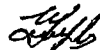


На правах рукописи

КУЛЯН САРКИС АРТЫНОВИЧ

**ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ
ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА ЧЕРНОМОРСКОГО ДОСОСЯ**

**Специальность - 11.00.11 - Охрана окружающей среды и
рациональное использование природных ресурсов**



АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук**

Астрахань 2000 г.

Работа выполнена в Астраханском государственном техническом университете.

Научный руководитель: кандидат биологических наук А.М. Тихомиров

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, проф.

С.В. Пономарев

доктор сельскохозяйственных наук

В.М. Кычанов

Ведущая организация: Краснодарский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства (КрасНИРХ)

Защита диссертации состоится "26" июля 2000 г. в "12" часов на заседании диссертационного совета Д.117.07.02 при Астраханском государственном техническом университете по адресу: 414025, Астрахань, ул. Татищева, 16.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного технического университета.

Автореферат разослан "23" июня 2000 г.

Ученый секретарь совета,
кандидат биологических наук



Э.И. Мелякина

A2000
7902

- 3 -

Актуальность проблемы. Экосистемы лососевых рек сильно разрушены, и естественное воспроизводство не в состоянии обеспечить численность стад этих рыб, соответствующую потенциальной возможности при имеющейся кормовой базе. Поэтому в течение уже достаточно длительного времени, особенно начиная с 50-х годов, как у нас в стране, так и за рубежом все большее внимание уделяется искусственному воспроизводству лососевых рыб.

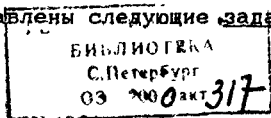
Основной проблемой лососеводства является создание управляемых форм хозяйствования, гарантирующих получение стабильных промысловых возвратов заводских рыб. При этом необходимо, чтобы были обеспечены: строгое регулирование промысла, сохранение природной генетической структуры воспроизводимых стад, экологическая обоснованность численности, места и сроков выпуска молоди, получение жизнестойкой, физиологически полноценной заводской молоди, способной дать высокий возврат (Хованский с сотр., 1997).

Основными объектами лососеводства являются тихоокеанские лососи (род *Oncorhynchus*), а также некоторые представители настоящих лососей (род *Salmo*) - атлантический лосось в виде ряда форм: семга, балтийский лосось, озерный лосось; кумжа, также представленная рядом подвидов и форм: таймень, черноморский и каспийский лосось, озерная форель, ручьевая форель и стальноголовый лосось, имеющий проходную и жилую формы.

Черноморский лосось *Salmo trutta labrax* является одним из наиболее редких и ценных представителей ихтиофауны Черного моря. Этот вид занесен в Красную Книгу СССР. Промысел его запрещен. Заводское разведение черноморского лосося может обеспечить не только сохранение его как вида, но и увеличение размеров популяции до величин, допускающих промысел (Rodí, 1995; Erkinaro et al, 1995; Кулида, Тимофеев, 1996; Пестрикова, 1996; Fish Farm Int., 1997). Вместе с тем, экологически обоснованная технология искусственного воспроизводства этого вида до сих пор не разработана.

Цель и задачи исследования. Цель данной работы состоит в том, чтобы а) разработать технологию искусственного воспроизводства черноморского лосося на Адлерском производственно-экспериментальном рыбоводном лососевом заводе (АПЭРЛЗ) и б) наметить пути ее совершенствования путем использования экологически адекватных научно-технических методов.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи.



1. Дать гидрохимическую характеристику воды, поступающей на АПРЛЗ, в сравнении с водой р. Мзымта.

2. Систематизировать пятилетний опыт работы с черноморским лососем и выявить недостатки технологии, нуждающиеся в совершенствовании.

3. Подобрать оптимальные параметры электронаркоза при работе с производителями черноморского лосося. Охарактеризовать поведение производителей и молоди под воздействием электронаркоза.

4. Оценить возможность повышения подвижности сперматозоидов черноморского лосося при помощи биостимулятора элибрасинолида.

5. Исследовать выживаемость и двигательную активность личинок черноморского лосося в нормальных и экстремальных условиях и возможность биопротекции этих показателей при помощи элибрасинолида.

6. Оценить возможности использования элибрасинолида для снижения отхода молоди лососевых рыб в условиях интоксикации.

7. Изучить поведенческие характеристики молоди черноморского лосося в сравнении с молодью форели в разном возрасте и при разных условиях выращивания для выяснения видовых особенностей поведения при искусственном воспроизводстве и создания оптимальных условий подращивания.

8. Разработать рекомендации по совершенствованию процесса искусственного воспроизводства черноморского лосося на АПЭРЛЗ.

Научная новизна. В работе впервые систематизирован пятилетний опыт искусственного воспроизводства черноморского лосося на Адлерском производственно-экспериментальном рыбоводном лососевом заводе. Получены новые данные о гидрохимических характеристиках природной воды р. Мзымта - естественном местообитании молоди черноморского лосося - и технологической воды АПЭРЛЗ, о массе производителей нерестовых популяций разных лет, о темпах роста личинок и молоди в разные периоды жизни. Впервые на производителях и молоди черноморского лосося использованы прогрессивные методы экологической физиологии: снятие стресса производителей в период получения половых продуктов при помощи электронаркоза, повышение рыбоводного качества спермы самцов при помощи биологически активного вещества, анализ двигательной активности и реактивности личинок и молоди на внешние сигналы, оценка обучаемости молоди. Впервые в лососеводстве испытано биологически активное вещество элибрасинолид в качестве адаптогена и токсикопротектора

молоди.

Научно-практическая значимость работы. На основании данных о рабочей плодовитости самок черноморского лосося, отходе икры в период инкубации, личинок и молоди в период подращивания разработаны временные биотехнические нормативы искусственного воспроизводства этого вида. Сделаны рекомендации по совершенствованию технологических операций, принятых в лососеводстве: водоподготовка, работа с производителями, инкубация икры, подращивание личинок и молоди, оценка качества продукции перед выпуском. Показана возможность использования биорегулятора эпибрассинолида для увеличения времени жизни спермы, улучшения поведенческих характеристик личинок и сокращения отхода молоди в период залповых выбросов токсических веществ. Полученные результаты могут быть использованы не только на АПЭРЛЗ, но и на других лососевых рыбозаводах Черноморского региона, а также в учебном процессе рыбохозяйственных институтов при изучении студентами дисциплин "Биологические основы рыбоводства", "Аквакультура", "Физиология рыб", "Экология", "Искусственное воспроизводство".

Апробация работы. Материалы диссертации были доложены на конференции "Астраханская область в XXI веке: взгляд молодого поколения" (Астрахань, 1999), IV Ассамблее Ассоциации университетов Прикаспийских государств (Астрахань, 1999), конференции профессорско-преподавательского состава АГТУ (1999).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 печатных работ.

Структура диссертации. Работа состоит из введения, обзора литературных данных, описания материалов и методов исследования, трех экспериментальных глав, заключения, выводов и списка использованной литературы, включающего 200 источников, в том числе, 82 на иностранных языках. Диссертация изложена на 147 страницах текста, содержит 28 таблиц и 16 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Работа выполнена в течение пяти лет (1995-1999 гг.) на Адлерском производственно-экспериментальном рыбозаводе лососевых (АПЭРЛЗ), расположенном на р. Мзымта в ущелье Ах-Цу близ села Монастырь в 30 км от г. Адлер. Объем материала, проанализированного при решении задач работы, приведен в таблице 1.

Таблица 1.

Объем экспериментального материала и решавшиеся задачи.

Вид	Возраст	Количество особей	Решавшиеся задачи
Черноморский лосось	Производители	10	Отработка параметров электронаркотизации.
		15	Определение времени подвижности спермы.
Стальноголовый лосось	Производители	10	Определение времени подвижности спермы.
		20	Отработка параметров электронаркотизации.
Радужная форель	Производители	20	Определение времени подвижности спермы.
		80	Определение времени подвижности спермы.
Черноморский лосось	Личинки	300	Определение устойчивости к температуре, солёности, токсикантам.
		500	Оценка токсикопротекторного действия эпибрассинолида.
Черноморский лосось	Молодь	4 мес.	Определение возрастных особенностей поведения.
		6 мес.	Оценка влияния условий выращивания на адаптивное поведение.
		9 мес.	
		1.5 года	
Радужная форель	Молодь	6 мес.	Определение возрастных особенностей поведения.
		9 мес.	Оценка влияния условий выращивания на адаптивное поведение.

В работе использованы гидрохимические методы определения температуры, содержания кислорода, pH воды, методы определения размерно-весовых показателей производителей и молоди, рабочей плодовитости самок, качества спермы.

В первой серии опытов по электронаркотизации при апробировании действия переменного тока на молодь черноморского лосося и форели использовали латинский квадрат 3*3 с дисперсионным анализом (Маркова, Лисенков, 1973). За факторы по столбцам принимали

время экспозиции (20, 40 и 60 с), по строкам - напряжение в вольтах (1.8, 2.8, 3.2 в), по латинским буквам - разные выборки рыб (А - форель, выращенная в пруду, В - форель, содержащаяся в бассейне и С - черноморский лосось из бассейнов). За выходной показатель принимали процент наркотизированных особей.

Во второй части исследований апробировали действие параметров постоянного тока на молодь форели и черноморского лосося. Испытаны напряжения 9, 28, 40 и 55 вольт при времени экспозиции 30 с. Исследовали процент наркотизированных особей, время выхода из наркоза и характер восстановления частоты дыхания.

В экспериментах на производителях форели использован переменный ток 50 гц напряжением 2.8 в при времени экспозиции 10, 20, 30 и 40 с. Исследовали время, за которое рыба принимала нормальное положение.

В экспериментах на производителях черноморского лосося учитывали двигательную активность рыб методом "открытого поля", т.е. регистрировали количество пересечений двух взаимно перпендикулярных диаметров аквариума за каждые 30 с опыта, а также время потери и восстановления двигательной активности первой и последней рыбы в выборках самцов и самок.

При определении времени подвижности сперматозоидов сперму самцов лососевых рыб активировали либо водой, либо раствором эпибрассинолида разной концентрации (от 10^0 до 10^{-10}) и регистрировали время до остановки последней клетки. В дальнейшем проведен мониторинг маточного стада самцов стальноголового лосося с целью определения исходного качества спермы и возможностей его повышения при помощи эпибрассинолида в концентрации 10^{-7} мг/л.

Эксперименты по действию эпина как токсикопротектора были поставлены в августе 1998 г. и в июле 1999 г., когда имели место залповые выбросы карбонатов в подрусловые воды реки Чвижепсе. В стандартных бассейнах объемом 30000 м^3 создавали концентрации эпина 10^{-7} мг/л. Для этого раствор эпибрассинолида 10^{-4} мг/л вносили в бассейны из расчета 1:10000. Раствор разбавлялся до рабочей концентрации и постепенно вымывался в течении двух часов. Данную обработку применяли два раза в сутки.

Учет погибшей молоди проводили каждый час с 11 до 18 часов. В 1999 году, при аналогичном эксперименте, определяли суточную гибель рыб в бассейнах.

При оценке двигательной активности личинок в тесте "откры-

тое поле" использовали чашки Петри, молоди - цилиндрические емкости диаметром 55 см. На дно каждой емкости была нанесена координатная сетка в виде креста.

Регистрировали двигательную активность личинок и молоди (количество пересеченных линий координатной сетки за каждые 30 секунд опыта, начиная с момента помещения ее в емкость). Длительность опыта составляла 10 минут.

За период опыта определяли ориентировочную двигательную активность молоди (ОА, ед./мин) - удвоенное количество пересечений линий квадрата в течение первых 30 секунд после помещения рыбы в новую для нее обстановку; фоновую двигательную активность (ФА, ед./мин) - среднее количество пересечений с 4-й по 7-ю минуту после адаптации к экспериментальной обстановке. На 7-ой минуте наносили механический удар по стенке аквариума металлическим стержнем (виброакустический стимул, характеризующий чувствительность акустико - латеральной системы) и определяли количество пересечений за следующие за ударом 30 секунд (реактивность на виброакустический стимул, PA_1 , ед./мин). Затем на 9-ой минуте рыбе предъявляли быстро движущуюся по диаметру аквариума модель "хищника" (зрительный адекватный стимул) и определяли количество пересечений сторон квадратов молодью в последующие 30 секунд (реактивность на биологический виброакустически стимул, PA_2 ед./мин). Полученные характеристики позволяют судить о том, в какой мере молодь лососевых способна усиливать (или тормозить) свою двигательную активность в ориентировочной ситуации и под действием сильных сенсорных стимулов.

Выработку условного рефлекса двустороннего избегания света при механическом подкреплении у молоди проводили в челночной камере - прямоугольном стеклянном аквариуме 96*25*45 см. Камера была разделена на две половины светонепроницаемой перегородкой со щелью под ней 3 см, так что молодь могла свободно переплывать из одной половины аквариума в другую. На обеих сторонах аквариума попеременно с интервалом 30 с включали свет. Если рыбы самостоятельно за 10 с не переплывали на вторую затемненную половину аквариума, их выгоняли легкими ударами рамки, обтянутой делью. Каждый опыт с одной партией из 10 шт. молоди продолжался 25 мин (50 переключений). За этот период регистрировали процент особей, самостоятельно переплывших на затемненную половину аквариума.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ОПЫТ ВЫРАЩИВАНИЯ ЧЕРНОМОРСКОГО ЛОСОСЯ НА АПЭРЛЗ

1. Водоподготовка и качество технологической воды.

Водоснабжение АПЭРЛЗ осуществляется по двум системам: самотеком из карстового источника, расположенного на высоте 40 м над уровнем р. Мзымта в 500 м ниже по течению и принудительно из скважины с глубины 18 м. Вода самотеком поступает на завод по двум трубам диаметром 250 мм каждая без предварительной очистки и теплоизоляции.

Вторая система водоподдачи осуществляется с использованием глубинного насоса типа ЭЦ В 12 мощностью 256 м³/час.

Определение химического состава воды первой самотечной линии летом 1997 г. показало, что перманганатная окисляемость составляет около 0.8 мг/л O₂ KMnO₄, содержание хлоридов - около 2.5 мг/л, солевого аммиака - менее 0.5 мг/л, нитратов - около 0.2 мг/л, азотистая окисляемость не превышает 0.003. Исходя из такого состава, сделано заключение о пригодности воды самотечной линии для разведения лососевых рыб.

Вместе с тем, из-за значительного количества месторождений известняка, предприятие находится под постоянной угрозой залповых выбросов H₂S и HCO₃⁻ за счет смывов с этих месторождений. Исходя из этого, необходима предварительная водоподготовка. Последнее возможно реализовать с помощью отечественных озонаторов с постоянным контролем качества воды. Для такого контроля могут быть использованы биодатчики.

Проведенный с 12 по 26 августа 1998 г. анализ гидрохимических показателей воды в р. Мзымта, прудах и бассейнах АПЭРЛЗ показал, что за период исследования в р. Мзымта утром (11⁰⁰) температура воды колебалась от 12.5 до 15⁰С (в среднем, 13.8⁰С); содержание кислорода изменялось от 7.4 до 11.8 мг/л (в среднем, 9.8 мг/л). Реакция среды (рН) изменялась в пределах от 6.8 до 7.4 ед. (в среднем, 7.0). В пруду утром (10⁰⁰) температура колебалась от 10.8 до 12.5⁰С (в среднем, 12.1⁰С), днем (15⁰⁰) от 12.5 до 14.9⁰С (в среднем, 13.8⁰С), вечером (20⁰⁰) от 12.0 до 13.7⁰С (в среднем, 12.8⁰С). Содержание кислорода утром составляло 8.9-10.7 мг/л (в среднем, 10.1 мг/л), днем 7.2-10 мг/л (в

среднем, 9.4 мг/л), вечером 8.2-10.7 мг/л (в среднем, 10.0 мг/л). pH изменялся утром от 6.7 до 7.9 (в среднем, 7.1), днем от 6,4 до 8.1 (в среднем, 7.0), вечером от 6,2 до 8.4 (в среднем, 6,9). Согласно данным, усредненным для 14 бассейнов АПЭРЛЗ, за исследованный период колебания температуры утром составляли от 10.44 до 12.46⁰С (в среднем, 11.43⁰С), днем от 12.28 до 14.28⁰С (в среднем, 13.41⁰С), вечером от 11.34 до 13.06⁰С (в среднем, 12.07⁰С). Содержание кислорода изменялось утром от 8.89 до 10.6 мг/л (в среднем, 9.47 мг/л), днем от 7.07 до 10.1 мг/л (в среднем, 8.86 мг/л), вечером от 7.44 до 11.6 мг/л (в среднем, 9.74 мг/л). Реакция среды варьировала утром от 6.35 до 7.69 (в среднем, 6.98), днем от 6.44 до 8.09 (в среднем, 6.9), вечером от 6.2 до 8.98 (в среднем, 6.95).

Исходя из всех приведенных результатов, можно заключить, что экологические условия (включая все три определявшихся гидрохимических показателя, а также структуру дна, уровень проточности, наличие водной растительности) в пруду существенно ближе к естественным, наблюдающимся в реке, чем в высокопроточных стеклопластиковых бассейнах. Этот факт имеет значение для оценки качества молоди проходных лососевых рыб, выращиваемых на АПЭРЛЗ.

2. Основные этапы искусственного воспроизводства черноморского лосося на АПЭРЛЗ

В 1995 г. в рыбоводном процессе на АПЭРЛЗ было использовано 10 самок средней массой 6.13±0.46 кг и 8 самцов (4.33±0.23 кг); в 1997 г. удалось выловить 12 самок массой 4.66±0.44 кг и всего 4 самцов массой 4.23±0.47 кг, а в 1998 г. - 8 самок (4.96±0.30 кг) и 4 самца (4.25±0.27 кг). Таким образом, заметна тенденция к измельчанию самок. В результате недостатка самцов для оплодотворения икры черноморского лосося периодически использовали сперму ручьевой форели, что опасно для генетической целостности вида. Необходим поиск путей более эффективного использования спермы самцов чистого вида, в частности, повторное сцеживание спермы, для чего необходима разработка способов снятия стресса от контакта с человеком, а также способов продления жизни сперматозоидов при помощи биологически активных веществ для более экономного расходования спермы черноморского лосося.

Инкубация оплодотворенной икры черноморского лосося происходит в аппаратах рамочного типа. Расход воды в аппаратах - 9

л/мин. На одну рамку помещают 10 тыс. шт. икринок в один слой. Отход за период инкубации составляет в среднем 3.8%. Время инкубации составляет около 500-550 градусодней при температуре воды 7-8.5° С.

Основным недостатком данного этапа производственного процесса является отсутствие "технологической карты эмбриогенеза" для черноморского лосося, аналогичной таковым для атлантического лосося и дальневосточных видов лососевых рыб (Богданов, Шевцова, 1978; Казаков, 1982), а также для осетровых (Детлаф и др., 1981) Наличие такой карты делает возможным достаточно точный прогноз сроков выклева свободных эмбрионов, а также позволяет еще в эмбриональном состоянии оценить характер развития, возможные аномалии и качество будущих личинок и молоди.

По окончании инкубации выклюнувшихся личинок содержат в пластиковых лотках рамочных аппаратов, где доращивают до навески 150 мг при плотности посадки 13-15 тыс.шт. на лоток. Через 7-8 дней (по мере рассасывания желточного мешка у 60-80% особей) личинкам начинают давать корм (куриный желток и обезжиренное сухое молоко в соотношении 1:1) из расчета 13% в сутки от массы посадочного материала. Частота кормления в этот период - 1 раз в час в дневное время.

Через 2 недели рацион меняется: используется пастообразный корм, включающий в себя говяжью печень, селезенку, рыбную муку, витамины, дрожжи, ферменты, куда добавляют до 50% стартовые гранулированные лососевые корма (РГМ 6-8).

Данным рационом личинок кормят до навески 200-250 мг. Отход за время подращивания в среднем составляет 6.5%.

По достижении указанных навесок часть молоди выпускают, а остальную молодь пересаживают в пластиковые бассейны ИЦА-2 размером 150 x 150 x 40 см, где продолжают кормить кормами РГМ с увеличивающимся в зависимости от навески размером крупки.

Расход воды в бассейнах для подращивания молоди черноморского лосося составляет около 1 л/с, средние температуры в летний период не превышают 10-12°С, в зимний период не опускаются ниже 8°С. При навеске от 1 до 1.5 г молодь черноморского лосося выпускают в р. Мзымта и ближайшие ее притоки.

По результатам рыбоводного процесса 1999 г. получены следующие показатели (табл. 2):

Таблица 2.

Показатели рыбоводного процесса 1999 г. для черноморского лосося АПЭРЛЗ

Показатели	Факт. величины	Норматив
Заложено икры на инкубацию	24300 шт.	-
Отход после набухания	0%	2%
Процент оплодотворения	98.0%	95%
Отход на стадии глазка	0.3%	-
Процент выклева	87.7%	90%
Отход за период подращивания	1.0%	30%
Выпущено молоди в р. Мзымта	19143 шт.	-
Процент от заложенной икры	78.8%	50%

Таким образом, видно, что уже на нынешнем этапе технология искусственного воспроизводства черноморского лосося соответствует рыбоводным нормативам для лососевых рыб.

В 1998 г. часть молоди (34 тыс. шт.) было оставлено на искусственное доращивание до стадии смолтификации.

Весной (в марте) 1999 г. эту молодь из бассейнов ИЦА-2 пересадили в круглый пластиковый бассейн объемом 30 м³ при расходе воды 500 л/час. Бассейн установили на открытом воздухе. Молодь кормили 2 раза в день сухим гранулированным кормом N 06 финской фирмы "Райсио - Эдел" из расчета 13% в сутки от живого веса посадочного материала. Отход составил 0.6%.

В конце мая 20 тыс. шт. молоди в начале смолтификации были помечены эозином, а затем 32613 шт. смолтов были выпущены в р. Мзымта.

СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ РАБОТЫ С ПРОИЗВОДИТЕЛЯМИ

Основными недостатками технологии работы с производителями черноморского лосося является высокий уровень стресса при многократном сцеживании икры и спермы, что снижает продуктивность как самцов, так и самок, а также разнокачественность самцов по времени жизни спермы, что может понизить процент оплодотворения. С целью устранения этих недостатков в 1998 и 1999 гг. на АПЭРЛЗ был проведен комплекс научно-исследовательских работ.

Для снижения уровня стресса производителей и облегчения работы с ними была испытана методика электронаркотизации. Для под-

бора оптимальных параметров электрического поля и времени экспозиции были проведены предварительные эксперименты на молоди форели и черноморского лосося и на производителях форели.

В первой серии опытов при апробировании действия различных параметров переменного тока на молодь черноморского лосося и форели использовали латинский квадрат 3×3 с дисперсионным анализом (Маркова, Лисенков, 1973). Наибольший процент наркотизации молоди обоих видов получен при напряжении 3.2 в и при времени экспозиции 40 с. Наименьший процент наркотизированных особей наблюдали среди молоди черноморского лосося.

Во второй части исследований апробировали действие параметров постоянного тока на молодь форели и черноморского лосося при экспозиции 30 с. Показано, что молодь форели подвергается воздействию электронаркоза на 100% уже при 9 в, а черноморский лосось полностью не наркотизируется даже при напряжении 55 в. Его молоди свойственно избегать воздействия, вставать вдоль силовых линий. Можно наблюдать характерную для черноморского лосося реакцию затаивания. В этих же экспериментах оценивали время, в течение которого рыба восстанавливала нормальное положение и двигательную активность по окончании наркотизации. Установлено, что при небольших напряжениях время восстановления после наркоза молоди форели и черноморского лосося значимо не различается и составляет 30.5 ± 5.72 и 15.0 ± 6.02 с при 9в и 106.2 ± 9.00 и 103.8 ± 32.6 с при 28в. При более высоких напряжениях время восстановления резко увеличивается и составляет для сеголетков форели 765.0 ± 75.0 с, а лосося - 433.7 ± 86.8 с при 40в и 783.8 ± 82.7 и 470.0 ± 76.9 с, соответственно, при 55в (разница достоверна). Этого времени вполне достаточно для проведения морфометрических работ с молодью или получения половых продуктов от производителей.

В экспериментах с постоянным током использовали также дополнительный показатель - частоту дыхания молоди. После электронаркоза этот показатель у обоих видов снижается. Для молоди форели свойственно резкое снижение частоты дыхания, но она быстрее адаптируется и даже при высоких напряжениях (40-55 в) уже через 4-5 минут восстанавливает ритм дыхания. У черноморского лосося не наблюдается такого резкого снижения, но восстановительный процесс занимает 7 минут при напряжении 55 в, при более низких напряжениях наркотизирующего тока процесс происходит быстрее. Вместе с тем, молодь черноморского лосося более консервативна к

воздействию. Это возможно объяснить двумя моментами: во-первых, размеры одомашненной форели равного возраста с черноморским лососем всегда больше, что делает ее более уязвимой; во-вторых, у дикой молодежи лосося адаптивные возможности к неадекватным физическим раздражителям более выражены, чем у одомашненных форелей.

Для уточнения режимов наркотизации взрослых особей черноморского лосося, эксперименты были предварительно проведены на производителях форели. Наркотизацию проводили переменным током 2.8 в, время экспозиции составляло 10, 20, 30 и 40 с. Показано, что время экспозиции играет определяющую роль при электронаркотизации опытных рыб. При электронаркозе рыбы переворачивались на спину, частота дыхания замедлялась, а в некоторых случаях наблюдали остановку дыхания (10%). После экспозиции рыб брали в руки без сопротивления. В это время у них было возможно сцеживать половые продукты. После возвращения рыб в бассейн они, в зависимости от времени экспозиции, раньше или позже принимали нормальное положение, плавали и восстанавливали частоту дыхания. Среднее время нормализации состояния в зависимости от продолжительности экспозиции составило при 10 с - 88.9 ± 14.5 с, т.е. около 1,5 мин; при 20 с экспозиции - 252.8 ± 27.4 с, т.е. более 4 мин; при 30 с - $378,2 \pm 32.1$ с (более 6 мин) и при 40 с 413.9 ± 85.6 с, т.е. почти 7 мин. Отсюда следует вывод, что 30-40 секундная наркотизация производителей переменным током при напряжении в воде 2.8 в вполне достаточна для того, чтобы рыбоводы успели взять у них пшловые продукты.

Таким образом, проведенные исследования показали, что электрическое поле переменного тока вызывает реакцию наркоза у молодежи и производителей лососевых рыб и позволили подобрать оптимальные параметры для работ непосредственно на производителях черноморского лосося.

В экспериментах на производителях черноморского лосося использовали переменный ток напряжением 2.8 в, время экспозиции 30 с. Двигательную активность рыб учитывали количественно методом "открытого поля", а также определяли время потери и восстановления двигательной активности первой и последней рыбы в выборках самцов и самок.

Время наркотизации первой особи в выборке самцов составило 5 с, последней - 30 с, в среднем по самцам 17.2 ± 1.34 с; в выборке самок эти величины составляли, соответственно, 2 с и 25 с, в

среднем, 11.0 ± 1.87 секунд. Время выхода из наркоза после прекращения подачи напряжения составило для первого самца 4 с, последнего - 3 мин 35 с, в среднем 80.1 ± 19.5 с; первая из самок возобновила плавание через 5 с после прекращения наркоза, последняя - через 4 мин 30 с, в среднем по выборке 145.3 ± 12.8 с.

Данные об уровне двигательной активности производителей черноморского лосося приведены на рис. 1.

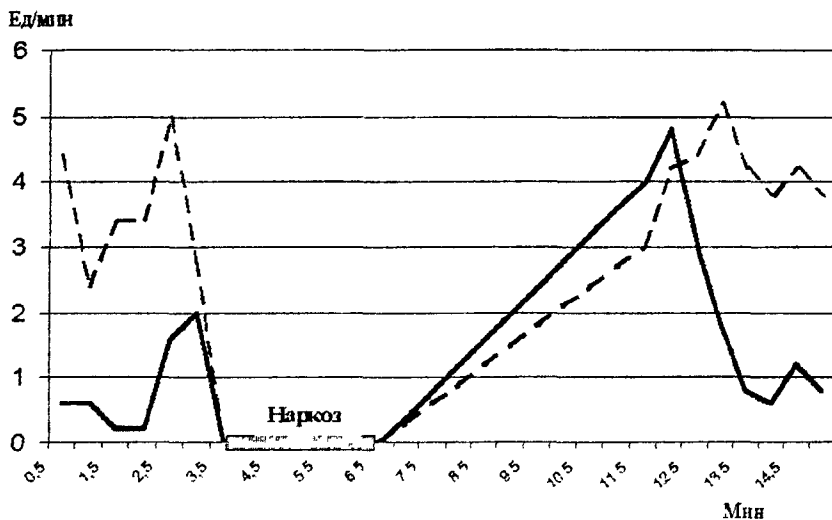


Рис. 1. Двигательная активность (количество пересечений координатной сетки) у производителей черноморского лосося в экспериментах по электронаркотизации.

— - самцы - - - - самки

Видно, что исходная двигательная активность (в первую минуту опыта, когда экспериментатор стоял достаточно далеко от бассейна), у самок существенно выше, чем у самцов - 4.4 ± 0.52 и 0.60 ± 0.34 ед./мин, соответственно. При приближении экспериментатора с целью включить электронаркоз через 2.5 мин после начала эксперимента двигательная активность рыб повышается: у самок до $5.0 \pm 1.80 = 6.8$ ед./мин, у самцов - до 2.0 ± 1.26 . После включения электронаркоза двигательная активность рыб падает до нуля, а затем (в среднем по всем производителям примерно за 2 минуты после

его 30 с действия) начинает восстанавливаться, причем этот процесс идет у самцов быстрее, чем у самок. Уже через 8 мин после отключения наркоза они достигают пика своей двигательной активности (4.8 ± 0.63 ед./мин, отличия от исходного уровня высокостойки). Еще через 3 минуты двигательная активность самцов возвращается в норму и составляет 0.70 ± 0.27 ед./мин.

У самок восстановление двигательной активности идет медленнее: они достигают исходного уровня двигательной активности через 7.5 мин после отключения наркоза, превышают его (5.2 ± 0.76 ед./мин) еще через полторы минуты и к концу опыта возвращаются к уровню контроля (3.8 ± 0.62 ед./мин).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что в обработанных нами условиях (переменный ток, напряжение в воде 2.8 в, экспозиция 30 с) производители черноморского лосося быстро впадают в наркотическое состояние, остаются неподвижными в течение времени, достаточного для взятия у них половых продуктов, а затем достаточно быстро восстанавливают свою двигательную активность без видимых последствий для физиологического состояния.

Еще двукратное повторение электронаркотизации на тех же рыбах не привело к существенному изменению результатов. Это свидетельствует об отсутствии кумулятивного эффекта и позволяет неоднократно подвергать рыб электронаркозу при порционном получении половых продуктов без заметного ущерба для восстановления их нормальной жизнедеятельности.

Ранее на осетровых было установлено (Vitvitskaya, Tikhomirov, 1997; Егоров, Витвицкая, 1998; Егоров, 1998), что если активировать сперму не чистой водой, а раствором фитогормона эпибрасинолида можно, увеличить время жизни сперматозоидов в 1.5-2.0 раза. Были подобраны оптимальные концентрации этого вещества для осетровых: 10^{-7} - 10^{-8} мг/л. На сперме стальноголового лосося в подобных же экспериментах нами было установлено, что оптимальными для этого вида являются концентрации эпибрасинолида 10^{-6} - 10^{-7} мг/л. Аналогичные данные получены и для спермы черноморского лосося, свежей или хранившейся более или менее продолжительное время в холодильнике (Табл. 3).

Таким образом, в период рыбоводного процесса представляется целесообразным проводить мониторинг времени подвижности спермиев с целью отбора для рыбоводного процесса лучших самцов, а также повышать это время путем активации ее раствором эпибрасинолида.

Таблица 3.

Время подвижности спермы черноморского лосося при хранении в холодильнике и активации чистой водой или растворами эпибрассинолида (с, M±m).

Концентрация эпибрассинолида, мг/л	Время хранения.			
	Свежая	14 час	18 час	24 час
Контроль	43.3+2.6	46.5+4.3	59.3+5.8	61.0+6.3
10 ⁻³	36.4+2.3	41.8+4.1	51.4+6.5	39.0+3.2**
10 ⁻⁴	43.2+3.4	46.5+5.9	50.7+4.1	50.4+5.3
10 ⁻⁵	50.9+4.8	50.8+4.4	59.2+7.4	55.2+4.8
10 ⁻⁶	63.6+3.8***	54.3+3.3	78.8+3.3**	66.6+5.6
10 ⁻⁷	97.5+7.5***	111.9+6.6***	97.0+6.4***	99.6+5.8***
10 ⁻⁸	45.9+2.3	61.1+6.9	73.8+5.1	61.3+4.8

Примечание. Звездочками отмечены величины, достоверно отличающиеся от контроля: ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$.

Реально это можно сделать, если добавлять эпибрассинолид в нужной концентрации (10⁻⁷ мг/л) в воду, предназначенную для добавления в рыбоводные тазы сразу после внесения в них спермы.

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЛИЧИНОК И МОЛОДИ ЧЕРНОМОРСКОГО ЛОСОСЯ В НОРМАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ И ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ТОКСИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Для того, чтобы оценить устойчивость личинок черноморского лосося к токсическим веществам и выяснить возможность токсикопротекции при помощи эпибрассинолида, был заложен эксперимент, где личинок подвергали воздействиям CuSO₄ (0.1 мг/л), фенола (1 мг/л) и детергента, СМС "Лотос" (1 мг/л) без обработки и после предварительной обработки эпибрассинолидом. Анализ поведения личинок в тесте "открытое поле" показал, что в отношении ионов меди и фенола эпибрассинолид проявил явные токсикопротекторные свойства, приблизив нарушенные токсикантами поведенческие реакции личинок к контрольному уровню.

В августе 1998 г. и июле 1999 г. имели место залповые выбросы HCO₃⁻ (его количество достигало 140 мг/л при ПДК 79 мг/л). На заводе начался массовый отход молоди: как форели, так и черноморского лосося.

Для того, чтобы проверить возможность эпибрассинолида обес-

печивать токсикопротекцию молоди, в двух бассейнах с форелью в 1998 г. был применен эпибрассинолид в концентрации 10^{-7} мг/л. Полученные результаты приведены в таблице 4.

Таблица 4.

Отход в (среднем за час) молоди форели в контрольном бассейне и двух бассейнах с применением эпибрассинолида (шт., $M \pm m$).

Бассейн Дата	Контроль	Эпибрассинолид, 10^{-7} мг/л	
	Бассейн N10	Бассейн N 13	Бассейн N 14
11.08	19.78 \pm 2.55	13.11 \pm 3.79	13.42 \pm 2.54
12.08	12.23 \pm 1.79	4.44 \pm 1.40**	4.00 \pm 1.35**
13.08	8.44 \pm 1.21	2.00 \pm 1.42**	1.80 \pm 1.55**
14.08	2.04 \pm 1.52	1.22 \pm 1.22	1.77 \pm 1.42

Примечание. Звездочками отмечены величины, достоверно отличающиеся в опытных бассейнах по сравнению с контрольными.

Из таблицы видно, что в первый день обработки уже намечается тенденция к снижению среднечасового отхода молоди, хотя разница между опытными контрольным бассейнами еще недостоверна. На 2-й и 3-й день опыта она становится высоко достоверной ($p < 0.01$) и достигает значительных величин (примерно в 3 раза на 2-й день и более, чем в 4 раза - на 2-й). На 4-й день обработка эпибрассинолидом не дала достоверного результата в связи с тем, что залповый выброс прекратился, состав воды пришел в норму и массовый отход прекратился во всех бассейнах, в связи с чем опыт был прекращен. Ученный отход в контрольном бассейне за период опыта составил 339 шт. молоди форели, в опытных - 216 и 167 шт. Таким образом, использование эпибрассинолида для обработки молоди форели в период залпового выброса токсиканта позволил снизить отход в 1.57 и 2.03 раза, соответственно.

В 1999 г. при первых признаках повышенного отхода все форелевые бассейны проходили обработку эпибрассинолидом в описанном выше режиме, а на молоди черноморского лосося был поставлен эксперимент: один бассейн служил контролем и не подвергался обработке, а в двух других молодь обрабатывали 2 раза в день, добавляя эпибрассинолид до концентрации 10^{-7} мг/л. Во всех трех бассейнах два раза в день измеряли температуру, pH, содержание O_2 и регистрировали отход за сутки. Опыт продолжался 7 дней до прак-

тически полного прекращения отхода.

В первый день эксперимента обнаружено некоторое закисление воды (рН 6.3-6.4). Суточный отход составил в контрольном бассейне 16, в опытных 21 и 19 особей. Во второй день, наоборот, наблюдалось защелачивание воды (рН 8.1-8.5), отход возрос и составил в контроле 199 шт., в опыте 49 и 42 шт. В последующие 3 дня вода оставалась щелочной (рН 7.6-8.9), а отход составил на 3-й день 129, 45 и 44 шт., на 4-й 85, 36 и 8, на 5-й день 35, 30 и 6 особей, соответственно, в контрольном и двух опытных бассейнах. На 6-й и 7-й день рН приблизился к нейтральному (6.8-8.0), в бассейнах наблюдалось повышенное содержание кислорода (9.5-10.2 мг/л), а отход продолжал снижаться: 40, 35 и 0 шт. молоди на 6-й день и 4, 1, 4 шт. на 7-й. Температура воды в бассейнах за период опыта колебалась незначительно. Всего за период эксперимента в контрольном бассейне N 15 погибло 508 рыб, в экспериментальном бассейне N 16 - 217 особей, что в 2.34 раза меньше, чем в контроле, а в экспериментальном бассейне N 7 - 123 особи, т.е. в 4.13 раз меньше, чем в контроле.

Полученные данные убедительно показывают, что эпибрассинолид оказывает значительное токсикопротекторное воздействие на молодь лососевых рыб.

С целью разработки поведенческих методов оценки качества молоди были изучены ориентировочная, фоновая двигательная активность, реактивность на виброакустический стимул (удар) и проведение макета хищника в тесте "открытое поле" у восьми выборок рыб: выращенный в прямоугольных бассейнах АПЭРЛЗ черноморский лосось в возрасте 4, 6, 9 и 18 месяцев; 18-месячный черноморский лосось из форелевого хозяйства "Адлер", выращенный в проточных бетонных бассейнах, 6-ти и 9-месячная форель из прудов и 6-месячная форель из бассейнов АПЭРЛЗ. Обнаружены видовые и возрастные особенности молоди по ряду исследованных показателей, а также их четкая зависимость от условий выращивания. Так, лосось из проточных лотков, где условия более близки к речным, чем в пластиковых бассейнах, проявляла более "экономный" характер ориентировочной и фоновой активности, зато ее реакции на имитацию нападения хищника были более выраженными, что адекватно жизни в естественном водоеме. Аналогичным образом, поведенческие реакции прудовой форели были экологически более адекватными, чем у бассейновой.

Для изучения развития высших функций мозга молодежи черноморского лосося нами была изучена способность к быстрой выработке условного рефлекса двустороннего избегания у 6-ти и 9-ти месячной молодежи черноморского лосося и форели (Рис. 2).

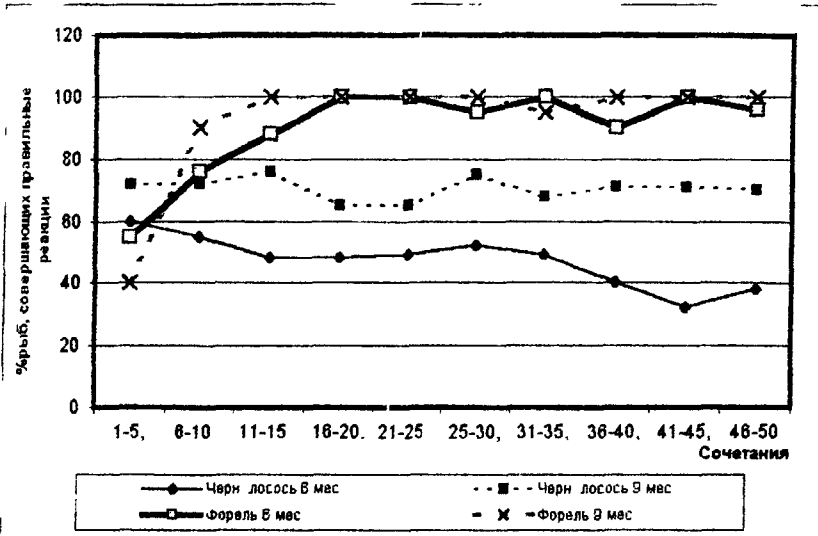


Рис. 2. Динамика выработки условного рефлекса у молодежи черноморского лосося и форели.

Показано, что процент молодежи черноморского лосося, совершивших правильную реакцию (переплывание с освещенной половины аквариума на затемненную в течение 10 с, до механического подкрепления сетчатой рамкой) у 6-месячной молодежи в течение опыта снижается. Причиной этого, скорее всего, является возрастающий стресс, связанный с экспериментальной ситуацией, близким присутствием человека, получаемыми рыбами хотя и слабыми, но чувствительными механическими ударами при безусловнорефлекторном подкреплении. В процессе онтогенеза стрессуемость молодежи черноморского лосося, по всей видимости, падает, о чем свидетельствует более или менее стабильное в течение опыта число рыб, совершающих правильные реакции. Это может быть связано с постепенным привыканием молодежи лосося в процессе заводского выращивания к присутствию человека и другим факторам, несвойственным для природной среды ее обитания, т.е. с частичной domestикацией, что

может оказаться вредным для ее дальнейшего выживания после выпуска в естественные условия.

Уровень domestikации молоди форели, по-видимому, изначально более высок, т.к. она и в 6-месячном, и в 9-месячном возрасте монстрирует достаточно высокие способности к обучению, однако это не имеет значения в связи с тем, что выращивание этого вида на АПЭРЛЗ носит сугубо товарный характер.

Таким образом, проведенные исследования указывают на перспективность использования поведенческих методов для тестирования качества продукции осетровых и лососевых рыбоводных заводов и поиска наиболее экологически адекватных вариантов искусственного воспроизводства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании проведенных исследований предполагается развитие технологии искусственного воспроизводства черноморского лосося на Адлерском ПЭРЛЗ путем создания забоек для отлова производителей, использование электронаркоза для их многократного использования без создания антропогенного стресса, разработки технологической карты развития эмбрионов, обработки спермы, икры, личинок и молоди биологически активным веществом эпибрассинолидом, периодического тестирования поведенческих реакций молоди с целью оценки ее экологической адекватности и совершенствования способов подраживания личинок и молоди в плане приближения их к естественным условиям развития черноморского лосося в р. Мзымта.

ВЫВОДЫ

1. По своему химическому составу (содержание хлоридов, солевого аммиака, нитратов, окисляемости) вода, поступающая на АПЭРЛЗ, пригодна для разведения лососевых рыб. Гидрохимические условия (температура, содержание кислорода, рН) в прудах АПЭРЛЗ ближе к таковым в естественных условиях обитания молоди черноморского лосося (р. Мзымта), чем в высокопроточных бассейнах.

2. За пятилетний период на АПЭРЛЗ достигнуты достаточно высокие показатели эффективности искусственного воспроизводства черноморского лосося: по данным на 1999 г. процент оплодотворения составил 98%, процент выклева - 87.7%, в р. Мзымта выпущено 78.8% сеголетков от количества заложенной на инкубацию икры при нормативах, соответственно, 95%, 90% и 50%.

3. Анализ 5-летнего опыта работы АПЭРЛЗ по искусственному воспроизводству черноморского лосося показал, что необходим поиск способов снятия антропогенного стресса производителей, использование биологически активных веществ для повышения времени подвижности спермы, токсикорезистентности личинок и молоди в периоды залповых выбросов минерализованных грунтовых вод в систему водоподдачи, разработка и внедрение экспресс-методов тестирования физиологического состояния посадочного материала, приближение условий выращивания к естественным.

4. На молоди форели и черноморского лосося, а также на производителях форели подобраны оптимальные параметры электронаркотизации для снятия антропогенного стресса производителей: переменный ток, 2.8 в, экспозиция 30 с. В этих условиях время наркотизации самцов черноморского лосося составило, в среднем, 17.2 ± 1.34 с, самок - 11.0 ± 1.87 с. Время выхода из наркоза составило для самцов, в среднем 80.1 ± 19.5 с (1 мин 10 с); для самок 145.3 ± 12.8 с (2 мин 25 с), что достаточно для забора половых продуктов. Исходный уровень двигательной активности производителей устанавливается через 10-11 мин; кумулятивного эффекта не наблюдается.

5. На сперме лососевых рыб определена оптимальная концентрация эпибрассинолида, повышающая время подвижности клеток - 10^{-7} мг/л. На сперме черноморского лосося показано, что активация спермы раствором эпибрассинолида в такой концентрации повышает время подвижности сперматозоидов в 1.6-2.4 раза. Хранение до 24 часов при 5°C не снижает время подвижности сперматозоидов.

6. Анализ поведения личинок черноморского лосося при воздействии CuSO_4 (0.1 мг/л), фенола (1 мг/л) и детергента, СМС "Лотос" (1 мг/л) без обработки и после предварительной обработки эпибрассинолидом в тесте "открытое поле" показал, что по крайней мере в отношении ионов меди и фенола эпибрассинолид проявил явные токсикопротекторные свойства, приблизив нарушенные токсикантами поведенческие реакции личинок к контрольному уровню.

7. В период залпового выброса минерализованных вод в августе 1998 г. отход молоди форели под влиянием обработки эпибрассинолидом 10^{-7} мг/л, 2 раза в сутки, снизился в 1.6-2 раза; в июле 1999 г. отход молоди черноморского лосося под влиянием такой же обработки эпибрассинолидом снизился в 2.3-4.1 раза.

8. Обнаружены видовые и возрастные особенности молоди чер-

номорского лосося и радужной форели по ряду поведенческих показателей в тесте "открытое поле", а также их зависимость от условий выращивания. Лосось из прямоточных лотков и форель из прудов, где условия более близки к речным, чем в пластиковых бассейнах, проявляли более "экономный" характер ориентировочной и фоновой активности, зато их реакции на имитацию нападения хищника были более выраженными, что адекватно жизни в естественном водоеме.

9. Показатели поведения молоди черноморского лосося и форели при выработке условного рефлекса указывают на явления доместикации при заводской выращивании. Поведенческие показатели могут лечь в основу комплексного метода оценки экологической адекватности черноморского лосося в период заводского выращивания и при выпуске с рыбоводного завода.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. На основании полученных результатов рекомендуется усовершенствовать существующую технологию путем использования электронаркотизации производителей, стимуляции подвижности сперматозоидов при помощи активации не водой, а раствором эписбрассинолида 10^{-7} мг/л, токсикопротекции личинок и молоди при помощи обработки раствором эписбрассинолида указанной концентрации, тестирования состояния выращиваемой молоди поведенческими методами для разработки наиболее экологически адекватных способов ее выращивания.

2. Рекомендуется ознакомить с полученными результатами другие рыбоводные хозяйства Черноморского, Азовского и Каспийского регионов.

3. Результаты работы и основные выявленные закономерности целесообразно использовать в лекционных и практических занятиях в рыбохозяйственных вузах по дисциплинам "Биологические основы рыбоводства", "Аквакультура", "Экология", "Искусственное воспроизводство рыб" и др.

4. Рекомендуется продолжить исследования способов использования эписбрассинолида и других БАВ для снижения негативного влияния экологических факторов на личинок и молодь лососевых рыб, а также других способов повышения эффективности искусственного воспроизводства редких и исчезающих видов лососевых.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Кулян С.А. Черноморский лосось не исчезнет. //Рыбоводство и рыболовство. М. 1999. № 1. С. 17-18.
2. Кулян С.А., Тихомиров А.М., Полушкина М.Н. Использование электронаркоза для производителей черноморского лосося. //Сб. науч. стат. "Биологическое разнообразие водных экосистем Юго-Востока Европейской части РФ". Волгоградское отд. ГосНИОРХ., 1999. С. 246-251.
3. Полушкина М.Н., Киселева Н.М., Егоров С.В., Кулян С.А. Перспективы охраны и искусственного воспроизводства лососеобразных рыб Каспийского моря. //Матер. конф. "Астраханская область в XXI веке: взгляд молодого поколения". 1999. Internet, на диске.
4. Тихомиров А.М., Кулян С.А. Отработка биотехнологии искусственного воспроизводства лососевых рыб Каспийского и Черного морей. //Мат. IV Ассамблеи Ассоциации университетов Прикаспийских государств. Махачкала. 1999. С. 248-249.
5. Тихомиров А.М., Кулян С.А. Перспективы модернизации биотехнологии искусственного воспроизводства черноморского лосося на Адлеровском ПЭЛРЗ. //Тез. докл. конф. проф-преп состава АГТУ Астрахань. 1999. С. 181.
6. Тихомиров А.М., Кулян С.А. Перспективы совершенствования биотехнологии искусственного воспроизводства черноморского лосося на Адлерском ПЛЗ. //Вестник АГТУ. Рыбное хозяйство. Астрахань. Изд-во АГТУ. 2000. С. 49-52.
7. Тихомиров А.М., Егоров С.В., Киселева Н.М., Кулян С.А. Особенности поведения молоди форели и черноморского лосося при содержании в искусственных условиях.//Вестник АГТУ. Рыбное хозяйство. Астрахань. Изд-во АГТУ. 2000. С. 135-141.

Издательство АГТУ, 414025, Астрахань, ул. Татищева, 16

Тип. заказ № 444 от "22" июня 2000 г.

Тираж 100 экз.