

*На правах рукописи*



**АСТАФЬЕВА СВЕТЛАНА СЕРГЕЕВНА**

**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ  
ГОНАДОГЕНЕЗА БЕСТЕРА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ РЕЖИМАХ  
ВЫРАЩИВАНИЯ**

Специальность 06.04.01 - Рыбное хозяйство и аквакультура

**17 НОЯ 2011**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук



Астрахань - 2011

Работа выполнена на кафедре зооинженерии и морфологии животных Астраханского государственного университета и в Научно-производственном центре по осетроводству «БИОС»

Научный руководитель	доктор биологических наук, доцент Лозовский Александр Робертович
Официальные оппоненты	доктор биологических наук, профессор Насибулина Батагоз Мурасовна
	доктор биологических наук, профессор Фельдман Бронислав Владимирович
Ведущая организация	Федеральное государственное унитарное предприятие «Всероссийский научный исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГУП ВНИРО)

Защита состоится «30» ноября 2011 года в 14<sup>00</sup> часов на заседании диссертационного совета Д 212.009.13 при Астраханском государственном университете по адресу: 414000, Астрахань, пл. Шаумяна, 1

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного университета по адресу: 414000, г. Астрахань, пл. Шаумяна, 1. С авторефератом можно ознакомиться на сайте ВАК: <http://vak.ed.gov.ru/ru/>

Автореферат разослан «\_\_\_\_\_» октября 2011 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат биологических наук

 А.С. Дулина

## **ВВЕДЕНИЕ**

**Актуальность темы исследования.** Аквакультура осетровых рыб в современном мире является главным источником производства пищевой продукции и единственным средством восстановления их природных запасов (Баранникова и др., 2000; Судаков и др., 2008, 2009; Лепилина и др., 2010). Одним из самых затратных и труднорешаемых вопросов в производственном цикле разведения осетровых является процесс их репродукции в искусственных условиях (Васильева, 2006). Поздний возраст начала вступления в период размножения у осетровых рыб (15-18 лет) и отсутствие видимых признаков сексуализации (Казанчеев, 1981) создают проблемы при создании репродуктивных стад этих рыб в аквакультуре. Существуют два основных подхода к решению этих проблем, которые дополняют друг друга. Первый подход - это уменьшение продолжительности гонадо- и гаметогенеза путем изменения технологических параметров выращивания и селекции рыб. Второй подход направлен на разработку и совершенствование способов прижизненной диагностики пола в раннем возрасте. Перспективным объектом аквакультуры осетровых рыб является межродовой гибрид бестер, который характеризуется относительно коротким периодом полового созревания и обладает высокой экологической пластичностью (Николюкин, 1967; Бурцев, 1969).

Интенсивная технология выращивания осетровых в установках с замкнутым циклом водоснабжения (УЗВ), получившая широкое развитие во многих странах (Lobel, 1994; Mohler, 1996; Yukitito Katumi, 1997; Steven, 2001; Ping Zhuang et al., 2001), позволяет ускорить процессы роста и созревания рыб, но также существенно повышает материальные затраты. С экономической точки зрения интересен комбинированный режим выращивания, предусматривающий содержание рыб в УЗВ на ранних этапах онтогенеза для стимулирования процесса гонадогенеза и последующее выращивание при естественном терморегиме до завершения созревания. Однако особенности гонадогенеза бестера при использовании данного подхода не изучены.

При выращивании бестера ремонтных групп необходима оценка развития гонад прижизненными методами. Существует несколько подходов для прижизненной оценки состояния гонад у разновозрастных осетровых, каждый из которых имеет как преимущества, так и недостатки (Семенкова и др., 2000; Van Eenennaam et al., 2001; Mogxim et al., 2001; Vajhi et al., 2001; Чебанов, Галич, 2010; Kynard, Kieffer, 2002). Доступным и объективным способом диагностики пола является метод прижизненной лапаротомии с визуальной оценкой гонад, который был успешно использован для изучения динамики гонадогенеза у гибридов осетровых рыб (Бурцев, 1962), а затем получил широкое распространение на осетровых фермах США (Van Eenennaam et al., 2001). Однако эффективность прижизненной лапаротомии у бестера ремонтных групп для оценки гонадогенеза не установлена, что затрудняет его широкое применение в рыбоводной практике.

**Цель исследований.** Целью работы являлось изучение морфофункциональных особенностей гонадогенеза бестера ремонтных групп при различных термических режимах выращивания.

### **Задачи исследований:**

1. Изучить рыбоводно-биологические показатели бестера ремонтных групп при различных температурных режимах выращивания.
2. Исследовать и проанализировать морфологические показатели развития гонад ремонтных групп бестера при естественном и комбинированном температурных режимах выращивания.
3. Изучить показатели гомеостаза крови бестера ремонтных групп на этапах выращивания при различных технологических режимах.
4. Определить эффективность методов прижизненной оценки репродуктивного статуса ремонтных групп бестера.
5. Исследовать физиологический статус трехгодовиков бестера после операции лапаротомии для оценки состояния гонад.

**Научная новизна.** Впервые установлены морфофункциональные особенности

гонадогенеза бестера в ходе трехлетнего выращивания при комбинировании естественного регулируемого температурных режимов. Получены новые данные по рыболовным физиологическим показателям выращивания и физиолого-биохимическим показателям бестера за три года выращивания при различных термических режимах. Показана эффективность метода прижизненной лапаротомии с морфологической оценкой гонад для трехгодовиков бестера. Впервые установлено влияние операции лапаротомии на физиологическое состояние трехгодовиков бестера по комплексу физиолого-биохимических показателей крови.

**Теоретическая значимость.** Комплексное изучение биологических показателей при морфофункциональных особенностях гонадогенеза бестера в первые три года выращивания позволило выявить достоверное повышение интенсивности процесса формирования желез у рыб при использовании комбинированного температурного режима по сравнению с рыбами, выращенными при естественной сезонности температурного режима. Результаты полученные при изучении физиолого-биохимических параметров крови бестера, позволяют оценивать степень адаптации особей ремонтных групп к условиям содержания.

**Практическая значимость.** Полученные рыбоводно-биологические данные при выращивании бестера при комбинировании регулируемого и естественного температурных режимов могут быть использованы при отборе особей в маточное стадо. Использование комплекс морфофизиологических и биохимических методов может применяться для проведения мониторинговых исследований состояния ремонтных групп бестера в процессе выращивания. Доказанная эффективность прижизненной оценки состояния гонад трехгодовиков бестера методом лапаротомии дает основание рекомендовать ее использование в рыбоводной практике. Результаты исследования могут быть использованы в учебном процессе вузов при изучении курсов и разделов физиологии животных, биологии, экологии, рыбного хозяйства и аквакультуры.

**Основные положения, выносимые на защиту.**

1. Высокая эффективность раннего получения рыбопосадочного материала бестера с продлением периода выращивания на 3,5 месяца и сокращения зимовки на первом году жизни до 2 месяцев за счет регулируемого температурного режима с последующим содержанием бестера на естественной температуре до трехлетнего возраста.
2. Двукратное сокращение продолжительности индифферентного периода развития гонад, определенное морфофизиологическим методом, при раннем получении рыбопосадочного материала и сокращении зимовки на первом году жизни бестера.
3. Особенности динамики физиолого-биохимических параметров крови бестера в этапах трехлетнего выращивания при различных технологических режимах.
4. Результативность ультразвукового сканирования гонад у бестера ремонтных групп для выявления направления половой дифференцировки при достижении массы не менее 1,65 кг.
5. Эффективность определения пола методом лапаротомии с визуальным определением анатомических признаков половой дифференцировки у трехгодовиков бестера.
6. Параметры изменчивости показателей гомеостаза крови у трехгодовиков бестера до и после операции лапаротомии с морфологической оценкой гонад.

**Апробация работы.** Основные положения и материалы диссертации доложены и получили положительную оценку: на заседаниях научно-технического совета и ежегодных конференциях ФГУП ННЦ по осетроводству «БИОС» (2001-2006 гг.), представлены на II, III, IV Международных научно-практических конференциях «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития» (Астрахань, 2001, 2004, 2006), конференциях молодых ученых «Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия» (Борок, 2002), Первой Всероссийской конференции по генетике, селекции и воспроизводству рыб (Санкт-Петербург, 2002), XI Международном симпозиуме «Экологические физиологические проблемы адаптации» (Москва, 2003), II и III Международных научно-практических конференциях «Человек и животные» (Астрахань, 2004, 2005), Международной научно-практической конференции «Повышение эффективности использования биологических ресурсов Мирового океана» (Москва, 2005), Международном симпозиуме

«Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоемов аридного климата» (Астрахань, 2007). По материалам диссертации выдан Патент на изобретение №2332844 «Способ ранней прижизненной диагностики пола у осетровых видов рыб и их гибридов» от 17.01.2008 г.

**Публикации.** Результаты исследований по теме диссертации опубликованы в 24 научных статьях, включая 3 статьи в научных журналах, рекомендованных ВАК РФ.

**Структура и объем работы.** Диссертационная работа состоит из введения, 5 глав (обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения результатов исследований), выводов, практических рекомендаций, списка литературы, приложения. Содержание диссертации изложено на 170 стр. машинописного текста, включая 26 таблиц, 20 рисунков. В работе использовано 239 работ отечественных авторов и 59 – зарубежных.

Автор выражает глубокую благодарность; директору Научно-производственного Центра по осетроводству «БИОС», д.с.-х.н. Л.М. Васильевой - за неоценимый вклад в выбор актуальных направлений исследований; д.м.н., профессору Н.Н. Федоровой - за значительную методическую помощь при анализе морфогистологических препаратов гонад, сотрудникам Научно-производственного Центра по осетроводству «Биос» - за большую помощь в сборе экспериментального материала.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть исследований выполнена в период с 2001 по 2005 гг. в условиях экспериментальной базы «Научно-производственного центра по осетроводству «БИОС», расположенной в с. Икряное Астраханской области (VI рыбоводная зона). С 1994 года на предприятии проводятся работы по созданию маточных стад осетровых рыб, в том числе бестера.

**Объект исследования и условия выращивания.** Объектом исследования являлся межродовой гибрид белуги со стерлядью (F1) – бестер (*Acipenser nikoiljukini*). Материалом для исследования являлись особи бестера двух групп: первая группа - рыбы, выращиваемые по традиционной технологии (естественная смена сезонов); вторая группа - рыбы, выращиваемые по комбинированной технологии (продление периода выращивания на первом году жизни за счет получения потомства в ранние сроки и поздней укороченной зимовки). Наблюдения и исследования проводили в течение первых трех лет выращивания рыб чтобы проследить различия на ранних этапах гонадогенеза.

### Технологические схемы выращивания рыб

Первая группа – традиционная технология (естественный температурный режим): получение половых продуктов в традиционные сроки (май); выращивание сеголеток в бассейнах при естественном температурном режиме; первая зимовка в условиях бетонных бассейнов цеха длительного выдерживания (ЦДВ) при естественном температурном режиме; выращивание двухлеток в бассейнах при естественном температурном режиме; вторая зимовка в условиях бетонных бассейнов цеха длительного выдерживания (ЦДВ) при естественном температурном режиме; выращивание трехлеток в условиях нагульных прудов; третья зимовка в зимовальных прудах.

Вторая группа – комбинированная технология (регулируемый температурный режим): получение половых продуктов в ранние сроки (февраль) и подращивание личинок в регулируемых условиях температуры воды в УЗВ; выращивание сеголеток в пластиковых бассейнах при естественном температурном режиме; продление периода выращивания – зимнее выращивание со второй декады октября по первую декаду февраля в пластиковых бассейнах УЗВ при средней температуре воды 18°C; укороченная первая зимовка в бетонных бассейнах ЦДВ при естественном температурном режиме; выращивание двухлеток в бассейнах при естественном температурном режиме; вторая зимовка в условиях бетонных бассейнов цеха длительного выдерживания (ЦДВ) при естественном температурном режиме; выращивание трехлеток в бассейнах при естественном температурном режиме; третья зимовка в условиях бетонных бассейнов ЦДВ при естественном температурном режиме.

### ***Гидрохимические исследования***

На всех этапах выращивания осуществляли постоянный контроль физико-химич параметров водной среды - температуры, содержания кислорода, pH и биогенных элем унифицированными методиками (Руководство..., 1977).

### ***Биолого-морфологические исследования рыб***

Весовой и линейный рост молоди определяли по данным контрольных взвешива измерений. Морфологические исследования рыб проводили по общепринятой мет (Правдин, 1966; Крылова, Соколов, 1981).

### ***Методы морфологического исследования гонад***

Морфологическое исследование гонад сеголеток (по 15 особей бестера традицион ранних сроков получения) проводили в конце периода выращивания в октябре, годовики (особей) и двухлеток (15 особей) бестера ранних сроков получения – соответственно в ап в октябре. После вскрытия отмечали внешний вид гонад, взвешивали их для опреде гонадосоматического индекса. Фрагменты гонад фиксировали в жидкости Буэна. Визуа морфологическое исследование гонад двухлеток (по 15 особей каждой группы), двухгодо (по 15 особей каждой группы), трехлеток (20 особей) и трехгодовиков (82 особи) бс проводили прижизненно при выполнении небольшого разреза боковой стенки – лапарот При осмотре гонады отмечали её поперечный размер, долю генеративной ткани, ок наличие яйценосных пластинок или лопастей семенника. Для гистологической верифи пола и стадии зрелости брали биоптат размером 3-5 мм и фиксировали его в жидкости I Биоптаты гонад двухлеток отбирали летом и осенью, а трехгодовиков - после зимовки бс (в апреле) при температуре воды не выше 14°C.

***Метод ультразвукового исследования гонад*** Ультрасонографическое исследование проводили при помощи портативного цифрового УЗИ-сканера «MY SONO-201» ф «Medisson» (Корея) и портативного линейно-конвексного диагностического сканера «HS-» фирмы «Honda Electronics» (Япония) у особей средних возрастных групп. Распознавание осуществляли по различиям формы и экзогенности яичников и семенников.

***Метод лапаротомии*** Боковой разрез брюшной стенки выполняли под общей анест кетаминем с левой стороны на уровне 3-5 брюшных жучек (считая от анального плавн отступив от их края на 0,7-1,0 см. Длина разреза не превышала 2,5-3 см. Операционную зашивали стерильной капроновой нитью с помощью хирургических игл размером 3-7 После наложения швов область послеоперационной раны обрабатывали антисептиком, вв внутримышечно антибиотик и ставили индивидуальную метку.

### ***Методы гистологического исследования гонад***

Сбор, фиксацию, гистологическую проводку, приготовление срезов, окраски гематоксилин-эозином препаратов проводили по общепринятым методам (Ромейс, Волкова, Елецкий, 1982). При описании стадий зрелости гонад и развития половых кле изучаемых рыб использовали универсальную шкалу (Сахун, Буцкая, 1963) с некото дополнениями (Трусов, 1964; Серебрякова, 1964; Кузнецов, 1972). Отмечали наруп развития половых желез и половых клеток по критериям ряда авторов (Романов и др., 2001; Романов, Алтуфьев, 1989, 1992; Романов, Шевелева, 1992, 1993; Акимова, Рубан, 1996; Рубан, Акимова, 1991, 1993).

### ***Методы исследования крови (цитологические, биохимические, иммунофермент***

Взятие крови для исследований осуществляли прижизненно путем пункции хвос вены. Подсчет форменных элементов крови проводили унифицированным методом в сч камере Горяева, СОЭ – по методу Панченкова (Грибова, 1979; Лиманский и др., 1 Содержание гемоглобина крови определяли гемоглобинцианидным методом. В сыво крови определяли количество общего белка биуретовым методом (Меньшиков, 1 альбумина – по реакции с бромкрезоловым зеленым (Лукичева, Сентебова, 1974). Содерж холестерина и триглицеридов – энзиматическим колориметрическим методом, β-липопрот – по Бурштейну с гепариновым реактивом (Меньшиков, 1987). Определение тестостерм эстрадиола в сыворотке крови выполняли твердофазным иммуноферментным методом

наборы DRG International, Inc., USA).

#### *Методы статистического анализа*

Анализ полученных данных выполняли общепринятыми методами (Лакин, 1980) с использованием статистического пакета программы Microsoft Excel. Достоверность различий сравниваемых признаков в группах оценивали с помощью t-критерия Стьюдента и непараметрическому F-тесту. Центильный анализ (Гублер, 1978) выполняли с использованием функции «персентиль» статистического пакета программы Microsoft Excel. Объем собранного и проанализированного материала представлен в таблице 1.

Таблица 1

Объем собранного и проанализированного материала

Исследования	Количество рыб (экз.)	Количество проб (шт.)	Количество анализов (шт.)
Ихтиологические (рыбоводно-биологические показатели)	3000	-	9000
Физиологические показатели	632	632	6320
Гистологические исследования	243	486	1458
Иммуноферментные	164	164	328
УЗИ-сканирование	285	-	285
Лапаротомия с визуальной оценкой гонад	153	153	153

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

### **Рыбоводно-биологические показатели выращивания бестера при естественном температурном режиме**

Получение половых продуктов проводили в традиционные сроки (третья декада мая) при температуре воды 15,1°C. Длительность эмбриогенеза при средней температуре воды 16,2°C (15,3-16,7°C) составила 6 суток. Живых эмбрионов на 15 стадии было 80,0%, на 36 стадии – 70,0%. Выход однодневных личинок у бестера оказался равным 70,0%, средняя масса их бала равна 29,0±0,1 мг. Выращивание бестера проводилось в пластиковых бассейнах. Переход на активное питание у бестера закончился на 10 сутки от выклева, при средней массе личинок 85,0±1,3 мг. При переходе на активное питание выход личинок составил 80,0%. На следующих этапах выращивания выход молоди составил: при достижении массы тела 0,5 г – 60,0%, массы 10,0 г – 80,0%. В дальнейшем наблюдался единичный отход. У бестера отмечался постоянный прирост массы (рис. 1) и к 152 суткам она увеличилась до 239,36±31,25 г (C<sub>v</sub>-13,06%). Вариабельность показателя массы тела сеголеток бестера в конце сезона была довольно значительной, однако подавляющее большинство выращенных рыб имели хорошую для сеголетков массу – в интервале 210-290 г. При понижении температуры сеголетки бестера были пересажены на зимовку в бетонные бассейны ЦДВ. Температура воды, поступающей в бассейны, была близка к естественной. Показатель выживаемости годовиков бестера за период зимовки составил 97%, что является высоким значением. Потеря массы тела за период зимовки составила 5-10% (средняя масса годовиков - 220,2±35,18 г). После зимовки рыбы были посажены в пластиковые бассейны рабочим объемом 2 м<sup>3</sup>.

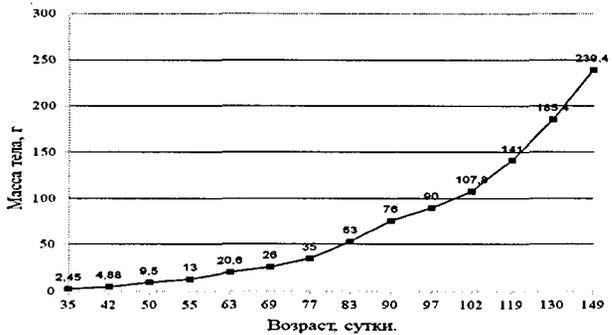


Рис.1. Темп роста сеголеток бестера при традиционной технологии выращивания

Кормление годовиков было начато в мае. Но по причине потерь массы тела у бестера весовой прирост отмечен только через две недели кормления. Это объясняется значительными энергопотерями в холодное время. Пластические процессы пришли в норму только к середине мая, что выразилось в плавном наборе веса. К концу второго года выращивания бестера достигли средней массы 1,15 кг, индивидуальные значения колебались в пределах 0,64 кг до 1,51 кг (табл. 2). Выживаемость двухлеток составила для бестера 97,7%.

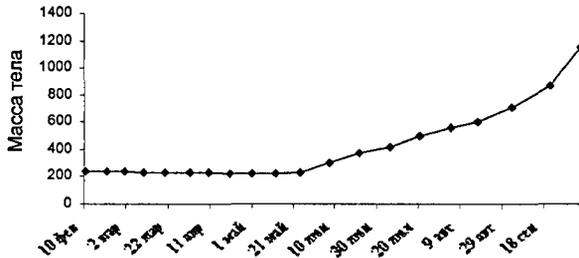


Рис. 2. Динамика массы тела годовиков бестера во время зимовки и в начале нагульного периода второго года жизни при естественном температурном режиме

Зимовка двухлеток проходила в бетонных бассейнах ЦДВ при естественном температурном режиме без кормления. Выживаемость составила 96,3%. Потеря массы за зимовку не превысила в среднем 8%. На третий год выращивания особи бестера пересажены в нагульные пруды, что соответствует традиционной схеме выращивания товарных осетровых на данном предприятии. К концу выращивания трехлетки бестера достигли средней массы 2,2 кг. Выживаемость составила 98%. Третья зимовка рыб проходила в зимовальном пруду №20. В течение периода зимовки температура воды в пруду колебалась от 3,6°C до 1°C. Таким образом, при выращивании ремонтных групп бестера по традиционной технологии, предусматривающей естественный ход температур, исследуемые особи трехлетнего возраста имели массу тела 2,2 кг при выживаемости 98%.

#### Рыбоводно-биологические показатели выращивания бестера при регулируемом температурном режиме

Получение овулировавшей икры и спермы происходило в ранние сроки (первая декада марта) в условиях установки с регулируемым температурным режимом воды. При

оплодотворения составил 85,5%. Выход свободных эмбрионов от количества оплодотворенной икры, заложенной на инкубацию, оказался равным 69,1%. Продолжительность эмбриогенеза составила 10 суток при температуре 12,0 – 14,0°C. Единичный выклев предличинок наблюдался на 8 сутки. Свободные эмбрионы были пересажены в пластиковые бассейны установок замкнутого цикла водоснабжения. Выдерживание и подращивание предличинок и личинок проводилось при оптимальных температурах водной среды, и концентрации растворенного в воде кислорода.

Переход на активное питание у бестера начался на 10 сутки от выклева, при средней массе личинок 63,1 мг. Потери личинок бестера при переходе на экзогенное питание в среднем составили 16%. У бестера наблюдался постоянный прирост массы, и к 13 суткам она увеличилась до 88,9 мг. Выживаемость предличинок и личинок бестера с момента перехода на активное питание до достижения массы 3 г оказалась в среднем 66%, что находится в пределах нормы. Коэффициент упитанности колебался с возрастом молоди от 0,6 до 0,89 ед. Продолжительность выращивания молоди бестера до средней массы 3 г составила 35 суток при температуре 18,5-19°C. Темп роста мальков бестера характеризовался плавной кривой, что видно из рисунка 11.

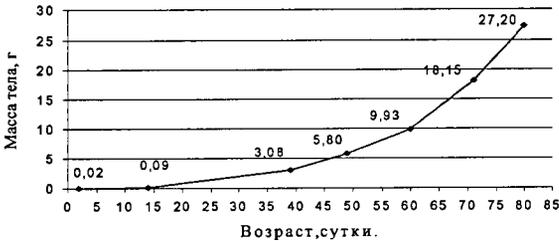


Рис. 11. Темп роста молоди бестера при выращивании в условиях УЗВ

Выращивание молоди до 30 г от 3-граммовой продолжалось 50 суток при температуре воды 18,5-20°C при оптимальном содержании кислорода (7,0-10,0 мг/л). Средней массы 30 г молодь достигла к концу мая через 80 суток от момента выклева, то есть за период чуть меньше трех месяцев. Результаты выращивания можно считать удовлетворительными, что подтверждает, в частности, коэффициент упитанности, который в среднем составил 0,58 (индивидуальный разброс от 0,43 до 0,89 ед.). Выживаемость молоди бестера массой 30 г (от молоди массой 3 г) составила 75%. В конце мая – начале июня молодь бестера в условиях пластиковых бассейнов адаптировали к проточной воде естественного водоисточника - р. Бахтемир. Выращивание молоди в бассейнах при естественных температурах воды проводили с первой декады июня по вторую декаду октября. Темп роста молоди при выращивании в бассейнах характеризовался плавной кривой (рис. 4). К концу выращивания молодь бестера в бассейнах достигла массы в среднем 420 г (индивидуальные значения колебались от 127 до 670 г). Коэффициент упитанности (по Фультону), в среднем составил 0,60 (индивидуальный разброс от 0,48 до 0,80 ед.). Среднесуточный прирост от 30-граммовой молоди до стадии сеголетки был 1,83%.

Согласно технологической схеме выращивания бестера при комбинировании управляемого и естественного температурного режимов первый год не заканчивается получением сеголеток. Период выращивания продлевается в условиях УЗВ за счет отодвигания сроков зимовки. Этот технологический прием, наряду с ранним получением потомства и играет решающую роль в ускорении процесса гонадогенеза.

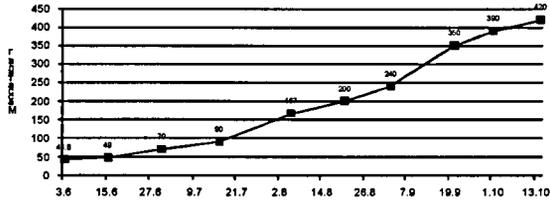


Рис. 4. Темп роста сеголеток бестера в бассейнах при естественной температуре воды (1-й год выращивания по комбинированной технологии)

Второй год выращивания по данной схеме начинается после окончания укороченной первой зимовки, которая наступает после длинного периода выращивания первого года. В первой декаде октября, когда естественная температура воды в бассейнах понизилась до  $17^{\circ}\text{C}$ , часть сеголетков бестера была переведена из бассейнового цеха в условия УЗВ для дальнейшего выращивания в зимний период в пластиковых бассейнах рабочим объемом 1000 л. Температуру воды в системе постепенно повышали с  $17$  до  $20^{\circ}\text{C}$ . Выращивание проводилось при регулируемом термическом режиме, т.е. вегетационный период был продлен на 4 месяца, соответственно сокращен период зимовки. В течение всего периода зимнего выращивания бестера происходило постепенное и равномерное увеличение массы тела, что обусловлено благоприятными термическими и гидрохимическими показателями среды и оптимальным режимом кормления. При выращивании в УЗВ все особи активно питались. Выживаемость на данном этапе для бестера составила 100%. Данные по темпу роста бестера при зимнем выращивании в УЗВ представлены на рисунке 5. К концу выращивания годовики бестера достигли массы  $907,5$  г (разброс индивидуальной массы от  $490$  г до  $1153$  г,  $C_v=34,9\%$ ).

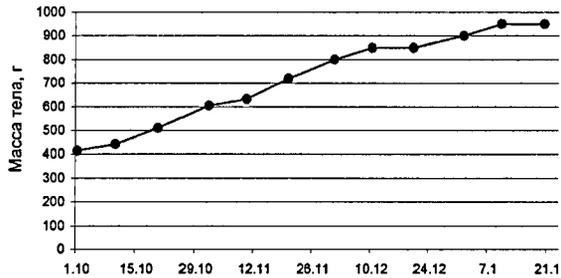


Рис. 5. Темп роста бестера при зимнем выращивании в условиях УЗВ (продлен первый год выращивания по комбинированной технологии)

Начиная с третьей декады января, в УЗВ, где содержался бестер, стали постепенно понижать температуру воды, с целью организации зимовки в укороченном варианте. К началу второй декады февраля температура воды в бассейнах составляла  $8^{\circ}\text{C}$ . Полное исключение технологического процесса зимовки рыб является негативным, т.к. данные условия могут нарушить нормальное протекание генеративного обмена. К тому же некоторые авторы (Киселев, 1999) подтверждают влияние зимовки на стимулирование первого нереста.

В период со второй декады февраля до конца зимовки потери массы тела у бестера незначительными. Выживаемость на данном этапе выращивания составила  $94,3\%$ . К концу

зимовки масса тела бестера составляла в среднем 900 г ( $C_v=31,2\%$ ). В последней декаде апреля – первой декаде мая годовики бестера были пересажены в пластиковые бассейны ИЦА-2 на дальнейшее выращивание при естественном температурном режиме.

К концу мая – началу июня, когда значения температуры воды перешли в область нижней границы нормы (16-17°C) отмечено начало периода активного весового роста. Выживаемость на данном этапе выращивания составила для бестера 96,7%. За период летнего выращивания у двухлеток происходило постепенное, равномерное возрастание массы тела, однако, к концу первой декады сентября отмечено резкое снижение весового роста (рис. 6). На конец периода выращивания при естественных температурных условиях средняя масса тела двухлеток данной гибридной формы составила 1419 г.

Значительное снижение темпа размерно-весового роста у бестера, может быть вызвано не только понижением среднесуточных температур воды, но и связано с лимитирующим влиянием пространственного фактора, которым является небольшой размер выростных емкостей. Для рыб массой свыше 1,3-1,4 кг для стимулирования размерно-весового роста необходимы более крупные емкости для выращивания.

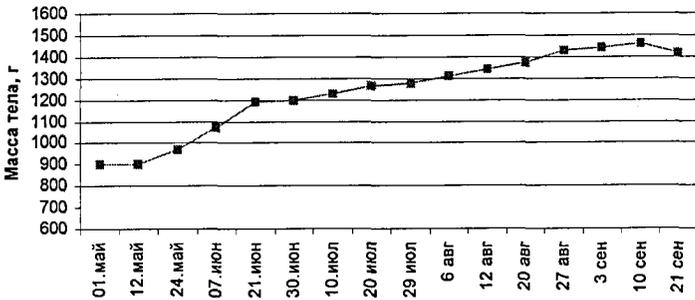


Рис. 6. Темп роста двухлеток бестера в бассейнах при естественной температуре воды (2-й год выращивания по комбинированной технологии)

В первой декаде октября двухлетки бестера были пересажены в бассейны ЦДВ на зимовку совместно с группой бестера, традиционных сроков получения. Третий год выращивания бестера ранних сроков получения осуществлялся в условиях бетонных бассейнов ЦДВ, которые имеют площадь 18 м<sup>2</sup>, что позволило исключить влияние малого пространства на линейно-весовой прирост. По нашему мнению, отмеченное в конце предыдущего года замедление массонакопления было связано главным образом с лимитирующим влиянием пространственного фактора. К концу третьего года выращивания средняя масса особей достигла 3,1 кг. Выживаемость составила 98%.

Таким образом, при выращивании ремонтных групп бестера по комбинированной технологии, которая предусматривает увеличение продолжительности выращивания на первом году жизни за счет раннего получения потомства и отодвигания сроков зимовки путем использования регулируемого температурного режима, исследуемые особи бестера в трехлетнем возрасте достигли средней массы тела 3,1 кг при выживаемости 98%. Полученные рыболовные результаты позволяли ожидать интенсификации гонадогенеза у рыб, выращенных при комбинировании естественного и регулируемого термических режимов.

#### Морфогистологический статус гонад бестера ремонтных групп на этапах выращивания

На протяжении трехлетнего выращивания бестера при естественном и комбинированном температурных режимах проводилось исследование развития воспроизводительной системы. На первом и вначале второго года выращивания морфологическую оценку развития гонад

осуществляли при вскрытии рыб. В дальнейшем изучение проводили прижизненно, а им применяя метод УЗИ-сканирования, метод лапаротомии с визуальной оценкой гонад и вз биоптата, а так же путем забора крови для определения концентрации половых гормонов.

**Развитие гонад бестера первого года выращивания**

Были обследованы сеголетки бестера традиционных сроков получения, которые к вегетационного периода, в 5-ти месячном возрасте, имели массу тела  $227,3 \pm 8,250$  г. Масса сеголетков бестера, полученного в ранние сроки, и достигших к этому моменту возраста, составила  $406,3 \pm 15,08$  г.

При морфологическом исследовании половые железы особей этих групп имели тонких тяжей беловатого цвета без признаков половой дифференцировки, однако у нескольких рыб ранних сроков получения при внешнем осмотре была выявлена генеративная ткань. Крупными были гонады у бестера, полученного и выращиваемого в регулируемом температурном режиме, их масса была в пределах  $0,26-4,67$  г. Масса гонад у бестера традиционных сроков получения оказалась в пределах  $0,11-1,38$  г.

Гонадосоматический индекс (ГСИ) у бестера, полученного в ранние сроки, составил  $0,31 \pm 0,106\%$ . Среднее значение ГСИ в этой группе было выше, чем у бестера традиционных сроков получения ( $0,23 \pm 0,047\%$ ), причем различие было достоверным (по непараметрическому F-тесту,  $p < 0,05$ ).

При гистологическом исследовании препаратов гонад бестера традиционных сроков получения на стадии сеголетки дифференцировка гонад обнаружена в 20% случаев, и основная часть данной группы составляли особи с гонадами, находящимися в индифферентном состоянии, в то время как у бестера ранних сроков получения дифференцировка гонад по половому признаку произошла уже у 70% особей.

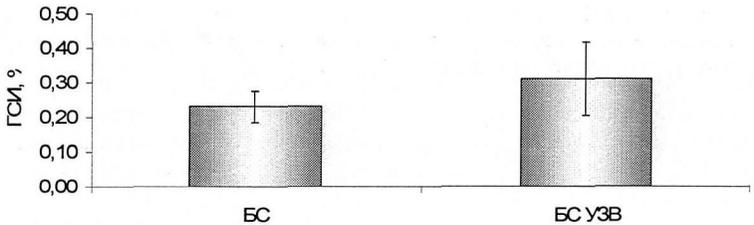


Рис. 7. Гонадосоматический индекс у сеголеток бестера разных групп (BC-естественный термический режим, BC(U3B) – комбинированный)

При обследовании годовиков бестера традиционных сроков получения и выращиваемых при естественном ходе температур значительных изменений в формировании половых желез период зимовки выявлено не было, величина ГСИ не изменилась, и практически у всех обследованных рыб половые железы находились в индифферентном состоянии.

У годовиков бестера ранних сроков получения и выращиваемых с продлением периода благоприятных температур в регулируемых условиях масса гонад составила  $1,75 \pm 0,307$  г. В сравнении этих данных с показателями тех же рыб в возрасте сеголетки, обнаружено, что в период зимовки достоверных изменений не произошло, но отмечено некоторое увеличение массы гонад у ряда особей. Среднее значение ГСИ оставалось на прежнем уровне и достоверно не отличалось от показателей сеголеток не отличалось.

Гистологическое исследование половых желез годовиков показало, что за время зимовки выращивания в УЗВ и укороченной зимовки произошла дифференцировка гонад у обследованных особей. В препаратах 50% особей были отмечены ооциты на стадии протоплазматического роста, но наряду с ними и некоторое количество премейотических ооцитов, еще не перешедших к протоплазматическому росту, а также оогонии. Яйценос

пластинки находились на стадии формирования. Такая картина характерна для I-II стадии зрелости яичника. (Рис. 8). У 50% обследованных особей в препаратах гонад были обнаружены признаки развития половых желез в семенник. Половые клетки были представлены сперматогониями в состоянии размножения (I стадия сперматогенеза), образующими цисты. Причем цисты встречались лишь единично, что свидетельствует о начале перехода ко II стадии зрелости семенников (переходная I-II стадия) (Рис.9). В двух препаратах цисты обнаруживались в большом количестве, то есть имела типичная картина II стадии зрелости (Рис.10).

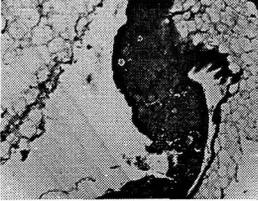


Рис. 8. Гонады бестера. Яичники. Стадия I. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.22x10

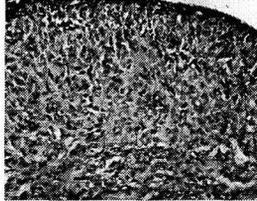


Рис.9. Гонады бестера. Семенники. Стадия I-II. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.22x40

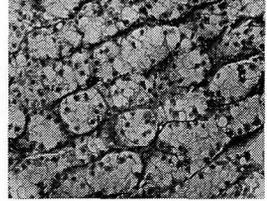


Рис.10. Гонады бестера. Семенник. Стадия II. Окраска гематоксилин-эозин. Ув.22x40

Таким образом, продление периода выращивания и сокращение зимовки у бестера привело к тому, что уже в начале второго сезона выращивания у всех особей произошла дифференцировка гонад. У бестера, зимовка которого проходила в традиционных условиях, оставались особи с половыми железами в индифферентном состоянии. Гистологическое исследование гонад годовиков бестера, выращиваемого по комбинированной технологии, позволило установить пол и стадию зрелости у всех обследованных особей. Соотношение самок и самцов в данной группе составило 1:1.

#### *Развитие гонад бестера второго года выращивания*

Для определения характера развития воспроизводительной системы у бестера было проведено обследование гонад при завершении второго года выращивания (последняя декада сентября). При обследовании особей бестера, выращиваемого при естественном температурном режиме, в завершении нагульного периода было отмечено достоверное увеличение показателей массы гонад и ГСИ. На момент исследования масса гонад варьировала от 1,89 г до 32,41 г при среднем значении 15,3 г. ГСИ возрос с весеннего показателя 0,178% до 1,24%. При внешнем осмотре гонад установить пол удалось лишь в 25% случаев. Установить пол и стадию зрелости посредством проведенного нами УЗИ-сканирования не удалось, что объясняется ограниченностью этого метода для данного возраста (Moghim et al., 2001; Vajhi et al., 2001).

При завершении нагульного периода выращивания у двухлеток бестера, выращиваемого с продлением периода благоприятных температур, были отмечены явные изменения в развитии гонад. Масса половых желез достоверно увеличилась до  $46,9 \pm 12,57$  г ( $p < 0,01$ ) при варьировании признака 2,5-137 г. Соответственно увеличились показатели ГСИ до  $3,01 \pm 0,733\%$  ( $p < 0,01$ ). Во всех случаях были выявлены визуальные признаки дифференцировки пола. Параллельно с морфогистологическим в осенний период было проведено ультразвуграфическое обследование гонад бестера. Однако на данных стадиях установить пол и стадию зрелости методом УЗИ-сканирования также не удалось.

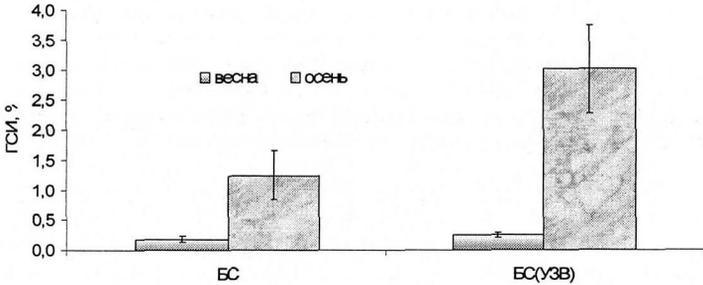


Рис. 11. Гонадосоматический индекс бестера второго года выращивания (ЕС – естественный термический режим, ЕС(УЗВ) – комбинированный)

### *Развитие гонад бестера третьего года выращивания*

На третьем году выращивания исследование развития гонад проводили прижизненно весной и осенью. После зимовки обследование половых желез двухгодовиков осуществлено методом лапаротомии с визуальной оценкой гонад и взятием биоптата для гистологического изучения, а также методом ультразвукового сканирования. В завершении нагульного периода применялся лишь метод ультразвукографии, поскольку оперативное вмешательство (лапаротомия) не применяется перед зимовкой. В группе рыб, выращиваемых по традиционной технологии, установить пол и стадию зрелости двухгодовиков методом УЗИ-сканирования удалось лишь в 25% случаев. При проведении гистологического исследования пол и стадию зрелости были установлены у всех особей данной группы и подтверждены результаты УЗИ-сканирования и внешнего осмотра половых желез при лапаротомии. Однако, необходимо отметить, что при проведении лапаротомии и ультразвукографии (до получения данных гистологических исследований) пол удалось определить у 78% особей этой группы рыб. При проведении операции прижизненной лапаротомии с визуальной оценкой развития гонад был установлен практически у всех двухгодовиков бестера, выращенных с продолжением вегетационного периода. Гистологическое исследование в начале третьего года выращивания показало, что у всех особей бестера традиционных сроков получения произошла полная дифференцировка, т.е. рыб с индифферентными гонадами обнаружено не было. Самки и яичники на I и II стадиях зрелости. Среди самцов встречались рыбы с семенниками переходной I-II стадии зрелости, II стадии зрелости и лишь у одной – на III стадии зрелости. Показательным является то, что у двухгодовиков бестера раннего срока получения основная часть группы составляли самки также с половыми железами II стадии зрелости, однако, самки имели половые железы III-IV стадии зрелости. Это говорит о том, что в следующем сезоне следует ожидать их созревания, так как у самцов гонадогенез, начавшись, проходит задержек.

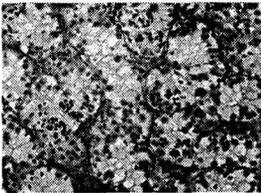


Рис. 12. Гонады бестера. Семенники. Стадия III. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 22x40

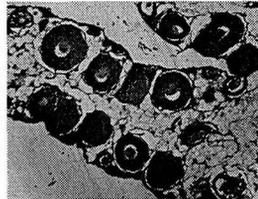


Рис. 13. Гонады бестера. Яичники. Стадия II. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 22x10

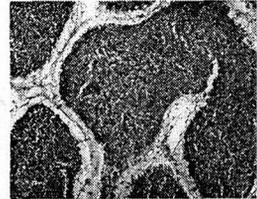


Рис. 14. Гонады бестера. Семенники. Стадия III-IV. Окраска гематоксилин-эозин. Ув. 22x40

Таким образом, раннее получение и сокращение времени зимовки до 2-х месяцев у бестера вдвое укорачивает период прохождения одного из длительных этапов развития гонад – индифферентного периода. При сравнении с традиционной технологией выращивания бестера наблюдается ускорение созревания на один год: обычно дифференцировка половых желез происходит лишь на втором году, а при применении данной технологии – уже в течение первого года. Продление периода выращивания на первом году жизни позволит ускорить созревание особей бестера.

### **Физиологические показатели крови бестера ремонтных групп на этапах выращивания**

#### ***Первый год выращивания***

При анализе физиолого-биохимических показателей крови сеголеток крови бестера были получены следующие результаты.

**Система эритрона.** Количество эритроцитов в крови сеголеток бестера, выращиваемого по традиционной технологии, изменялось в пределах  $0,47-0,90 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$  при среднем  $0,74 \pm 0,046 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$ . Содержание гемоглобина в крови исследованных сеголеток бестера варьировало в пределах от 41,4 до 61,0 г/л при среднем значении  $54,5 \pm 2,07$  г/л. Количество эритроцитов и гемоглобина в крови сеголеток бестера ранних сроков получения составляло  $0,81 \pm 0,054 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$  и  $53,6 \pm 1,78$  г/л, что достоверно не отличалось от таковых показателей у бестера традиционных сроков получения. Важный показатель, отражающий физиологические процессы кроветворения, – среднее содержание гемоглобина в одном эритроците, значение которого варьировало у особей, выращиваемых при естественном ходе температур от 50,5 до 128,7 пг при среднем  $77,7 \pm 7,32$  пг. Данный показатель у рыб, выращиваемых по комбинированной технологии находился в пределах от 46,4 до 94,3 пг при среднем  $68,4 \pm 4,31$  пг. СОЭ в первой группе составило  $3,7 \pm 0,21$  мм/час, а во второй –  $3,4 \pm 0,22$  мм/час.

**Белковый обмен.** Содержание общего белка в сыворотке крови исследованных сеголеток бестера традиционных и ранних сроков получения было  $25,0 \pm 0,72$  г/л и  $27,6 \pm 1,34$  г/л; альбумина –  $7,89 \pm 0,181$  г/л и  $7,75 \pm 0,270$  г/л, соответственно, и достоверно не отличалось.

**Липидный обмен.** Показатели содержания холестерина в сыворотке крови сеголеток бестера, выращиваемых по традиционной и комбинированной технологиям, были  $3,06 \pm 0,263$  ммоль/л и  $2,61 \pm 0,275$  ммоль/л, триглицеридов –  $2,74 \pm 0,199$  ммоль/л и  $2,56 \pm 0,071$  ммоль/л,  $\beta$ -липопротеидов –  $2,59 \pm 0,304$  г/л и  $1,89 \pm 0,163$  г/л, соответственно.

Средние значения показателей содержания гемоглобина, эритроцитов, белкового и жирового обмена находились на достаточно высоком уровне, как у сеголеток бестера традиционных сроков получения, так и ранних сроков получения. Обращает на себя внимание выраженная вариабельность гематологических и биохимических показателей, особенно липидного ряда. Это явление может быть следствием конкурентных отношений внутри группы выращиваемых рыб.

В целом результаты физиологического исследования указывают на хорошее физиологическое состояние сеголеток бестера, так как даже наименьшие значения показателей гемоглобина, общего сывороточного белка и других тестов были достаточно высокими. Полученные данные хорошо согласуются с рыбоводно-биологическими параметрами бестера (выживаемость, темп роста, кормовой коэффициент), отражая его высокую адаптационную пластичность. Проведенный анализ показал, что четких различий по каким-либо показателям крови между особями с индифферентными половыми железами и рыбами, у которых уже начался процесс дифференцировки гонад, обнаружено не было.

#### ***Второй год выращивания***

В завершении зимовки были обследованы годовики бестера, выращиваемого как по традиционной технологии, так и с продлением периода благоприятных температур.

**Система эритрона.** Количество эритроцитов в крови годовиков бестера, выращиваемого при естественном температурном режиме, изменялось в пределах  $0,61-$

$1,24 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$  при среднем  $0,98 \pm 0,296 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$ , что достоверно отличается от осей показателей в этой группе ( $p < 0,05$ ). К концу второго года выращивания данный показател составил  $0,72 \pm 0,050 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$ , при изменении признака в пределах  $0,25-1,12 \times 10^{12}$ . Содержание гемоглобина в крови обследованных годовиков бестера варьировало в пределах от 54,4 до 72,1 г/л, при среднем значении  $61,9 \pm 6,25$  г/л, в конце вегетационного периода данный показатель составил  $60,6 \pm 2,59$  г/л. СОЭ в группе изменялась от 6 мм/час при среднем значении  $3,5 \pm 0,27$  мм/час, к концу второго года вырощив наметилась тенденция к увеличению данного показателю и составила  $4,6 \pm 0,30$  мм. Количество эритроцитов в крови годовиков бестера, выращиваемого в усло комбинированного температурного режима, изменялось в пределах  $0,57-1,30 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$  среднем  $0,93 \pm 0,206 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$ , что достоверно отличается от осенних показателей ( $p < 0,05$ ); течение второго года выращивания количество эритроцитов продолжало увеличиваться: концу сезона составило  $1,24 \pm 0,085 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$ , при изменении признака в пределах  $1,46 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$  ( $p < 0,05$ ). Содержание гемоглобина в крови обследованных годовиков бестера варьировало в пределах от 65,4 до 89,1 г/л, при среднем значении  $74,3 \pm 4,62$  г/л, в к периода выращивания данный показатель составил  $78,3 \pm 6,61$  г/л. СОЭ в группе изменя от 3 до 5 мм/час при среднем значении  $2,5 \pm 0,421$  мм/час, аналогичные показател сохранились и к концу второго года выращивания.

**Белковый обмен.** Содержание общего белка в сыворотке крови исследованных годовиков бестера традиционных сроков получения было в пределах 15,7-28,2 при среднем значении  $18,9 \pm 1,12$  г/л; альбумина – в пределах 4,11-8,36 при среднем значении  $5,9 \pm 0,40$  г/л. Достоверных отличий данных показателей по сравнению с осенним уро: получено не было, но тенденция к снижению прослеживалась. В конце второго года выращивания содержание общего белка в сыворотке крови составляло  $26,7 \pm 1,45$  г/л, этом содержание альбумина достоверно возросло до  $11,17 \pm 0,456$  г/л ( $p < 0,05$ ). Содерж общего белка в сыворотке крови исследованных годовиков бестера ранних ср получения было в пределах 25,7-38,2 при среднем значении  $30,7 \pm 6,12$  г/л; альбумина в пределах 8,11-10,10 при среднем значении  $9,23 \pm 0,681$  г/л. Достоверных отличий да: показателей по сравнению с осенними получено не было, но тенденция к увеличению прослеживалась. В конце второго года выращивания содержание общего белка в сыворотке крови не изменилось и составляло  $29,9 \pm 3,27$  г/л, при этом содержание альбумина достоверно возросло до  $14,17 \pm 0,640$  г/л ( $p < 0,05$ ).

**Липидный обмен.** Показатели содержания холестерина в сыворотке крови годовиков бестера, выращиваемого по традиционной и комбинированной технологиям были  $3,16 \pm 0,236$  ммоль/л и  $4,86 \pm 0,263$  ммоль/л; триглицеридов -  $5,18 \pm 0,432$  ммоль/л  $10,40 \pm 0,532$  ммоль/л соответственно. Данные показатели были выше осенних, достоверные отличия отмечены лишь у особей, выращиваемых по комбинированной технологии ( $p < 0,01$ ). За период выращивания наблюдалось снижение показател липидного обмена, по сравнению с весенним уровнем, и составило в среднем холестерина  $2,28 \pm 0,184$  ммоль/л и  $2,51 \pm 0,181$  ммоль/л, для триглицеридов  $2,66 \pm 0,239$  ммоль/л и  $4,42 \pm 0,745$  ммоль/л. У рыб, выращиваемых по традиционной технологии, установлено понижение содержания общего белка в сыворотке крови, что происходило, в основном, за счет сокращения количества альбуминов. Увеличение показател содержания липидов у всех обследованных рыб к весне в 0,5-2,1 раз может быть связано влиянием ряда факторов – сгущение крови при воздействии низких температур, голод; мобилизация липидов из тканевых депо в кровь. Средние значения показателей содержания гемоглобина, эритроцитов, белкового и жирового обмена у годовиков бестера, выращиваемых по комбинированной технологии, находились на достаточно высоком уровне. Наблюдается повышение всех показателей после зимовки является закономерным и согласовывается литературными данными (Гершанович и др., 1987). В результате проведенного физиологического обследования годовиков бестера обнаружено, характерное для многих видов рыб, повышение уровня гемоглобина за период зимовки в среднем на 18%, которое начинается осенью с понижением температуры воды при высоком содержании в ней кислорода.

(Головина, Тромбицкий, 1989). При этом у всех исследуемых рыб на 5,6-20,1% увеличилось количество эритроцитов. В целом значения физиологических показателей в конце периода выращивания при естественных температурах соответствуют рыбоводно-биологическим параметрам активно питающихся рыб перед наступлением зимовки.

#### *Третий год выращивания*

**Система эритрона.** Количество эритроцитов в крови трехлеток бестера, выращиваемого по традиционной и комбинированной технологиям, было  $1,16 \pm 0,042 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$  и  $0,984 \pm 0,035 \times 10^{12} \text{ л}^{-1}$ ; содержание гемоглобина -  $78,5 \pm 3,91 \text{ г/л}$  и  $82,83 \pm 2,48 \text{ г/л}$ . Данные показатели были достоверно выше, чем у двухлеток бестера и в первой и во второй группе ( $p < 0,05$ ). Содержание гемоглобина в одном эритроците варьировало у исследованных особей от 40,8 до 108,1 пг при среднем  $74,7 \pm 3,40 \text{ пг}$  у рыб, выращиваемых при естественном температурном режиме. В крови трехлеток бестера, выращиваемого при комбинировании естественного и регулируемого температурного режимов, среднее содержание гемоглобина в одном эритроците составляло  $88,5 \pm 24,8 \text{ пг}$ . СОЭ в группах рыб, выращиваемых по традиционной и комбинированной технологиям в среднем было  $3,3 \pm 0,18 \text{ мм/час}$  и  $3,4 \pm 0,22 \text{ мм/час}$  соответственно.

**Белковый обмен.** Содержание общего белка в сыворотке крови исследованных трехлеток бестера традиционных и ранних сроков получения было  $35,5 \pm 1,07 \text{ г/л}$  и  $58,4 \pm 4,16 \text{ г/л}$ ; альбумина -  $11,39 \pm 0,326 \text{ г/л}$  и  $19,2 \pm 0,91 \text{ г/л}$ . Содержание белка в сыворотке крови трехлеток достоверно выше, чем у двухлеток в двух группах ( $p < 0,05$ ).

**Липидный обмен.** Показатели содержания холестерина и триглицеридов в сыворотке крови трехлеток бестера, выращиваемого по традиционной технологии, изменялись в пределах  $0,45\text{-}5,88 \text{ ммоль/л}$  и  $0,59\text{-}8,25 \text{ ммоль/л}$  при среднем значении  $2,87 \pm 0,21 \text{ ммоль/л}$  и  $3,33 \pm 0,215 \text{ ммоль/л}$  соответственно. Данные показатели трехлеток бестера, выращиваемого по комбинированной технологии, изменялись по холестерину в пределах  $0,97\text{-}5,711 \text{ ммоль/л}$  и по триглицеридам -  $1,35\text{-}12,65 \text{ ммоль/л}$  при среднем значении  $3,68 \pm 0,426 \text{ ммоль/л}$  и  $6,45 \pm 1,164 \text{ ммоль/л}$  соответственно. Среднее значение содержания  $\beta$ -липопротеидов в сыворотке крови трехлеток бестера традиционной и комбинированной технологий выращивания было  $1,34 \pm 0,082 \text{ г/л}$  и  $1,89 \pm 0,163 \text{ г/л}$  соответственно.

Таким образом, проведенные нами исследования свидетельствуют о закономерном повышении уровня гемоглобина и сывороточных белков у бестера с возрастом, независимо от технологии выращивания. Полученный результат согласуется с известными литературными данными. (Квасова, 1968; Гершанович, 1987; Лукьяненко и др., 1990). Описанная закономерность более четко выражена у гибридов осетровых, что, возможно, объясняется эффектом гетерозиса (повышение жизнеспособности и скорости обменных процессов при гибридизации).

#### **Эффективность прижизненной оценки репродуктивного статуса бестера ремонтных групп**

Изучение информативности различных методов прижизненной диагностики пола у осетровых рыб проводилось в сравнительном аспекте: методом УЗИ-сканирования, методом прижизненной лапаротомии с гистологическим исследованием гонад и методом определения содержания половых гормонов в сыворотке крови.

Было проведено обследование 82 трехгодовалых бестера. Масса обследованных особей варьировала от 1,1 до 2,3 кг (среднее значение 1,5 кг). Визуальное исследование гонад методами УЗИ-сканирования и лапаротомии выполняли после зимовки рыб до начала кормления при температуре воды  $7\text{-}8^{\circ}\text{C}$ .

Ультразвуковое обследование 82 трехгодовалых бестера, позволило выявить несколько вариантов эхограмм. При обследовании 30 рыб массой от 1,5 до 2,4 кг при ультразвуковом сканировании на эхограмме гонады выглядели как структуры смешанной экзогенности. Генеративная ткань визуализировалась в виде вертикальных отдельных или разветвляющихся полос повышенной экзогенности. Это является признаком яичника II стадии зрелости.

В 7-ми случаях у рыб массой 0,3-2,1 кг была выявлена генеративная т представляющая собой гиперэхогенную структуру, которая на мониторе выглядела как ( светлая (почти белая) мелкозернистая, однородная по всей площади фронтального гонады. Это указывает на развитый семенник II стадии зрелости. У 3-х рыб на фронтал ультразвуковым срезе гонада выглядела как светлая зона с четким гладким краем в отдельных зон с округлыми краями. Данная картина указывает на семенник III стадии зрел В 2-х случаях при ультразвуковом сканировании гонады выявлялись, как отдельные струк но признаков характерных для яичников или семенников выявлено не было. При обследов остальных рыб данной группы четко определить признаки половой принадлежности эхограммах не удалось, что, вероятно, было связано с некрупными размерами гонад и стру их образующих. Таким образом, в данной группе установить пол и стадию зрелости мет УЗИ-сканирования удалось лишь в 47% случаев.

Особь данной группы были обследованы также методом прижизненной лапаротом визуальной оценкой гонад. При обследовании 82 особей бестера визуальная картина го характеризующейся наличием продольной борозды по латеральной стороне и более или м выраженной поперечной складчатостью, указывающей на развитие яйценосных пласт была обнаружена у 45-ти (54,9%) рыб. Гонады имели поперечный размер в месте разреза с до 4,5 см при доле генеративной ткани 10-100%. Данная картина бывает во время рази гонад в направлении яичника (Чиркина, 1969). У 13-ти (15,8%) особей гонады были мол белого цвета с ярко выраженными лопастями, что характерно для семенника. Ол поперечный размер половой железы в месте разреза был небольшим от 0,3 до 1,3 см, пр генеративная ткань практически у всех особей занимала ее большую часть.

При визуальной оценке гонад у 24 трехгодовиков бестера (29,3%) явных призи принадлежности к определенному полу (яйценосные пластинки, лопасти) обнаружено не ( Половые железы имели вид тонких тяжей. Поперечный размер их варьировал от 0,1 до 1,5 14 рыб этой группы в структуре половых желез генеративная ткань не выявлялась, когда особей при внешнем осмотре ее можно было различить.

Таким образом, метод прижизненной лапаротомии с визуальной оценкой гонад позе установить половую принадлежность в 71% случаев, а гонады 29% особей находились на ( ранних этапах развития, которые не позволяют выявить направление пол дифференцировки при внешнем осмотре.

Для верификации полученных данных было проведено гистологическое исследо биоптатов гонад, взятых при выполнении операции прижизненной лапаротом Гистологическое исследование подтвердило данные, полученные при УЗИ-сканирован внешнем осмотре гонад при лапаротомии, а также позволило установить пол у рыб, го которых не имели явных признаков половой принадлежности.

При гистологическом исследовании биоптатов гонад трехгодовиков бестера в препаратах обнаружены признаки II стадии зрелости яичников. В срезах биоптатов 12 среди мощных тяжей соединительной ткани были видны оогонии, ооциты синаптенного п ювенильной фазы развития, что характерно для развивающихся гонад самок I стадии зрел (Трусов, 1964). Данная картина наблюдалась и у рыб, у которых визуально были выяв яйценосные пластинки, и у части рыб, признаков половой принадлежности у которых внешнем осмотре гонад через разрез во время лапаротомии не обнаруживалось. В о препарате была установлена переходная стадия зрелости гонад - I-II (Кузнецов, 1972).

В 3 препаратах гистологически выявлены отдельные крупные сперматогонн интеркинетическом состоянии, что соответствует I стадии зрелости гонад (Трусов, 1964). рассмотрении биоптатов в 22 случаях единично встречались цисты, что свидетельств начале перехода ко II стадии зрелости семенников (переходная I-II стадия). В двух препа цисты обнаруживались в большом количестве, то есть имелась типичная картина II ст зрелости.

Таким образом, гистологическое исследование установило, что большую обследованных рыб составляли самки (62%) с гонадами I-II и II стадии зрелости. Доля сам исследованной группе составляла 33%, их гонады находились на II стадии зрелости. По

железы 5% рыб находились в индифферентном состоянии.

Проведен анализ содержания половых гормонов в сыворотке крови прооперированных особей бестера. Анализировали показатели содержания гормонов в зависимости от пола.

В группе самок, яичники которых находились на I-II и II стадии зрелости (51 особей) содержание тестостерона в сыворотке крови варьировало от 2,2 до 35,2 нмоль/л при среднем значении  $8,2 \pm 0,93$  нмоль/л. Содержание эстрадиола находилось в пределах от 72,8 до 470,3 пмоль/л при среднем значении  $220,3 \pm 12,26$  пмоль/л. У самцов с семенниками на II и III стадии зрелости (27 особей) содержание тестостерона в сыворотке крови изменялось от 3,4 до 64,3 нмоль/л при среднем значении 28,7 нмоль/л. Содержание эстрадиола находилось в интервале от 104,9 до 396,9 пмоль/л при среднем значении  $191,4 \pm 12,93$  пмоль/л.

У 4-х особей, половые железы которых находятся в индифферентном состоянии (или в связи с задержкой в развитии, или в связи с патологическими изменениями в гонадах) содержание тестостерона оказалось  $15,0 \pm 6,23$  нмоль/л, при варьировании от 186,2 до 506,7 нмоль/л. Количество эстрадиола в крови изменялось от 156,1 до 203,1 пмоль/л, при среднем значении  $176,4 \pm 12,00$  пмоль/л. Среднее содержание тестостерона у них было в 3,58 раза выше, чем в группе незрелых самцов, и в 20 раз выше, чем у самок. Причем у зрелых самцов данный показатель был относительно невысоким, составив 49% от уровня незрелых самцов, и 66% от соответствующего показателя самок.

Достоверные отличия были выявлены лишь по содержанию тестостерона в крови самок и самцов. Данный показатель у самцов был в 3,5 раза выше, чем у самок ( $p < 0,01$ ). Однако при сравнении количества тестостерона в крови самцов и самок с данным показателем у рыб с недифференцированными гонадами достоверных отличий обнаружено не было.

Таким образом, установление половой принадлежности по содержанию половых гормонов в крови на данном этапе развития гонад является очень ненадежным. Несмотря на то, что количество тестостерона достоверно выше у самцов по сравнению с самками, высокие показатели коэффициента вариации данного признака (самки—80%, самцы—71%) не позволяют выявить четких границ для каждого пола и индифферентных особей.

Проведенные исследования показали, что наиболее информативным для определения пола у трехгодовалых бестера является метод прижизненной лапаротомии с визуальной оценкой гонад и взятием биоптата. Метод УЗИ-сканирования несколько уступает по данным параметрам, однако, по сравнению с операционным методом является нетравматичным, но широкому применению метода в осетроводстве препятствует высокая стоимость ультразвуковых сканеров и отсутствие квалифицированных специалистов. Метод определения содержания половых гормонов в крови показал самый низкий уровень информативности и не может быть рекомендован для широкого применения, т.к. требует больших затрат на выполнение исследований и не позволяет получить четких результатов в короткие сроки.

#### *Гомеостаз крови трехгодовалых бестера, перенесших операцию лапаротомии с морфологическим исследованием гонад*

Общее состояние прооперированных рыб было удовлетворительным как сразу после операции, так и в дальнейшем. Они были подвижны, активно плавали в бассейнах и потребляли предлагаемый корм. В области послеоперационной раны в первые 2-3 недели отмечалась более или менее выраженная местная реакция в виде серозно-геморрагического отделяемого, отечности и гиперемии. Иногда отмечалось умеренное (на 1-2 мм) или более сильное (на 3-4 мм) расхождение наружных краев разреза. Практически у всех рыб в раннем послеоперационном периоде отмечалась дряблость спинных мышц, выявляемая при пальпации рыбы, что указывает на снижение тургора тканей. Обнаруживалась также повышенная утомляемость рыб в этот период: вынутые из бассейна особи быстро прекращали сопротивление и вели себя пассивно. Всех прооперированных рыб осматривали ежедневно, обрабатывали рану раствором марганцево-кислого калия, при значительной выраженности признаков местного воспаления повторно вводили антибиотик. В дальнейшем при стихании воспалительного процесса обработку проводили 1 раз в 2 недели.

Через месяц после операции у всех рыб в области послеоперационной раны наблюдался окрепший рубец. Швы были сняты, так как в местах сохранившихся ниток отмечалось

раздражение тканей. Практически все рыбы выжили, за исключением одной, имевшей операции искривление позвоночника, отставание в росте и выраженное истощение к зимовки.

При анализе физиологических показателей (табл. 2) 19 мая, то есть через 1-2 не после операции, различия по сравнению с дооперационным уровнем практически отсутствовали. Это указывает на небольшой повреждающий эффект самой операции. Уже 27 мая отмечено повышение СОЭ в 2 раза, снижение содержания в крови гемоглобина, эритроцитов, тенденция к снижению общего белка сыворотки и альбумина. Через 19 июня сохранялось снижение показателя гемоглобина на фоне значительного улучшения остальных физиологических параметров.

В результате исследования отмечены характерные изменения физиолого-биохимических показателей после операции лапаротомии в виде преходящей анемии, повышения СОЭ и гипопротейнемии. Особенности сроков появления анемии и повышения СОЭ (не ранее чем через две недели после операции) с большой вероятностью позволяют утверждать, основным механизмом их развития у прооперированных рыб является воспалительный процесс в области послеоперационной раны. Повышенные значения СОЭ после проведения операции отражают, несомненно, степень выраженности воспалительного процесса. Показатель снижается при выздоровлении рыбы и может быть использован для мониторинга физиологического состояния после лапаротомии.

Табл. 2  
Физиологические показатели крови бестера до и после операции лапаротомии, М±m

Наименование показателя	До операции		После операции	
	6-13 мая	19 мая	27 мая	26 июня
Гемоглобин, г/л	73,3±1,56	73,9±1,67	50,4±3,00	53,4±1,3
Эритроциты, 10 <sup>12</sup> /л	0,97±0,03	0,97±0,03	0,67±0,06	0,83±0,04
СОЭ, мм/час	4,0±0,16	4,4±0,15	8,35±0,68	4,8±0,16
Общий белок, г/л	22,7±1,23	22,0±1,14	21,0±1,4	28,9±0,7
Альбумин, г/л	6,21±0,26	5,97±0,26	5,46±0,41	8,7±0,19
Холестерин, ммоль/л	2,24±0,32	2,20±0,32	1,43±0,14	2,68±0,0
Триглицериды, ммоль/л	3,03±0,52	2,98±0,52	3,79±0,36	4,50±0,2
β-липопротеиды, г/л	1,26±0,17	1,20±0,15	1,03±0,09	1,66±0,0

Таким образом, проведение операции лапаротомии после зимовки при температуре 10-14<sup>0</sup>С с целью прижизненного исследования гонад у трехгодовиков бестера приводит к возникновению местного воспалительного процесса и умеренно выраженным преходящим изменениям физиологических показателей крови (повышение СОЭ, анемия, гипопротейнемия). При хороших условиях содержания, своевременной обработке раны антисептиками и введении антибиотиков через месяц рана полностью заживает. Выздоровление рыб подтверждено динамикой физиологических показателей и последующим хорошим темпом роста.

## ВЫВОДЫ

1. Выявлено значительное повышение рыбоводно-биологических параметров трехлетнего выращивания бестера при комбинировании регулируемого и естественных температурных режимов, включающем раннее получение рыбопосадочного материала, продление периода выращивания на 3,5 месяца и сокращение зимовки на первом году жизни на 2 месяца.

2. Раннее получение и сокращение времени зимовки вдвое укорачивает у бестера продолжительность индифферентного периода развития гонад и приводит к массовой дифференцировке половых желез сеголетков (70% случаев), в то время как при традиционных сроках получения дифференцировка гонад у сеголетков бестера произошла лишь в 30% случаев.

3. Определены физиолого-биохимические параметры крови систем эритроцитов, общего белка и липидного обмена бестера на этапах выращивания при разных

технологических режимах, которые могут быть использованы для оценки состояния адаптации.

4. Установлена высокая результативность ультразвукового сканирования гонад у бестера ремонтных групп для выявления направления половой дифференцировки при достижении массы тела не менее 1,65 кг.

5. Выявлена эффективность определения пола у бестера методом лапаротомии, позволяющим определить половую принадлежность на стадии трехгодовика у самок в 90,2%, у самцов – в 40,7%.

6. Гомеостаз крови трехгодовиков бестера, перенесших операцию лапаротомии, характеризуется умеренно выраженными преходящими изменениями физиологических показателей крови в виде повышения СОЭ, анемии, гипопротеинемии.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для ускоренного формирования репродуктивных стад осетровых рыб осуществлять первый год выращивания при регулируемом температурном режиме, который позволяет провести раннее получение рыбопосадочного материала, продление периода выращивания при благоприятных температурах на 3,5 месяца и сокращение зимовки на первом году жизни до 2 месяцев.

2. Оптимальное соотношение самок и самцов в ремонтных группах бестера, выращиваемого при естественном температурном режиме в условиях Юга России, следует устанавливать в возрасте трехгодовика, а выращиваемого с продлением периода благоприятных температур и сокращением срока зимовки, - на втором году, либо в возрасте двухгодовика, после прижизненного распознавания пола при лапаротомии с визуальным исследованием гонад и УЗИ-сканирования.

3. Состояние адаптации трехгодовиков бестера устанавливать через 1,5 месяца после выполнения лапаротомии по показателям физиологического гомеостаза крови (СОЭ, гемоглобин крови, общий белок и альбумин сыворотки).

## СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Дегтярева С.С.(Астафьева), Лозовский А.Р. Физиолого-биохимические показатели бестера ремонтных групп после лапаротомии с целью оценки состояния гонад // Генетика, селекция и воспроизводство рыб. Доклады Первой Всероссийской конференции. СПб: ФГУП ФСГЦР, 2002. - С. 89-91.

2. Дегтярева С.С.(Астафьева), Лозовский А.Р., Федосеева Е.А. Морфологический мониторинг при формировании ремонтно-маточного стада бестера // Биология внутренних вод: проблемы экологии и биоразнообразия. Тезисы докладов XII Международной конференции молодых ученых.- Борок, 2002.- С. 120-121.

3. Дегтярева С.С.(Астафьева), Лозовский А.Р. Адаптационные физиологические реакции бестера ремонтных групп после обследования гонад методом лапаротомии // Эколого-физиологические проблемы адаптации. Материалы XI Международного симпозиума.- М.: Изд-во РУДН, 2003.- С. 162-163.

4. Лозовский А.Р., Дегтярева С.С. (Астафьева) Управление половой структурой ремонтно-маточных стад осетровых // Естественные науки.- 2003.- № 6.- С. 12-16.

5. Дегтярева С.С.(Астафьева), Лозовский А.Р. Гонадогенез и содержание половых гормонов в крови у сеголетков бестера различных пород // Аквакультура осетровых рыб: Достижения и перспективы развития: Материалы докл. III Международной научно-практической конференции. – Астрахань, 2004. – С. 171-174.

6. Дегтярева С.С.(Астафьева), Лозовский А.Р. Прижизненная оценка гонадогенеза бестера, выращиваемого по комбинированной технологии в условиях Юга России //Вестник КБГУ. Серия Биологические науки. Выпуск 6. - Нальчик, 2004. – С. 34-36.

7. Дегтярева С.С.(Астафьева), Лозовский А.Р. Физиологическое состояние трехгодовиков бестера после прижизненного исследования гонад при лапаротомии // Человек и

животные: Материалы II Международной научно-практической конференции. - Астрахань: Изд-во АГУ, 2004. - С. 223-227.

8. Судакова Н.В., Дегтярева С.С.(Астафьева), Федосеева Е.А., Балакирев Касаева С.Ю. Сравнительная характеристика рыбоводных и морфофизиологических показателей сеголетков бестера при выращивании в садках и бассейнах // Аквакультура интегрированные технологии: проблемы и возможности: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию Московской рыбоводно-мелиоративной станции и 25-летию её реорганизации в ГНУ ВНИИР. Т.2 – Москва, 2005. – С. 35-41.

9. Дегтярева С.С.(Астафьева), Судакова Н.В. Гонадогенез бестера при выращивании по комбинированной технологии //Вестник Кабардино-Балкарского университета. (Серия Биологические науки. – Вып. 7. – Нальчик: Каб.-Балк.ун-т, 2005. – С.110-113.

10. Федосеева Е.А., Дегтярева С.С.(Астафьева) Морфометрические показатели бестера при выращивании в садках и бассейнах // Человек и животные: Материалы Международной научно-практической конференции. - Астрахань: Изд-во АГУ, 2005. – С. 107.

11. Дегтярева С.С.(Астафьева) Влияние сроков получения на гонадогенез сеголетков бестера // Проблемы сохранения и рационального использования биоразнообразия Прикаспийского региона: Материалы III Международной заочной научной конференции Ассоциации университетов Прикаспийских государств. Выпуск 2. – Элиста: Изд-во КГУ, 2005. – С. 99-101.

12. Федосеева Е.А., Дегтярева С.С.(Астафьева) Сравнительный анализ физиологического состояния молоди бестера при выращивании в различных технологических режимах // Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов Мирового океана. Международная научно-практическая конференция: Материалы конференции. – М.: Изд-во ВНИРО, 2005. – С. 137-138.

13. Астафьева С.С., Федосеева Е.А., Судакова Н.В. Особенности формирования и развития бестера при выращивании в различных технологических режимах //Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Материалы докладов IV Международной научно-практической конференции. – М.: Изд-во ВНИРО, 2006. – с. 63 – 66.

14. Федосеева Е.А., Астафьева С.С. Гематологические нормы молоди осетровых рыб при выращивании в различных технологических режимах //Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития: Материалы докладов IV Международной научно-практической конференции. – М.: Изд-во ВНИРО, 2006. – с. 273 – 275.

15. Федосеева Е.А., Астафьева С.С. Физиологические нормы молоди бестера при выращивании в различных технологиях //Рыбное хозяйство, 2006 – № 2 – С. 68-69.

16. Астафьева С.С., Федосеева Е.А., Судакова Н.В. Применение метода сканирования для ранней диагностики пола у осетровых рыб //«Состояние и перспективы развития фермерского рыбоводства аридной зоны»: Тезисы докладов международной научно-практической конференции.- Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2006. – С. 20-22.

17. Васильева Л.М., Яковлева А.П., Щербатова Т.Г., Петрушина Т.Н., Тяпугин И.А., Китанов А.А., Архангельский В.В., Судакова Н.В., Астафьева С.С., Федосеева Е.А. Технолого-экономические и нормативы по товарному осетроводству в VI рыболовной зоне / Под. Ред. Н.В. Судакова. М.: Изд-во ВНИРО, 2006. – 100 с.

18. Астафьева С.С., Федосеева Е.А. Информативность различных методов прижизненной диагностики пола у осетровых рыб //Вестник Кабардино-Балкарского университета. Серия Биологические науки. – Вып. 8. – Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2006. – С. 54.

19. Астафьева С.С., Федосеева Е.А., Судакова Н.В. Особенности применения ультразвуковой диагностики пола у осетровых рыб //Тепловодная Аквакультура и биологическая продуктивность водоемов аридного климата: Международный симпозиум 18 апреля 2007 г.: материалы и доклады / Редкол.: Ю.Т. Пименов (и др.); отв. ред. Пономарев; Астрахан. гос. техн. ун-т. – Астрахань: изд-во АГТУ, 2007. – С. 291-293.

20. Федосеева Е.А., Касаева С.Ю., Астафьева С.С. Оценка физиологических показателей бестера при выращивании в садках и бассейнах // Аквакультура интегрированные технологии: проблемы и возможности: Материалы международной научно-практической конференции, посвященной 60-летию Московской рыбоводно-мелиоративной станции и 25-летию её реорганизации в ГНУ ВНИИР. Т.2 – Москва, 2005. – С. 35-41.

состояния молоди осетровых при интенсивном выращивании // Проблемы иммунологии, патологии и охраны здоровья рыб и других гидробионтов – 2. Расширенные мат-лы Межд. науч-прак. конф. – Борок – Москва, 2007. – С. 427-430.

21. Патент на изобретение №2332844 «Способ ранней прижизненной диагностики пола у осетровых видов рыб и их гибридов» ФГУП «НПЦ «БИОС» (авторы Астафьева С.С., Судакова Н.В., Федосеева Е.А.) от 17.01.2008 г.

22. Досаева В.Г., Васильева Т.В., Астафьева С.С. Выращивание крупной молоди осетровых, как один из путей сохранения реликтовой фауны Каспийского моря в период антропогенного воздействия. //Проблемы изучения и сохранения позвоночных животных антропогенных водоемов: Материалы Всероссийской научной конференции с международным участием. – Саранск, 2010. – С. 28-31.

23. Астафьева С.С. Методы прижизненной диагностики пола у осетровых рыб и их информативность // Естественные науки.- 2011.- № 1 (34).- С. 91-96.

24. Астафьева С.С., Лозовский А.Р. Влияние различных режимов выращивания на развитие воспроизводительной системы у осетровых рыб // Естественные науки.- 2011.- № 1 (34).- С. 144-148.

