



005014991

На правах рукописи

КОРЧУНОВ АЛЕКСАНДР АЛЕКСАНДРОВИЧ

**ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ
РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ И НЕРЕСТА
СТЕРЛЯДИ (*ACIPENSER RUTHENUS* LINNAEUS, 1758)
ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В УСТАНОВКАХ
ЗАМКНУТОГО ВОДООБЕСПЕЧЕНИЯ**

Специальность 06.04.01. – рыбное хозяйство и
аквакультура

Автореферат диссертации на соискание ученой
степени кандидата биологических наук

12 МАР 2012

Новосибирск 2012

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Южный научный центр Российской академии наук (ЮНЦ РАН)

Научный руководитель:

доктор биологических наук,
профессор

Пономарева Елена Николаевна

Официальные оппоненты:

Зав. каф. Водные биоресурсы и аквакультура,
филиала МГУТУ имени К.Г. Разумовского в г. Ростов-на-Дону
доктор биологических наук,
профессор

Абросимова Нина Акоповна

ФГБНУ Институт экологии рыбохозяйственных водоемов
г. Красноярск
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник

Заделенов Владимир Анатольевич

Ведущая организация:

ГОУ ВПО «Дагестанский государственный университет»

Защита состоится 21 марта 2012 г. в 10-00 часов на заседании диссертационного совета ДМ. 220.048.06 при ФГБОУ ВПО «Новосибирский государственный аграрный университет» по адресу: 630039, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке НГАУ
Автореферат разослан « » 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Кропачев Д.В.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. В последние десятилетия наблюдается спад промышленного рыболовства, а после введения исключительных экономических зон в большинстве мировых рыболовных держав возникла ограниченность естественной сырьевой базы для его развития. Промысловая нагрузка на традиционные, наиболее востребованные объекты превысила допустимый уровень. Это привело к снижению запасов водных биоресурсов естественного происхождения (Никоноров, 2006; Матишов, 2011).

Многие страны из числа мировых рыболовных держав переключились на разведение, выращивание и содержание объектов в индустриальных условиях. Весьма перспективными представляются технологии разведения рыб в условиях замкнутого водоснабжения (УЗВ), которые позволяют снизить нагрузку на естественные популяции рыб и могут быть использованы для производства экологически чистой осетровой продукции (Жигин, 2003; Матишов и др., 2008).

Исследования по выращиванию стерляди в индустриальных условиях послужили основой для разработки биотехнологии формирования и эксплуатации маточных стад стерляди в регулируемых условиях. В то же время, до сих пор существует необходимость разработки новых биотехнологий расширенного воспроизводства и товарного выращивания осетровых рыб, в том числе стерляди (Макаров и др., 1998; Измайлов, 2001; Заделенов, 2010; Пономарева и др., 2011).

Стерлядь, являясь пресноводным видом, в отличие от белуги, осетра и севрюги, не будет уходить в море, оставаясь в пределах реки. Это значительно упростит и сделает более эффективной ее охрану, появляется реальная возможность не только восстановления популяций этого вида осетровых в пределах нативного ареала, но и использование его как объекта товарного осетроводства (Пономарева и др.; 2009).

Для товарного осетроводства стерлядь является одним из перспективных объектов, так как обладает высокими вкусовыми качествами, быстро созревает в естественных условиях водной среды и может быть использована для выращивания в установках замкнутого водообеспечения.

Цели и задачи: Целью исследований явилось изучение особенностей развития репродуктивной системы стерляди, разработка метода регулирования нереста в контролируемых условиях водной среды, определение основных направлений формирования высокопродуктивного стада стерляди в зарегулированных условиях водной среды.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

- изучить особенности развития репродуктивной системы стерляди в разных термических режимах;
- выявить межнерестовый интервал стерляди в зарегулированных условиях водной среды;
- определить оптимальное время введения стерляди в состояние искусственной зимы;
- разработать комплексную методику регулирования нереста стерляди в условиях замкнутого цикла;
- выявить основные особенности формирования репродуктивного маточного стада стерляди с коротким межнерестовым интервалом.

Научная новизна: На основе исследования развития репродуктивной системы стерляди установлены сроки достижения половой зрелости и интенсивность генеративного обмена в оптимальных термических и трофических условиях среды, определено количество тепла, необходимого самкам и самцам для завершения гаметогенеза и развития репродуктивных клеток между нерестами. Определена длительность искусственной зимы для производителей стерляди и ее зависимость от завершающих стадий гаметогенеза, что позволяет более точно спрогнозировать время овуляции икры и созревание сперматозоидов.

Впервые разработана комплексная методика подготовки стерляди к нересту при моделировании условий водной среды (в период нерестовой миграции, зимы и нереста) с использованием комплекса биологически активных веществ (витаминов) в установке замкнутого водообеспечения.

Определены основные аспекты формирования репродуктивного стада стерляди от молоди и производителей, адаптированных к условиям стабильного температурного режима и резерва криоконсервированных репродуктивных клеток самцов (спермы) из криобанка.

Практическая значимость. Результаты данной работы могут быть использованы для дальнейшего совершенствования технологии содержания ремонтно-маточного стада стерляди в регулируемых условиях водной среды. Разработанные технологические методы могут быть применимы как для коммерческих предприятий по товарному выращиванию осетровых, так и для заводов по воспроизводству осетровых видов рыб. Предложенные методы направлены на улучшение репродуктивного качества производителей стерляди, получаемых половых продуктов и потомства (икра, личинки, молодь).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Особенности развития репродуктивной системы стерляди и ее межнерестовые интервалы в зарегулированных условиях водной среды;
2. Комплексная методика регулирования нереста в условиях УЗВ;

3. Оптимизация методов содержания и формирования маточного стада стерляди в регулируемых условиях водной среды

Апробация работы. Основные материалы диссертационной работы докладывались на ежегодных научных конференциях студентов и аспирантов базовых кафедр ЮНЦ РАН (Ростов-на-Дону 2009 – 2011 гг.), на 57-й научной студенческой конференции Астраханского государственного технического университета (АГТУ) в 2007 г., на Международной научной конференции «Современные проблемы морской инженерной экологии (изыскания, ОВОС, социально-экономические аспекты)» (Ростов-на-Дону 2008 г.), на Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы охраны здоровья рыб и других гидробионтов» (Феодосия 2008 г.), на I Международной научно-технической конференции «Биотехнологические процессы и продукты переработки биоресурсов водных и наземных экосистем» (Астрахань 2008 г.), на Международной конференции «Инновационные технологии аквакультуры» (Ростов-на-Дону, 2009 г.), на Международной научно-практической конференции «Морские биотехнические системы. Биологические и технические аспекты» (Ростов-на-Дону 2009 г.), на 54-й Международной научной конференции профессорско-преподавательского состава Астраханского государственного технического университета, посвященной 80-летию основания Астраханского государственного технического университета (Астрахань 2010 г.), на Международной научно-практической конференции молодых ученых «Pontus Euxinus 2011» (Севастополь 2011 г.), на международной конференции «Осетровые рыбы и их будущее» (Бердянск 2011 г.)

Публикации: По теме диссертации опубликовано 19 работ, в том числе 4 в журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ

Структура и объем диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, 5 глав, заключения, выводов, и практических рекомендаций. Общий объем 120 страниц, 29 рисунков, 34 таблицы. Список литературы включает 141 источник, из них 20 иностранных.

Глава I. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

В главе рассмотрены особенности биологии стерляди популяции Нижнего Дона и Нижней Волги, современное состояние запасов, дан всесторонний анализ факторов природного и антропогенного характера влияющих на популяции этого вида осетровых рыб. Рассмотрены вопросы искусственного разведения вида для целей воспроизводства и товарного рыбоводства, определены достоинства и недостатки современных биотехнологий, методов формирования

высокопродуктивных маточных стад стерляди в садках, бассейнах, прудовых хозяйствах на теплых водах и рыбоводных установках.

Глава II. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Научная работа была выполнена в лаборатории водных биоресурсов и аквакультуры на базе экспериментального аквариального комплекса «Кагальник» Южного научного центра Российской академии наук в период с 2005 по 2011 г.

Материалом для исследований послужила разновозрастная стерлядь (*Acipenser ruthenus* Linnaeus, 1758) донской, волжской и окской популяций, завезенных с хозяйств Астраханской, Волгоградской, Тульской и Ростовской областей.

Схема научных исследований представлена на рисунке 1.

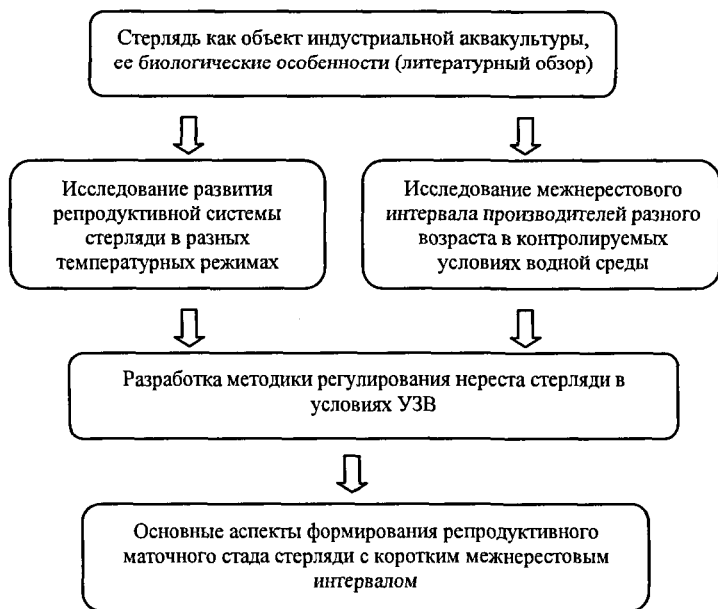


Рис. 1. Схема проведения исследований

Все экспериментальные работы проводились в аквариальном комплексе, состоящем из помещений, имеющих несколько установок замкнутого водообеспечения. Системы позволяют регулировать температуру воды, течение и другие параметры водной среды с заданным интервалом, проводить исследования независимо от сезона года. В зимний период поддерживали температуру за счет газового отопления, в

летний период – за счет кондиционирования воздуха сплит-системами. Суточное обновление воды в системе не превышало 5% от ее общего объема.

Содержание растворенного кислорода измеряли термооксиметром CyberScan DO 300 производства США и Марк 201 отечественного производства, pH – прибором Hanna. Количество нитритов, нитратов, фосфора, БПК₅ и другие показатели химического состава воды определяли с использованием прибора «Капель «105» в специализированной лаборатории.

В установке имеется контрольно-измерительная система, состоящая из многофункционального дисплея (сенсорный экран), который в разных режимах выводит информацию о количестве растворенного кислорода, pH и температуре воды в бассейнах, и датчиков. Информация может быть представлена на дисплее в разных вариантах. Диапазон рабочих температур датчика от 0°C до +50°C, диапазон измерения кислорода от 0 до 20 мг/л (O₂), или 0–200% насыщения.

Исследование половой принадлежности проводили с помощью ультразвукового сканера Sono Scape. Пробы гонад отбирали экспресс методом с использованием полуавтоматической биопсийной системы и рыбоводного щупа.

Состояние зрелости ооцитов определяли по методу В.З. Трусова (1964). Расчет величины коэффициента поляризации ооцита производится по формуле: $K_p = l/L \times 100\%$, где: K_p – коэффициент поляризации ооцита; l – расстояние от верхней части ядра до оболочки икринки; L – расстояние от нижней части икринки до анимального полюса.

Активность спермы определяли по шкале Г.М. Персова (1948).

Анализ химического состава тела исследуемой рыбы выполнялся в специализированной лаборатории методами, рекомендованными М.А. Щербиной (1983): содержание влаги – высушиванием при температуре 105°C, жира – экстракционным методом в аппарате Сокслета, содержание белка – по Кьельдалю, золы – сжиганием в муфельной печи при температуре 500°C (Щербина, 1983).

Экстракцию липидов выполняли по методу и J. Folch (1957), разделение липидов на фракции – способом тонкослойной хроматографии (Шталь, 1965).

Холестерин определяли по методу Либермана-Бурхарда, модифицированного С. Ильком, эфиры холестерина с использованием дигитонина (Пса, 1962), глицеринов – по цветной реакции с хромотроповой кислотой (Биохимические методы..., 1969), незэстерифицированных жирных кислот – колориметрически с использованием медного реактива (Yang Jeun-Sing, Biggs, 1971).

Жирные кислоты определяли методом газожидкостной хроматографии на хроматографе «ЦВЕТ-5».

При подготовке производителей к нересту использовали специальную методику с применением комплекса витаминов С, Е и В₁₂ (Сорокина, 2004; Ковалева, 2006).

Для гормональных инъекций использовали гипофиз карпа, а также синтетический гормональный препарат LH-RHa (Luteinizing Hormone – Releasing Hormone Ethylamide) (сурфагон).

Получение икры проводили по методу С.Б. Подушка (1986), спермы методом отцеживания. Осеменение икры нативной и криоконсервированной спермой проводили по общепринятой методике (Иванов, 1988).

Регулярно 2 раза в месяц проводили контрольные измерения массы, длины и некоторых пластических признаков по общепринятым методикам (Правдин, 1966).

Кормление проводили специализированными комбикормами по рассчитанным нормам.

Для характеристики крови исследуемых рыб использовали следующие показатели: содержание гемоглобина, величина гематокрита, количество эритроцитов и уровень сывороточного белка по общепринятым методикам (Голодец, 1974; Лиманский и др., 1986; Пономарев и др., 2002).

Уровень сывороточного белка определяли с помощью рефрактометра марки ИРФ-454 Б2М.

Концентрацию общего холестерина в сыворотке крови определяли энзиматическим колориметрическим методом (Fishbach, Dunning, 2004), концентрацию общих липидов – с помощью сульфофосфованилиновой реакции (Барышков и др., 1966).

Среднесуточную скорость роста рыб вычисляли по формуле сложных процентов (Castell, Tiewes, 1979):

Опыты по определению интенсивности роста и созревания проводили в двукратной повторности, данные подвергали статистической обработке по Г.Ф. Лакину (1990) с применением персонального компьютера. Сравнительные признаки оценивали с помощью критерия достоверности Стьюдента.

Всего выполнено 3500 взвешиваний и измерений разновозрастной стерляди. Обработано около 200 гематологических и 240 биохимических проб. В экспериментах использовано 150 экз. производителей стерляди, а также икра, личинки и молодь.

Глава III. ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ И СОЗРЕВАНИЯ СТЕРЛЯДИ В ЗАРЕГУЛИРОВАННЫХ УСЛОВИЯХ ВОДНОЙ СРЕДЫ

К механизмам управления репродуктивной функцией рыб можно отнести регулирование сроков достижения половой зрелости самок и самцов за счет изменения продолжительности ранних фаз развития половых клеток и периодичности нереста (Шатуновский, Рубан, 2010).

В задачу наших исследований входило изучение биологических особенностей репродуктивной системы стерляди в зарегулированных условиях водной среды.

Ранее проведенные исследования в условиях Донского осетрового завода выявили, что использование температурного режима 18-22⁰С сокращает сроки получения зрелых производителей на 1-2 года в отличие от созревания в естественных условиях.

В дальнейшем использование системы замкнутого водоснабжения с регулируемыми параметрами водной среды позволило проводить исследования в течение всего годового цикла и рассчитать количество тепла, необходимого для развития репродуктивных клеток стерляди до 4-й завершённой стадии.

Содержание донской стерляди в специальных пластиковых бассейнах с регулируемым гидрологическим режимом позволило получить полностью созревших производителей в течение 2-3-х лет.

В бассейнах с рыбой средняя температура воды в первые 12 месяцев выращивания составила 20,5 – 21,5⁰С, насыщение кислородом 76,61%, значения рН колебались в пределах от 7,60 до 8,10. Оптимизация основных показателей водной среды способствовала успешному выращиванию стерляди разных популяций.

Дальнейшие исследования были направлены на изучение роста стерляди при высоких плотностях посадки. Опыты с молодьё донской стерляди показали, что этот вид можно выращивать при более плотных посадках. Установлено, что выращивание молоди целесообразно проводить при плотности посадки до 500 шт./м², годовиков и двухлетков - 60-80 кг/м³, ремонт – 25 кг/м³. За время выращивания волжской стерляди в установке замкнутого водообеспечения при высоких плотностях посадки она показала хороший рост и высокую выживаемость.

При расчете теплового запаса очень часто используют только период времени, проведенный рыбой при так называемой эффективной температуре, от нерестового оптимума до температуры, когда рыба перестает питаться, в среднем этот диапазон находится в пределах 16–27⁰С (Чебанов и др., 2008; Чебанов, Галич, 2010). По нашему мнению, для расчета следует принимать более широкий диапазон температуры,

так как многими авторами доказано, что эффективной температурой для стерляди является диапазон от 8 до 27⁰С, и стерлядь при зимних температурах в пределах от 6 до 11⁰С не перестает питаться, при этом генеративный обмен несколько замедляется. Поэтому получены более точные данные необходимого тепла для развития репродуктивных клеток до первого нереста и в межнерестовом интервале.

Проведено сравнение показателей впервые созревающих особей, содержащихся при разном температурном режиме. При температуре 21,5⁰С в возрасте 21 месяц можно было выделить из стада донской стерляди созревших самцов в количестве 15% (табл. 1).

Таблица 1

Показатели впервые созревших самцов при разном термическом режиме

Показатели	Температурный режим		
	18-22 ⁰ С	21,5 ⁰ С	Естественные температуры
Время первого созревания самцов, мес	24	21	36
% созревших самцов	11	15	10
Количество градусо-дней	14998,6	13760	15531

В возрасте 31 месяца самки донской стерляди находились на 4-й стадии зрелости и были готовы к нересту. Количество градусо-дней для созревания самок составило 21586,5, при среднесуточной температуре 21,5⁰С. При исследовании гонад донской стерляди генерации 2005 года были получены следующие результаты: на 4-й завершённой стадии зрелости гонад оказалось 35% самок (табл. 2).

Таблица 2

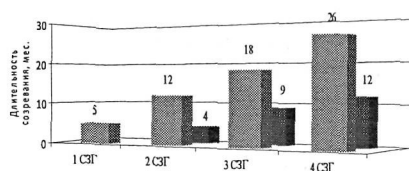
Показатели самок, созревших при разном термическом режиме

Показатели	Температурный режим		
	18-22 ⁰ С	21,5 ⁰ С	Естественные температуры
Время первого созревания самок, мес	37	31	48
% созревших самок	12	35	9
Количество градусо-дней	23022,8	21586,5	24323,5

У исследуемого вида осетровых рыб для полного завершения гаметогенеза самкам необходимо набрать в среднем от 19800 до 20600 градусо-дней, что достигается за 26–31 месяц выращивания в УЗВ. При

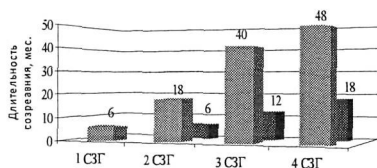
выращивании рыб в естественном термическом режиме данное количество градусо-дней возможно набрать за 48–49 мес.

Динамика развития репродуктивных клеток самок стерляди в зарегулированных и естественных гидрологических условиях представлена на диаграммах (рис. 1, 2).



■ Сроки созревания рыб ■ Длительность повторного созревания рыб

Рис. 1. Динамика развития репродуктивной системы стерляди в зарегулированных условиях водной среды



■ Сроки созревания рыб ■ Длительность повторного созревания

Рис. 2. Динамика развития репродуктивной системы стерляди на фоне естественного термического режима

Самки повторно созревают уже через 11-12 месяцев, при естественных температурах через 18–20 месяцев.

Проводя оценку качества ооцитов на завершающем этапе развития (3–4 СЗГ) каких-либо отклонений обнаружено не было. Оболочки ооцитов сформированы без каких-либо нарушений, в цитоплазме не отмечено никаких аномальных включений, коэффициент поляризации ядра изменялся в соответствии с биологическими особенностями формирования ооцитов у данного вида рыб (рис. 3).

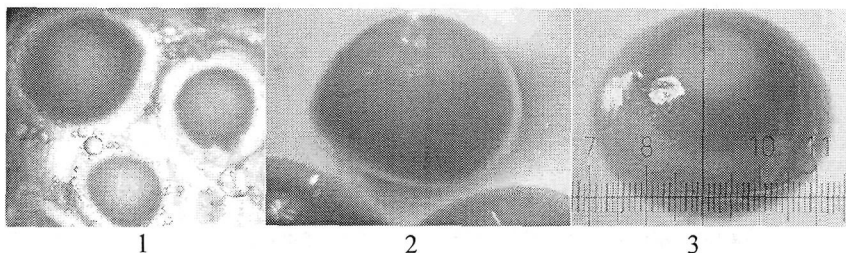


Рис. 3. Ооциты стерляди на различных стадиях развития: 1 – вторая начальная стадия развития; 2 – третья стадия развития; 3 – четвертая стадия развития

Таким образом, показано, что интенсивность развития репродуктивной системы исследованных рыб зависит от гидрологических условий водной среды. В результате проведения экспериментов по исследованию репродуктивной системы стада

стерляди волжской и донской популяции было определено время созревания и скорость развития репродуктивной системы.

Исследование интервала между нерестами стерляди в зарегулированных условиях водной среды

Содержание рыб при стабильном температурном режиме 21,5^oC позволило получить зрелых производителей донской стерляди через 11,5 месяцев, волжской – через 12 месяцев. Следует отметить, что некоторые особи донской стерляди (самцы и самки) с половыми клетками на 4-й незавершенной стадии зрелости были отмечены уже через 9–10 месяцев, волжской – 10–11 месяцев. Третий интервал между нерестами у стерляди волжской и донской популяции был самым коротким. Результаты созревания представлены в таблице 3.

Периодичность нереста изменяется и в течение онтогенеза, доля генеративного обмена в общем обмене возрастает, за исключением процесса старения (Шатуновский, Рубан, 2010)

Впервые созревающие особи, как правило, обладают более низкими репродуктивными качествами, плодовитостью и дают меньше икры. Особи, дающие потомство во второй и последующие разы.

Таблица 3

Длительность межнерестового периода стерляди в зарегулированных условиях

Пол	Первый межнерестовый интервал (мес.)		Второй межнерестовый интервал (мес.)		Третий межнерестовый интервал (мес.)	
	1	2	1	2	1	2
Волжская стерлядь						
♀	11	12	9	10	7,5	8,0
♂	10	11	8	9	7,0	7,5
Донская стерлядь						
♀	10	11	8	9	6,5	7,0
♂	9	10	9	10	6,0	6,0

Примечание: 1 – IV стадия незавершенная; 2 – IV стадия завершенная

Установлено, что при повторном созревании у самок стерляди увеличивается плодовитость, а также размер икры, что позволяет получить больше потомства, которое будет более жизнеспособным по сравнению с первым нерестом

Глава IV. РАЗРАБОТКА МЕТОДА СТИМУЛИРОВАНИЯ НЕРЕСТА СТЕРЛЯДИ В ЗАРЕГУЛИРОВАННЫХ УСЛОВИЯХ ВОДНОЙ СРЕДЫ

В природных условиях нерест стимулируется теми или иными факторам (освещенность водоема, температура и химический состав воды и т. п.), которые запускают сложный механизм, регулирующий созревание половых продуктов рыб и сам процесс нереста, ускоряя его или задерживая.

Имитирование при искусственном выращивании условий окружающей среды, к которым стерлядь приспособилась в процессе эволюции в местах ее естественного обитания, создает стимулы, обеспечивающие выживаемость и качество получаемого от рыб потомства.

Перед нерестом при выращивании стерляди в условиях замкнутого водоснабжения проводили искусственную зиму для оптимизации работы эндокринной системы. В бассейнах, где содержались рыбы в преднерестовый период, снижали температуру воды до 6⁰С, постепенно в течение недели на 1–1,5⁰С в сутки. При такой температуре содержали производителей 1, 2, 3 и 4 недели.

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

В зависимости от особенностей производителей стерляди была подобрана оптимальная схема введения рыб в нерестовое состояние (табл. 4).

Таблица 4

Влияние продолжительности искусственной зимы на производителей стерляди при выращивании в УЗВ

Продолжительность искусственной зимы (недели)	1 неделя	Малозэффективно, созрели 10–20 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов 7–8, время созревания более 32–36 часов
	2 недели	Оптимально, созрели 80–100 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов 9–11, время созревания от 24 до 28 часов
	3 недели	Оптимально, созрели 80–100 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов 9–11, время созревания от 22 до 26 часов
	4 недели	Неэффективно, оказало негативное влияние на ооциты рыб с высоким коэффициентом поляризации 7–9 (разрушение оболочек ооцитов). Возможно для рыб с низким коэффициентом поляризации ооцитов 13–15. Время созревания 24–28 часов и более

В результате исследований было выявлено, что оптимальными являются два варианта, при проведении искусственной зимы в течение 2-х и 3-х недель. В этих вариантах были получены положительные результаты. В первом варианте было затянато время созревания до 36 часов. В последнем у рыб с высоким коэффициентом поляризации отмечалось разрушение оболочек ооцитов. Четвертый вариант можно применять для рыб с низким коэффициентом поляризации ооцитов (13–15).

Следующая серия экспериментов была проведена на производителях волжской стерляди, которых готовили к нересту с использованием витаминов (С, Е и В₁₂) и искусственной зимы в течение 2 недель. Такая подготовка позволила увеличить созревание самок на 10%, оплодотворение икры на 20%, количество развивающихся эмбрионов на 15% и их выход на 20%, а также сократить аномалии в развитии эмбрионов на 10% (рис. 4).

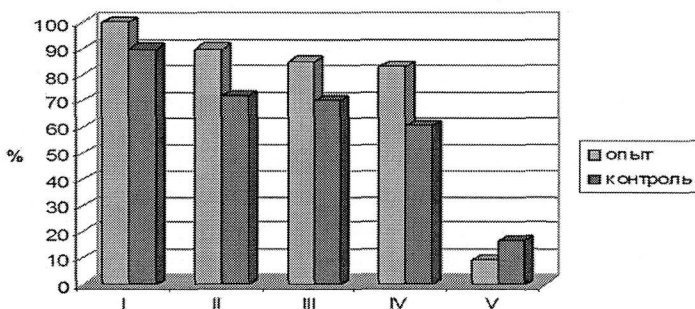


Рис. 4. Результаты использования комплекса витаминов при подготовке производителей стерляди к нересту при искусственной зиме и естественных температурах: I – % созревания, II – % оплодотворения, III – % развивающихся эмбрионов, IV – выход эмбрионов %, V – % аномалий развития

Далее были проведены эксперименты по регулированию течения воды. Для стимулирования созревания производителей стерляди поддерживали определенный режим течения воды – 0,2–0,5 м/с, который наблюдается при нагуле в реке. Скорость течения в период подготовки производителей к нересту изменяли в соответствии с особенностями нерестовой миграции стерляди в естественных условиях обитания от 0,6 до 0,7 м/с. В период пониженных температур, во время зимовки, скорость течения поддерживали на уровне 0,1 м/с, что соответствует значениям в естественной среде обитания.

В результате исследований удалось в значительной степени приблизить к естественным гидрохимические и гидрологические условия

искусственного содержания, выращивания и преднерестовой подготовки осетровых рыб и внести дополнения в схему регулирования нереста (рис. 5).

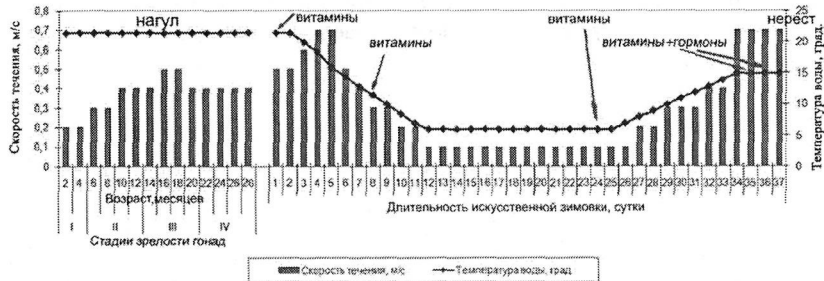


Рис. 5. Схема комплексной подготовки производителей стерляди к нересту

Использование новой комплексной методики позволило увеличить эффективность нереста стерляди в установке замкнутого водообеспечения и получить зрелых производителей с хорошими репродуктивными показателями, высоким процентом созревания самок и самцов от 98 до 100, увеличить процент оплодотворения до 95.

Глава V. ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ МАТОЧНОГО СТАДА СТЕРЛЯДИ В УЗВ

Формирование ремонтно-маточного стада стерляди в аквариальном комплексе береговой научно-экспедиционной базы «Кагальник» ЮНЦ РАН проводили с 2004 по 2011 гг.

Формировать стадо начали по двум направлениям, от завезенной молоди, от завезенных производителей, и, в дальнейшем, от потомства, полученного в условиях УЗВ.

Кроме того, нами были намечены основные направления отбора:

- отбор в стадо рыб с коротким интервалом между нерестами (8–10 месяцев);
- отбор в стадо производителей, обладающих высокими экстерьерными и репродуктивными качествами (масса, длина, раннее созревание, высокая плодовитость);
- отбор качественного потомства в ремонтную группу для ежегодного пополнения стада.

Содержание производителей стерляди в специальных пластиковых бассейнах системы УЗВ с регулированием гидрологического режима позволило сформировать продуктивное маточное стадо в течение 3-х лет.

Полное тестирование ремонтно-маточного стада стерляди волжской и донской популяции проведено в 2010–2011 гг. Установлено, что экспериментальное стадо донской стерляди содержит 58 самок, 25 самцов и 150 экз. ремонта; волжской стерляди – 57 самок, 23 самца и 170 экз. ремонта. В 2009 году в стадо была введена линия окской стерляди в количестве 30 самок.

Биологическая характеристика стада донской стерляди представлена в таблицах 5, 6.

Таблица 5

Характеристика самок маточного стада донской стерляди, сформированного от молодежи (генерация 2005 г.)

Возраст	Масса, кг	Длина, см	Рабочая плодовитость, тыс. шт.	Относительная плодовитость, тыс. шт/кг массы	Интервал между нерестами, мес.
3+	0,97±0,08	60,21±1,59	15,5±1,50	15,9±1,62	9,0
4+	1,09±0,16	62,32±1,71	22,66±1,91	20,78±1,58	8,0
5+	1,38±0,20	65,12±1,68	36,32±1,52	26,32±2,20	7,5

Таблица 6

Характеристика самок маточного стада донской стерляди, сформированного от производителей (генерация 2006 г.)

Возраст	Масса, кг	Длина, см	Рабочая плодовитость, тыс. шт.	Относительная плодовитость, тыс. шт/кг массы	Интервал между нерестами, мес.
4+	1,25±0,11	62,85±1,72	24,92±1,62	19,9±1,90	8,0
5+	1,46±0,13	66,21±1,30	30,51±2,12	20,89±1,68	7,8
6+	1,65±0,16	68,10±1,31	35,41±1,78	21,46±1,72	7,5

Стадо производителей стерляди пополняется каждый год новыми особями на 30%, из них 10% при завозе взрослых особей, 10% – при завозе молодежи массой 5–10 г, 10% – при выращивании собственного посадочного материала (молоди).

В настоящее время сформированы 3 линии:

- линии донской и волжской стерляди от завезенной молодежи;
- линии донской и волжской стерляди от завезенных производителей;
- окской стерляди от завезенных самок.

Структура маточного стада сформирована так, чтобы исключить близкородственное скрещивание. Поэтому сформированы группы, имеющие разное происхождение, завезенные из Астраханской,

Волгоградской, Ростовской областей и из средней полосы России. Кроме того, использовали криоконсервированную сперму.

Были проведены исследования по оплодотворению икры стерляди репродуктивной спермой самцов, извлеченной из криобанка после двухлетнего хранения в жидком азоте. Количество введенного репродуктивного материала составило 10% от общего количества производителей, принимавших участие в нересте.

Оплодотворение икры составило 90% в контроле и 80% – в опыте. Выход предличинок от икры составил 75% и 60%, соответственно.

При проведении работ не установлено достоверных различий по морфометрическим показателям молоди в контроле и опыте, что указывает на целесообразность использования криоконсервированной спермы для искусственного оплодотворения.

В результате исследований предложена схема ускоренного формирования репродуктивного стада осетровых рыб в искусственных условиях от молоди и производителей, адаптированных к условиям стабильного температурного режима с использованием для пополнения стада резерва криоконсервированных репродуктивных клеток самцов (спермы), сохраняющихся при температуре жидкого азота (-196°C) (рис. 6).

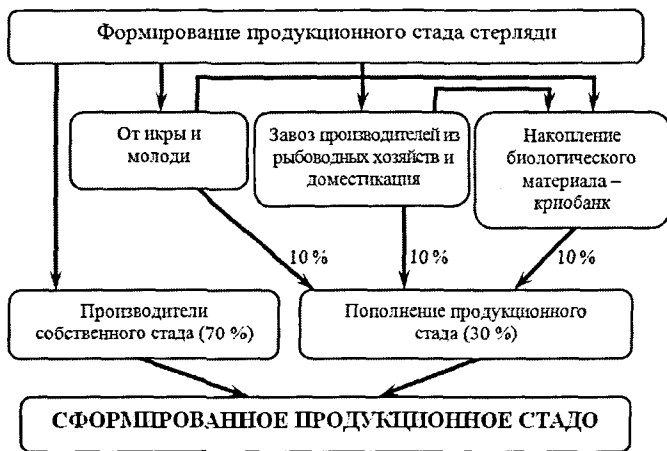


Рис. 6. Схема формирования маточного стада стерляди

Создание маточных аквакультурных стад редких и исчезающих видов осетровых рыб и наличие криобанков спермы позволяет обеспечить сохранение генофонда и стать резервным фондом для выпуска молоди в естественные водоемы, снизить риски антропогенного воздействия на продуктивность морских экосистем.

Глава VI. ОЦЕНКА ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ СТЕРЛЯДИ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В УЗВ

О подготовленности рыб к нересту могут свидетельствовать и многие биохимические показатели, определяющие их адаптационную пластичность.

Стерлядь, выращенная в искусственных условиях, по общему химическому составу тела характеризовалась, главным образом, большим количеством белка и жира, что свидетельствует о нормальном протекании обменных процессов в организме рыб. У рыб естественной популяции содержание жира было наименьшим, что связано с их питанием в реке.

Сравнительный анализ неоплодотворенной икры, икры на 28-й стадии развития и предличинок стерляди на стадии вылупления, полученных от самок, содержащихся в УЗВ и выповленных в р. Дон, не выявил существенных различий по общим химическим показателям. Липидный состав практически не отличался, фосфолипидный у рыб из естественных условий был выше на 14%. Анализ жирнокислотного состава икры самок из реки и УЗВ был достаточно близким (табл. 7).

Таблица 7

Жирнокислотный состав общих липидов неоплодотворенной икры
стерляди, % суммы жирных кислот

Жирные кислоты	Содержание		Жирные кислоты	Содержание	
	♀♀ УЗВ	♀♀ р. Дон		♀♀ УЗВ	♀♀ р. Дон
Насыщенные	26,0±0,3	24,7±0,3	ω3,	17,2±0,1	21,6±0,2
Моноеновые,	48,7±0,5	47,9±0,5	в т.ч. 18:3	1,3±0,1	1,1±0,1
в т.ч. 18:1	34,5±0,8	36,5±0,9	20:5	1,7±0,1	1,8±0,1
Полиеновые,	24,5±0,4	27,4±0,4	22:6	11,2±0,3	13,9±0,3
в т.ч. ω6,	7,1±0,1	5,7±0,1	ω3/ ω6	2,5	3,8
в т.ч. 18:2	1,4±0,1	1,0±0,1			
20:4	3,2±0,1	3,0±0,1			

Для определения физиологического состояния организма рыб проведены мониторинговые исследования по изучению параметров крови у донской и волжской стерляди, при выращивании в УЗВ в течение длительного периода.

Исследованы показатели красной крови у стерляди в период зимовки. Уровень гемоглобина (63,6±1,72) г/л, скорость оседания эритроцитов (3,4±0,81) мм/час, гематокрита (0,21±0,08) л/л, концентрация эритроцитов (1,02±0,03) млн./мм³ и СГЭ (68,93) мкм кг находились в пределах нормы.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что в условиях зарегулированного гидрологического режима самцы стерляди достигают завершённой 4-ой стадии развития гонад за 21–26 месяцев, самки 26–31 месяц, в отличие от производителей, содержащихся на естественных температурах, которым требуется для этого 48–54 месяца. Стабилизация термических (оптимальная температура) и трофических (сбалансированное кормление) условий водной среды, увеличивает интенсивность генеративного обмена стерляди в 1,8–2 раза, при сокращении периодов протоплазматического роста генеративных клеток и вителлогенеза (трофоплазматического роста ооцитов и сперматозомов).

2. Показано, что для полного завершения гаметогенеза самкам донской стерляди необходимое количество тепла составляет 19800–20600 градусо-дней, самцам - 13760–15600 градусо-дней при среднесуточной температуре 21,5°C, для волжской стерляди 19900–22230 и 14150–16100 градусо-дней, соответственно, что на 18% меньше чем при естественном термическом режиме.

3. Отмечено, что периодичность нереста изменялась в течение исследованного периода, при увеличении доли генеративного обмена. Первый интервал между нерестами при стабильном термическом режиме был наибольшим у волжской стерляди и составил 11 месяцев, у донской 10 месяцев, время последующих интервалов уменьшалось на 50–60 суток, после третьего нереста время интервала между нерестами было наименьшим и составило 6,5–7,5 месяцев.

4. Установлено, что оптимальное время введения осетровых рыб в состояние биологической (искусственной) зимы составляет 14–28 суток, при этом общее время для регулирования нереста 24–30 суток, соответственно. Определена длительность зимовки в зависимости от степени завершенности процессов гаметогенеза.

5. Моделирование условий водной среды (в период нерестовой миграции, зимы и нереста) и использование комплекса биологически активных веществ (витаминов) способствовало регулированию нереста стерляди при выращивании в установках замкнутого цикла, повышало созревание, оплодотворение икры на 10–15%, выход свободных эмбрионов на 15–20%, уменьшало количество аномалий в развитии эмбрионов на 10%, что явилось основой методики подготовки производителей стерляди к нересту.

6. Стадо донской и волжской стерляди в возрасте от 3+ до 6+ лет, сформированное от завезенной молоди и от производителей методом отбора по репродуктивным качествам, имело высокие биологические показатели (плодовитость от 24,92±1,62 до 36,32±1,52 тыс. шт) и

короткий интервал между нерестом 7,5-9,0 месяцев у самок, и 6,5-8,5 месяцев у самцов.

7. Формирование маточного стада стерляди для целей аквакультуры от икры, молоди и производителей, адаптированных к условиям стабильного температурного режима в установке замкнутого водообеспечения, с использованием для пополнения ежегодно 10% собственного ремонта, 10% завезенных производителей и 10% резерва криоконсервированных репродуктивных клеток самцов (спермы) из криобанка, позволит исключить близкородственное скрещивание и получать потомство и продукцию высокого качества.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для ускоренного созревания производителей стерляди в установках замкнутого водообеспечения необходимо поддерживать оптимальный термический (t_{cp} 21,5⁰C) и трофический (кормление сбалансированными кормами) режимы.

2. Для введения стерляди в нерестовое состояние длительность искусственной зимовки должна составлять от 14 до 28 суток, при этом общее время нереста от 24 до 30 суток.

3. Для улучшения созревания, рекомендуется использовать комплексную методику моделирования условий водной среды (в период нерестовой миграции, зимы и нереста) с использованием биологически активных веществ (витаминов).

4. При формировании репродуктивного стада стерляди для целей аквакультуры, исключения близкородственного скрещивания, получения потомства и продукции высокого качества следует ежегодно пополнять 10% рыб из собственного ремонта, 10% завезенных производителей и 10% резерва криоконсервированных репродуктивных клеток самцов (спермы) из криобанка.

По теме диссертации опубликованы следующие работы:

Публикации в изданиях, рекомендованных перечнем ВАК РФ

1. Пономарева Е.Н., Ковалева А.В., Корчунов А.А. Влияние инъекций цианокобаламина на состояние и репродуктивные качества ослабленных производителей русского осетра // Межведомственный тематический научный сборник «Ветеринарная медицина». № 90, 2008. - С. 339.

2. Шайхулисламов А.О., Гаджимусаев Н.М., Магомаев Ф.М., Чипинов В.Г., Корчунов А.А. Первый опыт получения потомства от бестера в Дагестане // Журнал «Юг России: экология, развитие». - Махачкала: Изд. Дом «Камертон», 2009. - №2. - С.108-112.

3. Матишов Г.Г., Корчунов А.А. Инновационные биотехнологии осетроводства ЮНЦ РАН // Вестник Южного Научного Центра РАН, 2010. - Т 6, №4. – С. 108-109.

4. Пономарева Е.Н., Григорьев В.А., Сорокина М.Н., Ковалева А.В., Корчунов А.А. Особенности гаметогенеза стерляди в зарегулированных условиях водной среды // Вестник АГТУ. Серия рыбное хозяйство, 2011. - № 2. – С. 112-117.

Публикации в других изданиях

1. Пономарева Е.Н., Ковалева А.В., Сорокина М.Н., Корчунов А.А. Применение цианокобаламина для повышения жизнестойкости осетровых рыб на разных этапах онтогенеза // Вестник АГТУ. Серия Рыбное хозяйство. - Астрахань: Изд-во АГТУ, 2008. № 3 (44). -С. 9-13.

2. Пономарева Е.Н., Лужняк В.А., Сорокина М.Н., Григорьев В.А., Корчунов А.А. Проблема сохранения азовской популяции стерляди *Acipenser ruthenus* // Современные проблемы морской инженерной экологии (изыскания, ОВОС, социально-экономические аспекты): Материалы международной научной конференции (г. Ростов-на-Дону, 9-11 июня 2008 г.) / Отв. ред. акад. Г.Г. Матишов. Ростов н/Д: изд-во ЮНЦ РАН, 2008. – С. 206-210.

3. Пономарева Е.Н., Ковалева А.В., Сорокина М.Н., Корчунов А.А., Коваленко М.В. Выращивание гибрида (стерлядь х белуга) в установках замкнутого водоснабжения в сравнении с родительскими видами // Морские биотехнические системы. Биологические и технические аспекты. Тезисы докл. Межд. науч.-практ. конф. (г. Ростов-на-Дону, 10-11 сентября 2008 г.). Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2008. – С. 127 – 129.

4. Пономарева Е.Н., Ковалева А.В., Сорокина М.Н., Чипинов В.Г., Корчунов А.А. Новые биотехнологические методы выращивания осетровых рыб в условиях замкнутого водообеспечения // Материалы I Межд. научно-практ. конф., посвященной 450-летию г. Астрахани «Биотехнологические процессы и продукты переработки биоресурсов водных и наземных экосистем» (30 сентября - 3 октября 2008 г., г. Астрахань). - Астрахань: Изд-во АГТУ, 2008. - С. 35-38.

5. Чипинов В.Г. Корчунов А.А. Исследования по применению новых схем гормональной стимуляции производителей осетровых рыб. // Электронный сборник тезисов докладов 53-й международной научной конференции профессорско-преподавательского состава Астраханского государственного технического университета. – Астрахань: АГТУ, 2009.

6. Корчунов А.А., Чалов В.В. Анализ и влияние пускового периода работы биологического фильтра в УЗВ на объекты выращивания // Электронный сборник тезисов докладов 53-й международной научной конференции профессорско-преподавательского состава Астраханского

государственного технического университета. – Астрахань: АГТУ, 2009. – С. 72-73.

7. Григорьев В.А., Корчунов А.А., Нгуен Тхи Суан Тху, Фыонг Ван Туй. Исследование особенностей выращивания осетровых рыб в условиях тропического климата Вьетнама // Инновационные технологии аквакультуры: Тезисы докладов международной научной конференции (21–22 сентября 2009 г., Ростов-на-Дону) / Отв. ред. академик Г.Г. Матишов. Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2009. – С.37-38.

8. Пономарева Е.Н., Григорьев В.А., Корчунов А.А., Чалов В.В., Лозовой А.А. Особенности развития репродуктивной системы осетровых рыб в зарегулированных условиях // Инновационные технологии аквакультуры: Тезисы докладов международной научной конференции (21–22 сентября 2009 г., Ростов-на-Дону) / Отв. ред. академик Г.Г. Матишов. Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2009. – С.114-116.

9. Пономарева Е.Н., Сорокина М.Н., Григорьев В.А., Ковалева А.В., Корчунов А.А. Результаты разработки методов формирования маточных стад стерляди в условиях замкнутого водообеспечения // Вестник АГТУ. Рыбное хозяйство. - Астрахань: Изд-во АГТУ. - 2010. - №1. – С. 86-91.

10. Корчунов В.А., Григорьев В.А., Ван Туй Ф. Исследование функционального состояния осетровых рыб, выращиваемых в условиях тропического климата Вьетнама // VI ежегодная научная конференция студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН: Тезисы докладов (19-30 апреля 2010 г., г. Ростов-на-Дону). – Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2010. – С. 25-26.

11. Ковалева А.В., Сорокина М.Н., Корчунов А.А. Разработка методов формирования маточного стада шипа // Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб. Тезисы докладов Международной конференции (20-22 апреля 2010 г., г. Санкт-Петербург). – СПб.: Нестор-История, 2010. – С. 79-80.

12. Корчунов А.А. Методы ускоренного формирования маточного стада стерляди в условиях УЗВ // Актуальные проблемы обеспечения продовольственной безопасности юга России: инновационные технологии для сохранения биоресурсов, плодородия почв, мелиорации и водообеспечения: материалы Международной научной конференции (27-30 сентября 2011 г., Ростов-на-Дону). – Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2011. – С. 64-65 – 0,15 у.п.л.

13. Корчунов А.А. Регулирование нереста стерляди в условиях оптимального температурного режима // VII ежегодная научная конференция студентов и аспирантов базовых кафедр Южного научного центра РАН: Тезисы докладов (11-25 апреля 2011 г., г. Ростов-на-Дону). Ростов н/Д: Изд-во ЮНЦ РАН, 2011. – С. 24-25.

14. Корчунов А.А., Григорьев В.А., Лозовой А.А. Особенности регулирования нереста осетровых в условиях УЗВ на примере стерляди // Тезисы VII Международной научно-практической конференции молодых ученых по проблемам водных экосистем «Pontus Euxinus – 2011», посвященной 140-летию Института биологии южных морей Национальной академии наук Украины (24-27 мая 2011 г.) – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2011. – С. 138-139.

15. Григорьев В.А., Ковалева А.В., Корчунов А.А. Влияние солености воды на рост и развитие гибридных форм осетровых рыб // Международная конференция «Осетровые рыбы и их будущее» (7-10 июня 2011 г., г. Бердянск, Украина), 2011. - С. 109-112.

Подписано в печать 15 февраля 2012 г.
Формат 60x84 1/16 Объем 1,0 усл. печ. л.
Тираж 100 экз. Заказ № 430

Отпечатано в издательстве
Новосибирского государственного аграрного университета
630039, Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, каб. 106.
Тел./факс (383) 267-09-10. E-mail: 2134539@mail.ru