

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего
профессионального образования
ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
Инновационно-технологический центр по садковому рыбоводству

**Получение, оплодотворение и инкубация икры сига
в искусственных условиях**

Методическое пособие

Петрозаводск
2012

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего
профессионального образования
ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
Инновационно-технологический центр по садковому рыбоводству

**Получение, оплодотворение и инкубация икры сига
в искусственных условиях**

Методическое пособие

Петрозаводск
2012

УДК 639.3.043.2.639.085.622

Методическое пособие разработано в лаборатории экологических проблем Севера Эколого-биологического факультета Петрозаводского государственного университета

Составитель: профессор Л.П.Рыжков

В методическом пособии представлены инструктивные материалы по получению икры и спермы сиговых в искусственных условиях, способу и условиям осеменения икры, подготовке ее к инкубации, условиям инкубации икры и получения личинок. Материалом для пособия послужили результаты научных исследований и литературные источники, а также опыт работы рыбоводных заводов. Пособие предназначено для работников рыбоводных хозяйств и научных организаций, студентов и аспирантов.

Петрозаводский государственный университет
2012

Введение

Сиги являются одним из перспективных объектов садкового рыбоводства в естественных водоемах. Они характеризуются интенсивным ростом и высокими вкусовыми качествами «белого» мяса. По сравнению с лососевыми они менее требовательны к температурным условиям и газовому режиму. Экологический диапазон в эмбриональный период развития сигов находится в пределах 0.1 – 7.0°C. Снижение содержания кислорода в воде при инкубации икры сигов до 5.8 мг/л не оказывает негативного влияния на эмбрионов. В то же время сиги очень чувствительны к увеличению щелочности воды. Увеличение рН за пределы величины 8 обычно приводит к нарушению эмбриогенеза и гибели эмбрионов. Известны случаи нарушения эмбриогенеза сигов при содержании железа более 0,2 мг Fe/л.

Знание особенностей развития сигов и четкое соблюдение технологии обеспечат получение качественного посадочного материала и товарной продукции в более сокращенные сроки по сравнению с природными условиями.

Особенно важен для сигов, как и для других видов рыб, эмбриональный период развития. В это время в основном формируется организм. Данный процесс связан с этапностью развития. У сигов в эмбриональном периоде выделено 7 этапов развития, которые осуществляются путем скачкообразных преобразований при переходе от одного этапа к другому. В это время усиливаются темп дифференцировок и процессы метаболизма, повышается содержание воды, рост организмов замедлен. Развивающиеся эмбрионы очень чувствительны к внешним воздействиям. Продолжительность перехода на новые этапы развития в эмбриогенезе колеблется от нескольких минут до нескольких часов.

На протяжении этапов развития реализуются результаты перехода с этапа на этап. Количество дифференцировок сокращается, метаболизм стабилизируется на стандартном уровне, существенно усиливается рост эмбрионов. Самые высокие показатели роста и метаболизма отмечены в начале каждого этапа. К его концу они замедляются и начинается переход на следующий этап.

При работе с икрой следует учитывать эти особенности эмбриогенеза сигов. Икра очень чувствительна к любым внешним воздействиям (механическим, физическим, химическим и другим). Особенно высокая

чувствительность отмечена во время гастрюляции и осевого органогенеза. В это время икру не следует транспортировать. Чувствительность икры к внешним воздействиям снижается во время появления «глазка», становится возможной транспортировка.

На основании анализа результатов исследований и материалов производственных испытаний разработана биотехнология осуществления эмбрионального периода развития сигов в искусственных условиях.

I. Получение и осеменение икры

За несколько дней перед нерестом рекомендуется производителей сигов размещать в специальные садки для окончательного формирования половых продуктов. Для предупреждения преждевременного нереста самки и самцы выдерживаются в разных садках. Осмотр производителей на зрелость половых продуктов производится ежедневно. Желательно осматривать производителей в утренние часы суток. Зрелые икра и сперма свободно вытекают при легком нажатии на брюшко рыбы.

Отбор икры можно производить в любом закрытом помещении или в палатке, чтобы защитить ее от воздействия неблагоприятных факторов (яркого света, ветра, дождя, снега). Температурный режим воздуха в помещении следует поддерживать на уровне температуры, при которой выдерживались производители (2-6°C).

Икра отбирается в эмалированные или пластмассовые емкости (тазы, ведра). Металлическую посуду применять не следует, так как при отборе икры сигов поздней осенью возможно ее примерзание к стенкам емкости и последующая гибель.

Для сохранения производителей и получения икры высокого качества рекомендуется использовать следующую технологию. Перед отбором икры самку тщательно, но быстро, обтирают вафельным полотенцем или марлевой салфеткой, чтобы не допустить попадания в рыбоводную емкость воды и слизи. Затем голову самки обворачивают мокрым полотенцем (марлевой салфеткой). После этого левой рукой, придерживая за хвостовой стебель, голову рыбы мягко прижимают к своему телу. Правой рукой массирующими движениями в сторону анального плавника, слегка надавливая на брюшко, сцеживают икру по стенке собирающей емкости. Недопустимо падение икры прямо в емкость, так как при падении икра травмируется и погибает. В каждую емкость обычно собирают икру от 3-5 самок.

Сразу после отбора икра оценивается по качеству. Икра хорошего качества однородна по цвету и сходна по размерам. Икру с большим количеством полостной жидкости, кровоизлияниями, с остатками фекалий и в виде комков не рекомендуется использовать для получения потомства. Не следует использовать также икру, полученную с большими усилиями. Она неполноценна и не способна к оплодотворению.

Собранная в емкость качественная икра в течение 5-10 минут должна быть осеменена, Осеменение производится при той же температуре, при которой икра отбиралась от самок. Сперму для осеменения икры получают путем мягкого массирования брюшка самца в направлении от брюшных плавников к анальному. Зрелая сперма у самцов свободно вытекает тонкой струйкой. Доброкачественность спермы оценивается по цвету и времени подвижности сперматозоидов. Цвет ее должен быть белый, консистенция густых сливок. Для определения подвижности и продолжительности жизни спермиев каплю спермы помещают на предметное стекло и вносят несколько капель чистой воды. Сперматозоиды активизируются и под небольшим увеличением микроскопа (лупы) можно определить интенсивность движения и продолжительность жизни спермиев. Сперма качественная, если спермии живут не менее 2 минут. Нельзя допускать попадания в сперму воды, крови и других жидкостей. При наличии влаги сперма быстро теряет фертильность.

Осеменяют икру сигов сухим, русским способом, разработанным в XIX веке В.П. Врасским. Для этого в отобранную от 3-5 самок икру осторожно вливают хорошо перемешанную сперму от 3-4 самцов, полученную непосредственно перед использованием в чистые и сухие эмалированные емкости (миски). Для осеменения на каждый килограмм икры вносится около 3 см³ спермы. Нельзя вносить сперму от каждого самца последовательно. Нарушается принцип избирательности. Сразу после внесения спермы половые продукты осторожно перемешивают птичьим пером или даже рукой для равномерного распределения спермиев среди икры. Затем вливают небольшое количество воды (0.1-0.2 л на 1 кг икры) и вновь тщательно перемешивают полученную смесь половых продуктов с водой. В это время спермии активизируются и происходит оплодотворение икры. Смесь половых продуктов с водой выдерживается не менее 5-7 минут. Если сперматозоиды активны, то на поверхности воды образуется специфическая пленка из пены.

В качестве резерва, например при недостатке самцов, сперму можно заготовить заранее. Для этого при отлове производителей от каждого «текучего» самца отбирается сперма непосредственно в отдельные стерильные пробирки, которые тщательно закрываются корковыми пробками. Не рекомендуется для этой цели использовать резиновые пробки. Хранятся пробирки со спермой в термосах со льдом. Для сохранения низкой температуры длительное время пробирки прикрываются марлевыми многослойными салфетками. Срок хранения спермы в таких условиях не должен превышать 5 суток. Перед использованием консервированной холодом спермы следует проверить ее качество.

Через 5-7 минут оплодотворенную икру тщательно промывают чистой водой для удаления остатков спермы и других органических примесей. С этой целью осторожно к икре приливают воду и, после перемешивания, сливают ее в канализационную сеть. Воду меняют несколько раз. Плохая отмывка икры от всех органических и неорганических примесей будет

способствовать развитию сапролегнии. Поэтому рыбовод с особой тщательностью должен следить за чистотой оплодотворенной икры.

Затем емкость с оплодотворенной икрой оставляют для набухания в чистой воде на 2-3 часа при слабой проточности или смене воды каждые полчаса. Объем воды в емкости должен быть в 3-4 раза больше объема икры. Средняя температура воды, при которой осуществляются все процессы оплодотворения икры и подготовки ее к инкубации, должна быть относительно стабильной и соответствовать температурным условиям выдерживания производителей.

II. Подготовка оплодотворенной икры к инкубации

Подготовка оплодотворенной икры сигов к инкубации включает обесклеивание (при необходимости) и профилактическую обработку для предупреждения грибковых заболеваний.

Обесклеивание икры сигов следует проводить в ручную. В качестве обесклеивающего вещества целесообразно использовать тальк, мел или обезжиренное молоко. При выборе обесклеивающего вещества следует учитывать, что тальк и мел утяжеляют икру и делают ее оболочки не прозрачными. Первое нежелательно при инкубации икры в аппаратах Вейса, а второе затрудняет наблюдение за развитием эмбрионов.

Для проведения обесклеивания икры готовится суспензия обесклеивающего вещества. Суспензию из талька и мела готовят следующим образом: 75-100 г талька (мела) и 8-11 г поваренной соли смешивают с пятью литрами чистой воды, полученную смесь хорошо перемешивают. На каждый килограмм икры необходимо использовать 0.5 л густой приготовленной смеси, которую разбавляют четырьмя литрами воды.

Для приготовления обесклеивающего вещества из обезжиренного молока в него добавляют поваренную соль из расчета на один литр молока 2-3 г поваренной соли, Приготовленную смесь следует хорошо перемешать до полного растворения соли. Приготовленная таким образом смесь молока с поваренной солью вносится в икру для обесклеивания (на 1 кг икры 5 л молочной смеси).

До обесклеивания и во время обесклеивания икра должна находиться в движении. При прекращении движения необесклеенная икра будет собираться в комочки и дальнейшая ее обработка будет безуспешной. Обесклеивание заканчивается, если икринки не будут склеиваться. Обычно на эту операцию затрачивается до 45 минут. После этого икру следует хорошо промыть чистой водой.

Процесс обесклеивания икры с аналогичными требованиями можно проводить непосредственно в инкубационных аппаратах.. В этом случае необходимо очень тщательно следить за током воды в аппаратах, который бы обеспечивал очень слабое движение икры (без «кипения»).

Для выполнения профилактических мероприятий тщательно отмытую от суспензии икру подвергают воздействию дезинфицирующего раствора. Для

этого используют раствор хлорамина в концентрации 1:30000 (экспозиция 20 минут) или перекись водорода в дозировке 500-1000 мг/л (экспозиция 15 минут). Для проведения профилактики икра размещается в эмалированном тазике с небольшим количеством воды. Затем в тазик с икрой вливается используемый дезинфицирующий раствор и в зависимости от его состава икра выдерживается в нем определенное время (15-20 мин). При проведении дезинфекции необходимо очень тщательно следить за содержанием в воде кислорода. При снижении его содержания менее 5 мг/л дезинфекцию следует прекратить и икру тщательно промыть чистой водой и заложить в инкубационные аппараты, которые предварительно дезинфицируют свежим раствором хлорной извести.

III. Инкубация икры

Для инкубации икры сигов следует использовать экономичные и простые по конструкции аппараты Вейса, в которых возможно создать наиболее благоприятные условия для развития эмбрионов.

Аппарат Вейса — стеклянный или из оргстекла цилиндр, суживающийся книзу (перевернутая бутылка без дна). В нижнее (узкое) отверстие вставляется резиновая пробка, в которой строго по центру размещена синтетическая или металлическая трубка диаметром 0,7-1,2 см в зависимости от объема аппарата. Верхний (широкий) край аппарата обтянут обручем из синтетического материала с носиком для стока воды и слива выклюнувшихся личинок. Обычно для инкубации икры аппараты устанавливают в стойку (до 20 штук), имеющую 2 гнезда (нижнее и среднее) для устойчивого его крепления (рис. 1). Высота стандартного аппарата - 50 см, диаметр верхней части - 20 см, нижней - 3 см. Объем аппарата - 8 л



Рис. 1 Общий вид стойки с аппаратами Вейса

Вода в аппарат подается снизу через шланг, соединенный с синтетической (металлической) трубкой. Ток воды не только перемешивает икру, но поддерживает икринки во взвешенном состоянии на протяжении всего инкубационного периода. Сброс воды из аппарата происходит через сливной носик обруча, перед которым установлена решетка, предохраняющая от выноса из аппарата всплывающих икринок и выклюнувшихся личинок. Подача воды и ее сброс индивидуальные. Следует строго следить за вертикальной установкой аппаратов. Любое отклонение от вертикали изменяет направление струи водотока в аппарате, следовательно, нарушает равномерное перемешивание икры и способствует созданию заморных явлений.

Для размещения икры аппарат наполовину заполняют водой. Затем при очень слабом ее токе по стенке осторожно вливают в аппарат подготовленную к инкубации икру. Норма загрузки аппарата икрой сигов до 300 тыс. штук. Это, примерно 2/3 объема стандартного аппарата. После заполнения аппарата икрой регулируют его проточность. Расход воды в аппарате по мере развития эмбрионов увеличивается от 2.2 до 4.0 л/мин. Во время включения подачи воды в аппарат необходимо тщательно следить за равномерным перемешиванием икры. В случае неравномерности необходимо отрегулировать вертикальное положение аппарата. Нельзя допускать «кипения» икры, могут быть повреждения ее оболочек с соответствующими последствиями.

Икра сиговых фотофильна и рекомендуется ее инкубировать при рассеянном свете. Поэтому не допускается затемнение инкубационных цехов и инкубационных аппаратов. Полное затемнение инкубационных аппаратов приводит к гибели зародышей или выклеву нежизнеспособных личинок.

Обычно икра сигов инкубируется при температуре от 0.1 до 1.0°C. При этой температуре эмбриогенез продолжается от 160 до 128 суток. Чем выше температура инкубации икры, тем короче эмбриональный период. Если инкубацию икры сигов провести при температуре 1-2°C, то продолжительность эмбриогенеза сократится на 1/3 часть. К сокращению продолжительности эмбрионального периода путем повышения температуры воды следует относиться с очень большой осторожностью. Не рекомендуется инкубировать икру сигов вблизи верхней температурной границы экологического диапазона (7°C). Однако за 3-6 дней до выклева температуру воды следует увеличить до 5-6°C, что будет способствовать более массовому выклеву личинок.

Наряду с температурой необходимым условием при инкубации икры сигов является сохранение постоянного тока воды с высоким содержанием растворенного в ней кислорода (>7-8 мг/л). Целесообразно во время дробления икры ток воды сохранять в пределах 2.2-2.4 л/мин, на этапе подвижного эмбриона – 2.6-2.8 л/мин. Перед выклевом личинок ток воды следует увеличить до 4.0 л/мин.

Во время инкубации икры необходимо следить за общим ее состоянием. При появлении погибших икринок своевременно их удалять, чтобы не

способствовать развитию сапролегнии. Удалить погибшую икру из аппаратов Вейса не представляет никакой трудности, так как погибшие икринки всплывают и концентрируются над слоем живой развивающейся икры. По мере их накопления они удаляются при помощи сифона или через носик обруча.

Появление тонких нитей сапролегнии показывает на начало этого неприятного заболевания. Необходимо срочно провести профилактическую обработку икры одним из растворов: малахитовым зеленым с уровнем разведения 1/200000 и длительностью обработки 50 минут или раствором фиолетового «К» с концентрацией 5 мг/л и длительностью обработки 25 минут.

Для профилактической обработки икры рекомендуется также использовать препарат йодоформ (100 мг/л) или перекись водорода (500-1000 мг/л) при длительности экспозиции 10-15 минут.

При проведении любых манипуляций с икрой необходимо знать чувствительность эмбрионов на разных этапах развития к воздействию внешних факторов. Следует учитывать, что в процессе эмбриогенеза существуют так называемые «критические периоды», когда икра очень чувствительна к внешним воздействиям. У сига высокая чувствительность обнаружена перед и во время гастрюляции и во время дифференцировки осевых органов. В это время категорически запрещается проводить любые манипуляции с икрой, возможна ее значительная гибель. При появлении в глазах пигмента (стадия глазка) чувствительность икры к внешним воздействиям снижается и в это время икру можно обрабатывать, переносить, перевозить, и т. д. Если икра инкубируется при средней температуре 0,2°C, стадия глазка у чудского сига наступает на 54-67 день инкубации, у сига-лудоги – на 60-71 и у обыкновенного сига – на 60-68 день инкубации.

Оценить общее состояние инкубируемой икры возможно по величинам ее оплодотворяемости и последующей выживаемости.

Обычно величину оплодотворяемости определяют на стадии дробления зародышевого диска, когда под бинокуляром достаточно четко видны 2 или 4 бластомера. Для этого отобранные пробы икры (по 30-50 шт.) фиксируют 10 % уксусной кислотой с добавлением 10 г поваренной соли на 1 л раствора или смесью из спирта и ледяной уксусной кислоты в соотношении 3 : 1. В любой из этих жидкостей оболочки икринок становятся прозрачными, а зародышевый диск отчетливо просматривается под бинокуляром. В каждой пробе определяют количество оплодотворенной (процесс дробления продолжается) и неоплодотворенной (процесс дробления нарушен) икры. Принимая общее количество икры за 100 % рассчитывается процент оплодотворяемости икры в каждой пробе. Затем вычисляется средний процент оплодотворяемости икры в партии по трем пробам. Например, в первой пробе из 50 икринок оказались неоплодотворенными 2 икринки. Процент оплодотворяемости будет равняться 4.0%. Во второй пробе из 47 икринок 2 оказались неоплодотворенными. Процент оплодотворяемости –

4.2%. В третьей пробе из 45 икринок оказалась неоплодотворенной 1. Процент оплодотворения – 2.2%. В данной партии икры процент оплодотворяемости равен - $4.0 + 4.2 + 2.2 = 10.4 : 3 = 3.5\%$. Вполне удовлетворительный результат.

Величину выживаемости эмбрионов определяют по величине общего количества инкубируемой икры и по количеству погибшей икры. Если выживаемость эмбрионов сиговых более 75%, то результат инкубации признается хорошим.

При завершении формирования эмбрионов путем освобождения их от оболочек начинается выклев личинок, который может продолжаться несколько дней. В первые 1-2 дня личинки выклевываются единично. Затем скорость его увеличивается (этому должно способствовать увеличение температуры воды до 4.0°C). Через 5- 6 дней обычно выклев личинок прекращается. Оставшаяся икра подсчитывается для уточнения процента ее выживаемости за инкубационный период.

Выклевывающиеся личинки через носик верхнего обруча с помощью соответствующего шланга размещаются в личиночные ванны или другие рыбоводные емкости для дальнейшего выращивания.

Рекомендуемая литература

Рыжков Л.П., Кучко Т.Ю., Дзюбук И.М. Основы рыбоводства. Учебник. СПб. «Лань» 2011. 528 с.

Канидьев А.Н, Гамыгин Е.А. Пономарев С.В. Инструкция по биотехнике выращивания молоди сиговых рыб. ВНИИПРХ, М. 1987, 12 с.

Козлов В.И., Никифоров-Никишин А.Л., Бородин А.Л. Аквакультура. М. «Колос». 2006. 445 с.

Власов В,А. Рыбоводство. Учебное пособие. – СПб.: «Лань», 2010 352 с.