пространства. Таким образом, оболочке икры принадлежит активная роль в характере набухания икринок.

Авторы предложенного метода рассмотрели физиологическую основу оценки качества икры по относительному увеличению ее массы во время набухания. При активации яйцеклеток из кортикальных пузырьков, расположенных в кортикальном слое оболочки, в перивителлиновое пространство высвобождаются осмолиты, которые обеспечивают осмотическое поступление воды из внешней среды. Ограничение размеров перивителлинового пространства происходит за счет установления подвижного равновесия между силой всасывания воды и свойствами самой оболочки. Была выдвинута гипотеза о том, что, снижение уровня



поглощения воды могло быть связано либо с нарушениями в процессе выделения осмолитов из пузырьков, либо с изменением структуры кортикальных пузырьков, из которых происходят осмолиты [7].

По-видимому, следует придавать значение также химическому составу воды, с которой вступает в контакт икра при набухании. Оболочки яиц лососевых рыб легко проницаемы для воды, солей и высокодисперсных коллоидов и непроницаемы для низкодисперсных коллоидов [2]. Эти вещества и соединения могут оказывать влияние на осмотические процессы, происходящие в икре во время набухания.

Таким образом, учитывая противоречивость полученных результатов, которые, возможно, зависели от условий внешней среды и/или биотехники выращивания, мы не считаем целесообразным рекомендовать предложенную методику для широкого применения. В нашем эксперименте характер набухания икры был связан с ее качеством лишь в двух вариантах из семи. Кроме того, в некоторых случаях обращает на себя внимание не соответствие высокого уровня разнообразия по степени набухания и относительно стабильных показателей качества потомства (например, у двухгодовалых стальноголового лосося), что также ставит под сомнение возможность применения в наших условиях этого метода для индивидуальной оценки самок по качеству потомства.

Таблица 2. Показатели икры самок форели Камлоопс

Категория икры по распределению жировых пятен	Осеменение с водой		Осеменение с раствором	
	Оплодотворяемость икры, %	Выход личинок, %	Оплодотворяемость икры, %	Выход личинок, %
I (n=3)	60±27,7 5-89	52±25,3 2-84	80±17,7 45-99	63±23,1 18-95
II (n=7)	36±9,9 3-79	29±8,7 0-67	89±3,6 72-99	75±6,1 46-89
III (n=8)	26±6,5 1-53	21±5,6 0-41	83±5,4 54-99	63±10,2 6-98



**Оценка овулировавших икринок по распределению жировых капель на поверхности желтка**

Суть метода, предложенного польскими учеными, состоит в визуальной оценке овулировавших икринок по характеру распределения жировых капель на поверхности желточной оболочки.

Исследования, проведенные на кумже, показали, что икра отдельных самок, различающаяся по проценту развивающихся зародышей на стадии «глазка», имела отличия и по характеру распределения жировых капель на поверхности желтка. Авторами было выделено четыре категории икры. Равномерный характер расположения капель по всей поверхности свидетельствовал о хорошем качестве яйцеклеток. Укрупнение жировых пузырьков и скопление их на отдельных участках было связано с достоверным снижением количества развивающихся зародышей [9]. У арктического гольца, который по сравнению с кумжей отличался большим разнообразием по качеству икры, разделение на категории по характеру распределения жировых капель было похожим, но имело свои особенности [8]. Позже была проведена оценка радужной форели двух пород: с осенним и весенним нерестом. По распределению жировых капель было выделено три категории. В I категории жировые капли распределялись равномерно; во II – некоторые капли сгущались и становились более крупными; в III – капли были большими и концентрировались на одном полюсе. При осеннем нересте распределение жировых капель было достоверно связано с уровнем выживаемости потомства, а у рыб весеннего нереста взаимосвязь отсутствовала [5].

В начале наших работ мы провели оценку форели Камлоопс. У самок были выявлены различия, как по расположению жировых пятен, так и по качеству потомства (табл. 2). При осеменении икры с водой средние значения оплодотворяемости икры и выхода личинок были самыми высокими в первой категории, а самыми низкими – в третьей, т.е. распределялись в соответствии с характеристикой категорий, данной авторами методики. Однако эти различия не достигали достоверного уровня даже между первой и третьей категориями, где они были наибольшими. Внутри каждой категории было выявлено большое разнообразие показателей качества икры. При использовании буферного раствора оплодотворяемость икры и выход личинки возрастали. Однако по-прежнему не было выявлено достоверных различий между группами, кроме того, средние показатели качества икры, отнесенные к разным категориям, противоречили характеристикам этих категорий.

Похожие результаты были получены и при проверке Стальноголового лосося. Проведение дальнейших исследований мы сочли нецелесообразными. На наш взгляд, предложенный метод имеет ряд существенных недостатков. Во-первых, морфологическая оценка икры в значительной степени субъективна. Разделение ее на разные категории, особенно на первые две, носило довольно условный характер, что иногда вызывало разногласия у разных наблюдателей. Кроме того, в некоторых

пробах икры, взятых от одной самки, отдельные икринки можно было отнести к разным категориям. Во-вторых, в пределах отдельных категорий наблюдали большие различия в показателях качества икринок, полученных от разных самок, что исключало возможность проведения индивидуальной оценки самок с использованием этой методики.

Следует отметить, что авторы метода, учитывая разнотичность в распределении жировых капель у разных видов лососевых, а также несогласованность результатов, полученных на двух породах форели, рекомендовали с осторожностью подходить к применению этого способа оценки.

Методы ранней диагностики качества овулировавшей икры представляют большой интерес для рыбодоводов и селекционеров. Предложенные австрийскими и польскими учеными способы оценки достаточно просты и не требуют сложной инструментальной базы, но их широкое распространение вызывает большие сомнения. Метод «набухания икры» может быть применен в случае соблюдения некоторых стандартных условий, что возможно лишь в пределах одного хозяйства. Визуальная оценка икринок по количеству и расположению жировых капель очень субъективна и может быть использована конкретной группой исследователей, работающих совместно на протяжении ряда лет, благодаря чему устраняются разногласия в способах картирования жировых капель. Оценив применение этих методов, мы пришли к выводу о необходимости поиска других методик, позволяющих дать объективную оценку качества икры в ходе проведения нерестовой кампании.

**Литература:**

1. Воробьева Э.И., Рубцов В.В., Марков К.П.. Влияние внешних факторов на микроструктуру оболочек икры рыб: Атлас микрофотографий, полученных при помощи электронного сканирующего микроскопа. 1986. М.: Наука, 108 с.
2. Зотин А.И. Механизм образования перивителлинового пространства у яиц лососевых рыб // ДАН. 1954. Т. ХСVI. № 2. С. 421–424.
3. Зотин А.И. Фермент затвердевания оболочек у яиц лососевых рыб // ДАН. 1958. Т. 121. № 6. С. 1105–1108.
4. Рубцов В.В. Зависимость некоторых морфофизиологических показателей икринок сазана *Cyprinus carpio* L. от изменения микроструктуры яйцевых оболочек // Вопр. иктиологии. 1981. Т. 21. Вып. 5. С. 844–852.
5. Ciereszko A., Wojtczak M., Dietrich G.J., Kuźmiński H., Dobosz S. A lack of consistent relationship between distribution of lipid droplets and egg quality in hatchery-raised rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* // Aquaculture. 2009. V. 289. P. 150–153.
6. Lahnsteiner F., Patzner R.A. Rainbow trout egg quality determination by the relative weight increase during hardening: a practical standardization // J. Appl. Ichthyol. 2002. V. 18. P. 24–26.
7. Lahnsteiner F., Weismann T. and Patzner R.A. Physiological and biochemical parameters for egg quality determination in lake trout, *Salmo trutta lacustris* // Fish Physiol. Biochem. 1999. V. 20. P. 375–388.
8. Mansour N., Lahnsteiner F., McNiven M.A., Richardson G.F. Morphological characterization of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, eggs subjected to rapid postovulatory aging at 7°C // Aquaculture. 2008. V. 279. P. 204–208.
9. Mansour N., Lahnsteiner F., Patzner R.A. Distribution of lipid droplets is an indicator for egg quality in brown trout, *Salmo trutta fario* // Aquaculture. 2007. V. 273. P. 744–747.

**N.I. Shindavina<sup>1\*</sup>, E.V. Moiseeva<sup>2\*\*</sup>, V.Y. Nikandrov<sup>1</sup>, V.A. Yankovskaya<sup>2</sup>** – <sup>1</sup>Federal Center for Fish Genetics and Selection, Strel'ninskoe Shosse 4, Ropsha, Lomonosovskii Region, 188514 Russia  
<sup>\*</sup> E-mail shindavina@mail.ru; <sup>2</sup>Trout Hatchery «Adler», Kazachii Brod, Sochi-A, Krasnodarskii Krai, 354590 Russia <sup>\*\*</sup> E-mail elenavkn@mail.ru

**Testing of express methods of evaluation of rainbow trout egg quality**

This work shows results of approbation of two methods for evaluation of egg quality suggested by foreign scientists: on relative increase of egg weight during hardening in water, and patterns of lipid droplets distribution on the surface of yolk. Eggs from individual females of different age and strains were tested at the Adler hatchery. No positive correlations were found between the rate of water uptake and quality of eggs. It was suggested that environmental conditions and/or rearing methods could influence the structure of the chorion and accordingly the hardening traits. While assessing quality according to lipid droplets distribution, controversial results were received which do not correspond with data reports by the creators of the suggested method.

**Keywords:** Rainbow trout, Egg quality, Egg hardening, Lipid droplets.