

МЕТОДИКА

Получения качественного потомства
для восстановления популяций
редких и исчезающих видов рыб
в южных морях России
(для осетровых рыб)

2012
ЮНЦ РАН

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
Южный научный центр

МЕТОДИКА

**ПОЛУЧЕНИЯ КАЧЕСТВЕННОГО ПОТОМСТВА
ДЛЯ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ПОПУЛЯЦИЙ РЕДКИХ
И ИСЧЕЗАЮЩИХ ВИДОВ РЫБ
В ЮЖНЫХ МОРЯХ РОССИИ
(для осетровых рыб)**

Ростов-на-Дону
2012

Редколлегия:

Академик Г.Г. Матишов (отв. редактор),
д.б.п. С.В. Пономарев, д.б.п. П.А. Балыкин, к.б.п. В.А. Лужняк

Пономарёва Е.Н., Григорьев В.А., Ковалёва А.В., Сорокина М.Н., Корчунов А.А. Методика получения качественного потомства для восстановления популяций редких и исчезающих видов рыб в южных морях России (для осетровых рыб). – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮНЦ РАН, 2011. – 30 с.

Рассматриваются вопросы получения качественного потомства для восстановления численности популяций редких и исчезающих видов рыб на примере осетровых. Представлены современные методы преднерестовой подготовки производителей осетровых рыб в УЗВ с использованием специального термического режима, биологически актив-ных веществ (витаминов), методы получения половых продуктов и осеменения икры, инкубации икры и подрачивания личинок.

Издание представляет интерес для рыбоводов, ихтиологов, специалистов, работающих в области сохранения биологического разнообразия, студентов и аспирантов биологических специальностей.

Рекомендации выполнены в рамках Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технического комплекса России на 2007-2012 годы» научно-исследовательские работы по государственному контракту № 16.518.11.7061 «Проведение исследований с использованием уникальных стендов и установок в области рационального природопользования» по теме: «Разработка научных основ инновационной технологии получения экологически чистого производства рыбной осетровой продукции при использовании модульной установки-комплекса».

Методика утверждена на заседании Президиума ЮНЦ РАН,
протокол № 3 от 13 апреля. 2012 г.

© Коллектив авторов

© ЮНЦ РАН

Введение

Азовское и Каспийское моря в недалеком прошлом характеризовались самым высоким уровнем воспроизводства таких ценных рыб, как осетровые. Эти ценные виды в настоящее время стали не только редкими, но и исчезающими. К 2000 году на Азове и Каспии резко сократилось естественное воспроизводство рыб и искусственное выращивание молоди на заводах.

Такое существенное сокращение объемов воспроизводства осетровых рыбоводными заводами непосредственно связано с дефицитом производителей естественной генерации, необходимых для рыбоводных целей, снижением интенсивности захода производителей на нерест в реки Волга и Дон, низким уровнем материально-технической базы рыбоводных заводов.

Если до 1994 года производственные мощности рыбоводных заводов обеспечивались в основном за счет яровых форм осетровых, то, начиная с 2000 года, до 90 % самок этих видов рыб были представлены озимой расой. Естественно, что вовлечение в рыбоводный процесс озимых форм требует коренной технической модернизации действующих рыбоводных заводов с учетом особенностей размножения этой части популяций. В этой связи, за последние годы возникла необходимость в прудах, зимовалах и цехах для длительной резервации производителей, отловленных в весенне-летний и осенний периоды нерестового хода.

Как правило, выход стандартной молоди от заложенной на инкубацию икры не превышает 40-50%. В экстремальные по климатическим условиям годы выпуск нестандартной молоди составляет 25-30% от общего количества.

Вопреки разработанным рекомендациям с 1991 года молодь осетровых не вывозится в естественные места нагула, а выпускается непосредственно из сбросного канала в реку.

Поэтому значительная часть молоди гибнет на путях ската в море из-за выедания ее хищными рыбами, дноуглубительных работ и водозаборных сооружений (Кряжев, 1980).

В связи с тем, что искусственное воспроизводство стало доминирующим в формировании численности и гетерогенности популяции каспийских и азовских осетровых, в первую очередь необходимо восстановление имеющихся и строительство новых цехов для накопления и длительной резервации производителей разных сроков нерестового хода. За последнее время активизировались мероприятия по механизации и автоматизации рыбоводных процессов. Однако на отдельных этапах биотехнического процесса доминирует ручной труд, не до конца решена проблема количественного учета разновозрастных личинок и молоди. Намечается тенденция внедрения экспресс-методов контроля и управления физико-химическими параметрами водной среды. К настоящему времени уже реализованы такие мероприятия, как строительство зимовалов на Сергиевском, Житненском ОРЗ (Астраханская область), ряд заводов оснащены пластиковыми бассейнами общей приемной мощностью 8,4 тонны. На большинстве заводов построены (Донской осетровый завод Ростовской области) или находятся в стадии строительства личиночно-выростные базы индустриального типа, что позволяет на 10-15 % повысить выживаемость личинок. Для снижения потерь за период инкубации осетровых, а также возможности вовлечения в рыбоводный процесс икры, оплодотворяемостью ниже 50 %, был внедрен метод пролонгированной обработки икры против сапролегниоза, что позволило дополнительно получать до 8-10 % однодневных личинок. Расширяются исследования для реализации формирования продукционных стад производителей осетровых (Львов, 1992, Львов и др., 1992; Федосеева и др., 2001; Васильева, 2006).

Необходимо отметить, что действующая биотехнология воспроизводства крайне энергоемкая и зависит от погодных условий и качества волжской и донской воды. Поэтому такие этапы биотехнического процесса, как получение, инкубация оплодотворенной икры, перевод ли-

чинок на экзогенное питание необходимо перевести на управляемый термический режим с использованием ограниченных объемов воды. В перспективе процесс выращивания разновозрастной молоди необходимо переориентировать на интенсивную биотехнологию. Реализация этих мер позволит осуществить перевод осетровых рыбоводных заводов на круглогодичный режим работы. От этого во многом зависит и успешное формирование репродуктивных стад осетровых в искусственных условиях для компенсации дефицита производителей естественной генерации. Особо следует выделить проблему рационального размещения молоди в места нагула в море при помощи живорыбных судов. Экспериментально доказано, что только за счет этого мероприятия эффективность работы рыбоводных заводов дельты Волги можно повысить в 2-2,5 раза (Полянинова, 1983).

Анализ фактических результатов производственной деятельности осетровых рыбоводных заводов Нижней Волги и Дона показывает, что для повышения эффективности искусственного воспроизводства осетровых требуется усовершенствование технологии работы с производителями осетровых при условии вовлечения в воспроизводство всей структуры нерестовой части популяций. Наряду с этим необходимы рекомендации по снижению потерь на последующих этапах рыбоводного процесса с получения качественных половых продуктов, личинок и жизнестойкой молоди. Достичь этого возможно за счет внедрения управляемых элементов водной среды, а также интенсивных технологий в осетроводстве (Пономарев и др., 2002).

Эффективно выращивать молодь осетровых рыб на ранних этапах онтогенеза можно в установках замкнутого водообеспечения. Использование их на кратковременный период до жизнестойких стадий позволит исключить влияние природных факторов, обеспечить контроль за параметрами водной среды, заболеваниями и обеспечить личинок и молодь полноценными кормами.

На основе проведения научных исследований по управлению процессом получения жизнестойкой молоди редких и исчезающих видов

осетровых рыб (стерлядь, белуга, шип) в южных морях России в установке замкнутого водообеспечения были разработаны методические рекомендации.

1. Преднерестовая подготовка производителей осетровых рыб в УЗВ

При выращивании осетровых рыб в условиях замкнутого водоснабжения для оптимизации работы эндокринной системы проводят искусственную зиму. В бассейнах, где содержится рыба в преднерестовый период, снижается температура воды до 6 °С, постепенно в течение недели на 1,0–1,5 °С в сутки. Далее две недели выдерживают рыбу при этой температуре. Затем в течение недели повышают температуру до нерестовой – 15 °С, и поддерживают такой температурный режим до введения гормональных препаратов в соответствии с рисунком 1.

Данная схема проведения искусственной зимовки зависит от видовых особенностей осетровых рыб, в частности, могут наблюдаться различия в показателе нерестовой температуры воды.

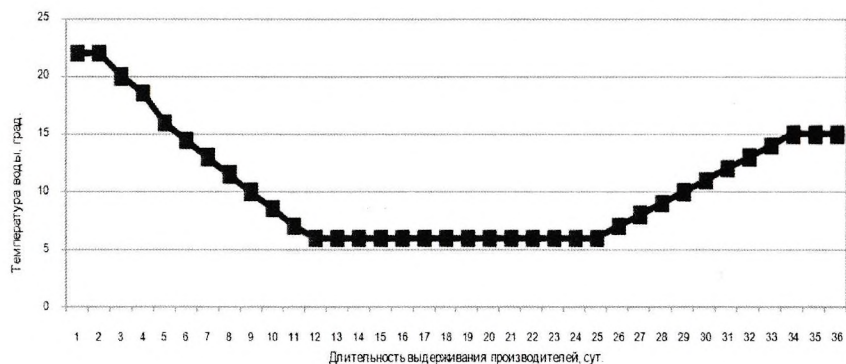


Рис. 1. График ввода производителей осетровых рыб в нерестовое состояние

Схема искусственной зимовки, позволяющая максимально эффективно использовать производителей этих видов рыб для получения потомства, представлена в таблице 1.

Таблица 1

Влияние продолжительности искусственной зимовки в УЗВ на производителей осетровых рыб на примере стерляди

Продолжительность искусственной зимы (недели)	1 неделя	2 недели	3 недели	4 недели
	Малоэффективно, созревает 10-20 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов 7-8, время созревания более 30 часов	Оптимально, созревают 80-100 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов в 9-11, время созревания от 22 до 26 часов	Оптимально, созревают 80-100 % рыб с коэффициентом поляризации ооцитов в 9-11, время созревания от 24 до 28 часов	Возможно для рыб с низким коэффициентом поляризации ооцитов 13-15 для завершения гаметогенеза, оказывает негативное влияние на ооциты рыб с высоким коэффициентом поляризации ооцитов 7-9 (разрушение оболочек ооцитов)

Оптимальная продолжительность зимовки производителей осетровых рыб, половые продукты которых находятся на четвертой завершённой стадии зрелости, должна составлять 2–3 недели.

В период преднерестового выдерживания осетровых рыб осуществляют инъекции комплексом витаминов С, Е и В₁₂, что позволяет дополнительно стимулировать репродуктивную систему производителей и качественно подготовить их к нересту (рис. 2) (Сорокина, 2004; Ковалёва, 2006). Для этого необходимо использовать фармацевтические препараты раствора 10%-ной аскорбиновой кислоты (100 мг/мл), 30%-ного α-токоферол-ацетата (300 мг/мл) и цианкобаламина (500 мкг/мл).

Витамин Е относится к группе жирорастворимых витаминов, поэтому перед введением ампулу с препаратом необходимо разогреть на водяной бане. Витамин В₁₂ вводят на следующий день после инъекции витаминами Е и С.

Витамины вводят медицинским шприцем объемом 2–5 см³ в спинную мышцу на уровне третьей жучки. Для каждого препарата используют индивидуальный шприц.



Рис. 2. Схема регулирования нереста стерляди при использовании искусственной зимы и витаминов

Использование биологически активных веществ (комплекса витаминов С, Е и B_{12}) позволяет сократить длительность завершающих стадий гаметогенеза, повысить процент самок (90–100 %) с высокими репродуктивными показателями и увеличить оплодотворение икры.

2. Стимулирование созревания половых продуктов у производителей

При искусственном разведении рыб существует три метода стимулирования созревания половых продуктов у производителей: экологический (Державин, 1932), физиологический (Гербильский, 1941) и эколого-физиологический.

В современной практике промышленного осетроводства, как отечественной, так и зарубежной, наиболее распространен эколого-физиологический метод.

В условиях тепловодных хозяйств половая зрелость самцов осетра наступает в возрасте 3–4, а самок – 6–7 лет, стерлядь созревает в более ранние сроки – самцы в 2–3, самки – в 3–4 года. Зрелость самок

определяют в ходе осенней и весенней бонитировки производителей: в октябре–ноябре и в марте–апреле. Оптимальная нерестовая температура воды в зависимости от видовой принадлежности для производителей составляет 11–16 °С.

Для исследования развития репродуктивной системы рыб используется метод ультразвуковой диагностики (УЗИ) (рис. 3). При этом значительно сокращается время диагностики пола рыб и стадии зрелости гонад (СЗГ), а исследуемые особи не травмируются.

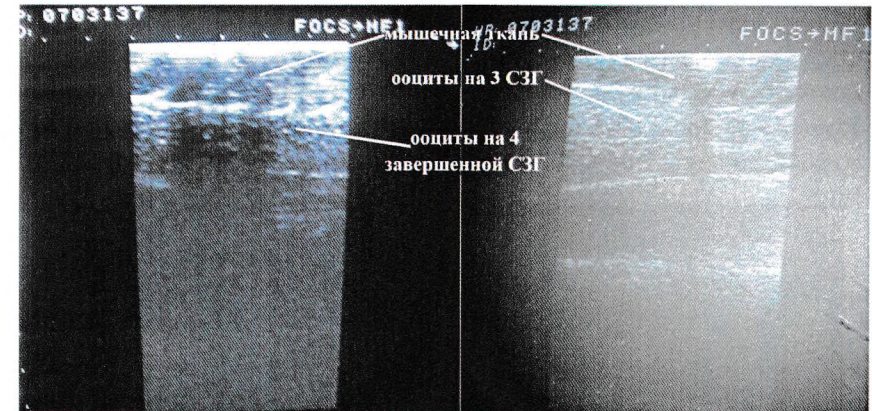


Рис. 3. Отображение гонад на мониторе аппарата УЗИ

Система для проведения ультразвуковой диагностики укомплектована датчиком, модулем отображения полученных данных и регулировкой исследуемых параметров в зависимости от типа исследуемых органов.

При промышленном разведении осетровых рыб необходим постоянный контроль завершающего этапа гаметогенеза у самок осетровых независимо от их видовой принадлежности. С этой целью был разработан экспресс-метод определения степени зрелости гонад у производителей осетровых рыб (Казанский и др., 1978). Суть данного метода заключается в следующем: рыба фиксируется в боковом положении;

напротив 4–5-й брюшной жучки вводится щуп под углом 45°; после погружения щуп проворачивается вокруг оси для захвата икринок (рис. 4); ранка обрабатывается дезинфицирующим раствором $KMnO_4$ и рыба отпускается в бассейн.

Щуп представляет собой стальную толстую заостренную иглу с канавкой для сбора икринок. Толщина щупа зависит от видовой принадлежности самок осетровых рыб. Для белуги диаметр составляет 6 мм, осетра – 5 мм, севрюги – 3–4 мм, шипа – 4 мм, стерляди – 3 мм.

Икринки из канавки щупа препаровальной иглой вынимаются в чашку Петри и заливаются 4%-ным раствором формалина или в течение 5 минут варятся в этом растворе. Затем не менее 10 икринок разрезаются лезвием от анимального полюса к вегетативному и при помощи бинокля определяются расстояние от ядра ооцитов (к анимальному полюсу) до внутренней оболочки икринки (рис. 5). (Трусов, 1964)

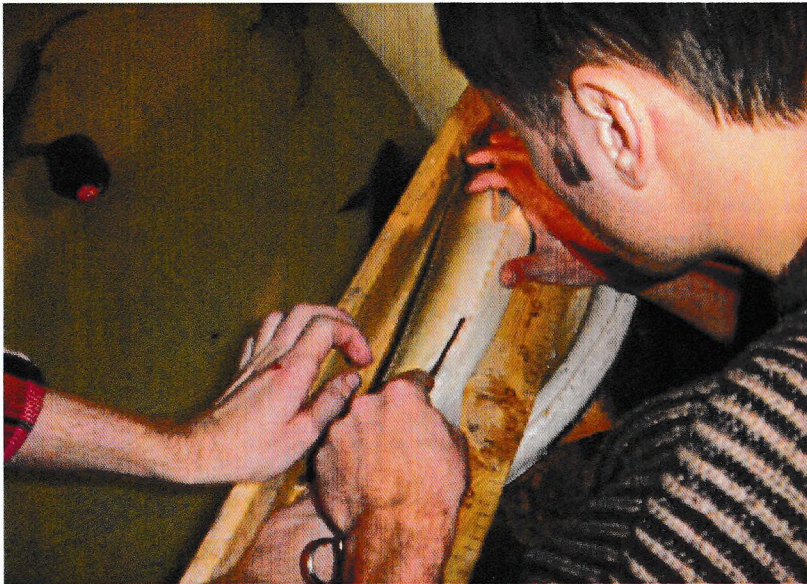


Рис. 4. Отбор ооцитов у производителей осетровых рыб с помощью щупа

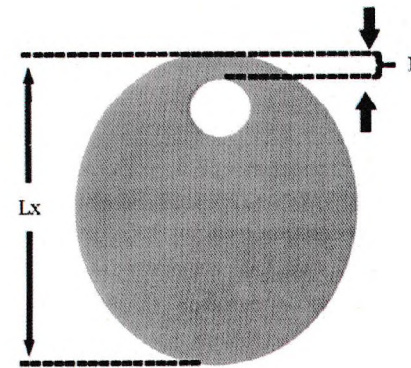


Рис. 5. Схема выполнения промеров ооцита для расчета коэффициента поляризации

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

Оптимальные значения величины коэффициента поляризации ооцитов у осетровых рыб в преднерестовом состоянии должны быть в пределах 6–9 %, что соответствует четвертой завершённой стадии зрелости гонад (рис. 6).

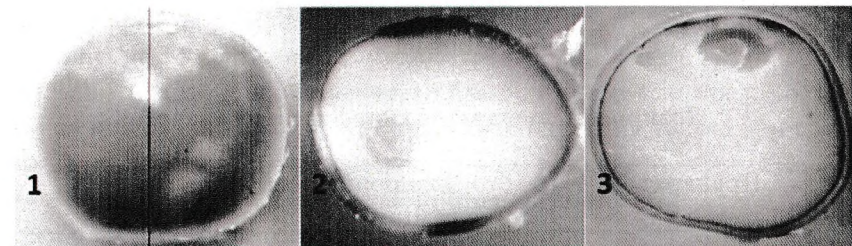


Рис. 6. Ооциты стерляди на разных стадиях зрелости:

1 – Ооцит стерляди в процессе перехода с третьей на четвертую СЗГ; 2 – Ооцит стерляди на четвертой начальной СЗГ; 3 – Ооцит стерляди на четвертой завершённой СЗГ

Более низкое значение этого показателя указывает на начало реорбции икры, а более высокое подтверждает незавершенность четвертой стадии зрелости самок. Такие рыбы требуют дополнительного выдерживания при нерестовой температуре с учетом видовых особенностей рыб.

Для приготовления инъекций используются гипофизы, которые предварительно заготавливают на промысловых участках от рыб, находящихся в преднерестовом состоянии, так как их железы имеют наибольшую концентрацию гонадотропных гормонов (Боев, 1989). Гипофизы обезживают и обезжиривают химически чистым ацетоном, высушивают и складывают в плотно закрывающиеся пузырьки или пробирки. В таких условиях эти органы могут храниться, сохраняя свою активность, в течение нескольких лет. Перед проведением инъекций гипофизы измельчают в ступке, добавляют расчетное количество физиологического раствора и вводят с помощью шприца определенное количество суспензии в мышцы спины рыбы.

Для гормональных инъекций осетровым рыбам помимо гипофиза осетра используют гипофиз карпа, леща или сазана. В связи с сокращением в естественных водоемах промысловых запасов осетровых и карповых рыб, возникла необходимость замены их гипофизов другими гормональными препаратами, в том числе синтетическими гормональными препаратами, например, LH-RHa (Luteinizing Hormone – Releasing Hormone Ethylamide) или GnRHa (Gonadotropin Releasing Hormone Ethylamide) (табл. 2) (Гончаров, 1991).

Таблица 2

Дозировки препаратов гипофиза и их аналогов

Препарат	Дозировка препарата, мг/кг	
	самки	самцы
Осетровый гипофиз	1,3–1,8	0,5–1,0
Карповый гипофиз	3,0–6,0	1,0–2,0
LH-RHa (сурфагон)	4,0–8,0	2,0–4,0
GnRHa	5,0–10,0	2,0–5,0

Примечание:

Самки: 1-я инъекция - 10 % от общей дозы за 36 часов до получения икры;

2-я инъекция - 90 % от общей дозы, через 12 часов после первой;

Самцы: инъекцируются за 2-3 часа до самок

Разработки таких препаратов ведутся в трех направлениях: первое из них связано с заменой гонадотропина гипофиза рыб другими гонадотропными препаратами, имеющими гипофизарное или плацентарное происхождение, второе – с использованием рилизинг-гормона, который мог бы активизировать собственный гипофиз рыбы и третье – с использованием стероидных гормонов, которые воздействуют на ооциты, вызывая их созревание и овуляцию. Наибольшее распространение в рыбоводной практике при инъекции производителей осетровых рыб получили синтетические препараты сурфагон и нерестин, которые воздействуют на нейроэндокринную систему рыб с последующей выработкой гонадотропного гормона непосредственно организма (Гончаров, 1991).

При использовании синтетических препаратов для стимуляции овуляции и спермации производителей осетровых рыб необходимо учитывать, что при инъекции туводных видов осетровых рыб, как правило, самки не реагируют на гормональную стимуляцию вследствие того, что при действии препарата на гипофиз рыбы происходит блокировка выработки гонадотропных гормонов гипофиза посредством дофаминовых рецепторов (рис. 7).

В процессе подготовки самок осетровых рыб к нересту при искусственном разведении обеспечивают благоприятные условия для созревания икры. Для этого следует проводить инъекции только при оптимальных нерестовых температурах и выдерживать производителей в чистой, насыщенной кислородом проточной воде.

Во избежание потери икры от перезревания или недозревания самок после гипофизарной инъекции, целесообразно пользоваться графиками зависимости продолжительности созревания от температуры воды (рис. 8). (Детлаф и др., 1981)



Рис. 7. Схема действия гормональных препаратов при стимуляции овуляции осетровых рыб

Однако при использовании синтетических гормональных препаратов длительность созревания, как правило, увеличивается на 2–4 часа, в зависимости от видовой принадлежности проинъецированных рыб.

При температуре, значительно отличающейся от нерестовой, нарушается нормальное протекание процесса созревания ооцитов и их овуляции, в результате ооциты либо плохо овулируют, либо происходит их резорбция. Среди отложенных в таких условиях яиц часть не оплодотворяется, а большинство оставшихся развивается с аномалиями. Благоприятные для созревания осетровых рыб температуры соответствуют диапазону от 11 до 16 °С.

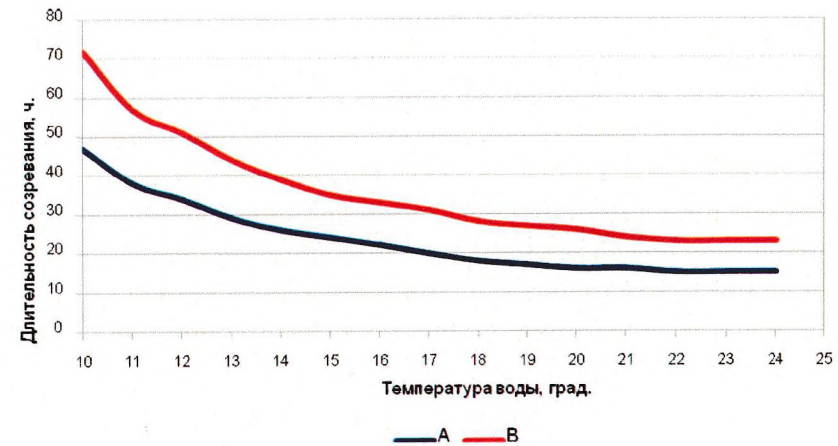


Рис. 8. Зависимость продолжительности созревания самок осетровых рыб от температуры воды на примере стерляди: А – время начала созревания самок, ч.; В – время окончания созревания самок, ч.

3. Получение половых продуктов и осеменение икры

Важнейшей задачей для рыбовода является точное определение срока, когда следует брать икру у самки. При преждевременном взятии икры большая часть ооцитов ещё прочно соединена с ястыком и не отделяется. Ооциты, с усилием отделенные от ястыка и оставшиеся внутри фолликулов не оплодотворяются, поскольку стенка фолликула препятствует контакту сперматозоидов с яйцом. При передержке самки позднее срока полной овуляции всей икры яйца, оставшиеся в полости тела, повреждаются, после оплодотворения дают большой процент уродств или травмируются, и не пригодны для воспроизводства. Это так называемая «перебитая» или «перезрелая» икра.

Лучше всего оплодотворяются и развиваются яйца, отложенные естественным путем и не задержанные в полости тела, и яйца, легко отделяющиеся от яичника.

В практике рыбоводства часто возникает проблема возможности искусственного осеменения икры после нескольких часов ее нахождения в полости тела снулой самки или отцеженной в емкость без воды. Это явление называется постовулярным перезреванием, или передержкой икры, часто наблюдаемым при применении гипофизарных инъекций. Так, у русского осетра продолжительность сохранения способности к оплодотворению яиц в теле самки или вне его составляет 2–3 часа при температуре 18–20 °С.

Получение половых продуктов от текущих, находящихся в пятой стадии зрелости, производителей производят в затененном месте или помещении, поскольку прямой солнечный свет губительно действует на икру и сперму. Икру удобнее всего собирать в эмалированные миски или тазы. Посуда для отцеживания половых продуктов должна быть с ровной поверхностью и абсолютно сухой, так как во влажной среде происходит активация икры, что легко обнаружить по ее набуханию. Это препятствует оплодотворению и значительно снижает количество развивающейся икры. Вода в таз может попасть также с рыбы, поэтому брюшко производителя необходимо вытереть сухим полотенцем.

Прежде для получения зрелой икры от самок крупных осетровых рыб – белуги, осетра, севрюги, шипа – применялся способ вскрытия. При этом самок предварительно убивали ударом колотушки по голове, обескровливали, делая ножом глубокие надрезы на жабрах и хвостовой артерии, а после стекания крови рыбу подвешивали на блоке. Когда сток крови полностью прекращался, рыбу омывали водой, насухо вытирали полотенцем и ножом разрезали брюшко от генитального отверстия вверх на 10–15 см. Затем из самки извлекали в заранее подставленную посуду – чистый и сухой эмалированный таз – всю икру.

В настоящее время в связи с трудностями заготовки производителей осетровых в естественных водоемах и формированием ремонтно-маточных стад на большинстве рыбоводных предприятий применяется технология прижизненного получения икры.

Первый способ прижизненного получения икры был разработан И.А. Бурцевым (1969). Этот способ предусматривает выполнение на

брюшной стороне разреза длиной до 15 см для извлечения зрелой икры (рис. 9). После получения икры рану обеззараживают, зашивают, а самка остается живой (рис. 10). По истечении 1–2 лет от этой самки можно вновь получать качественную икру.



Рис. 9. Выполнение разреза брюшной стенки самки бестера для прижизненного отбора овулировавшей икры по методу И.А. Бурцева



Рис. 10. Хирургический шов после прижизненного отбора овулировавшей икры у самки бестера

Второй способ прижизненного получения икры от самок осетровых был разработан С.Б. Подушкой (1986). Данный метод предусматривает выполнение с помощью скальпеля небольшого надреза одного из яйцеводов для сцеживания зрелой икры (рис. 11-13).

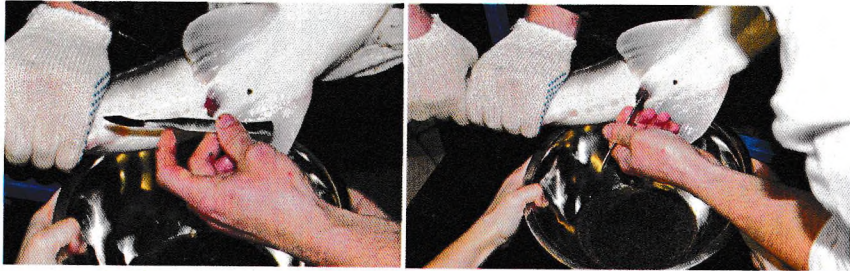


Рис. 11. Выполнение надреза яйцевода у самки

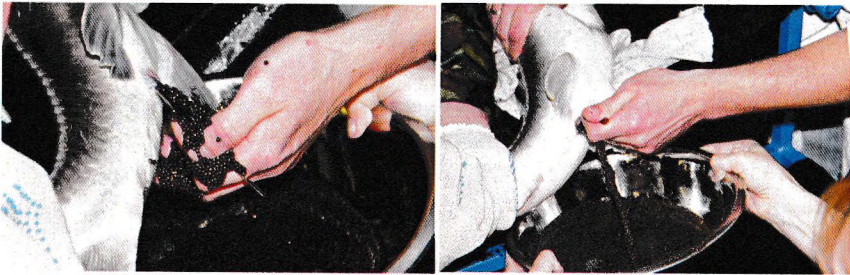


Рис. 12. Сцеживание овулировавшей икры после подрезания яйцевода

Этот метод требует особой квалификации специалиста при проведении рыбоводно-хирургических операций производителям.

Целесообразно за один час до сцеживания икры производить отбор половых продуктов от самцов, которые также должны быть абсолютно чистыми и сухими во избежание активации сперматозоидов и преждевременной утраты их оплодотворяющей способности. Сперма у рыб выделяется порционно. Объем и качество одновременно продуцируемой порции являются одними из ведущих показателей при оценке репродуктивной функции самцов (рис. 14).



Рис. 13. Репродуктивная икра, полученная от производителей осетровых рыб

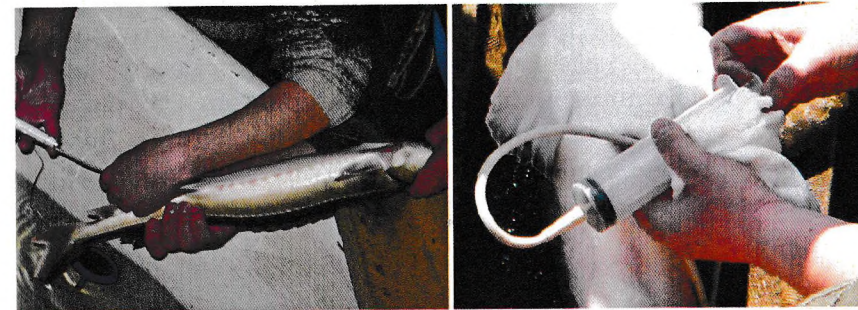


Рис. 14. Отбор спермы у самцов осетровых рыб с использованием катетера

По внешним признакам сперма осетровых рыб имеет консистенцию молока. Концентрация сперматозоидов в эякуляте достигает десятков миллионов в 1 мм^3 . Сперматозоиды неподвижны до тех пор, пока находятся в спермальной жидкости. В овариальной жидкости, вытекающей в посуду вместе с икрой, сперматозоиды малоактивны. В ней оболочки икринок не набухают, активации ооцитов не происходит и поэтому микропилле не закрываются.

Для предотвращения случайного попадания влаги и неизбежной активации поступающих порций сперматозоидов, отцеживать сперму следует в отдельную емкость, и лишь затем смешивать ее с икрой.

Попав в воду, сперматозоиды сразу же активизируются, приобретая способность к оплодотворению, но длительность их активного движения ограничена и составляет в среднем 5–10 минут. Продолжительность периода движения сперматозоидов в воде является показателем их активности. В этом периоде выделяют две стадии: энергичного поступательного движения и постепенного затухающего колебательного движения. Так, например, у русского осетра при температуре воды 16,5 °С общая продолжительность активности сперматозоидов составляет 5–9,5 минут, а длительность поступательного движения от 3,5 до 5,0 минут. У стерляди при температуре воды 18,6 °С продолжительность поступательного движения сперматозоидов составляет 2,5–3,0 минуты.

Активность сперматозоидов определяют под микроскопом по 5-балльной шкале Г.М. Персова. Наблюдая в микроскоп, соединяют препаровальной иглой каплю спермы с водой. Попав в воду, сперматозоиды становятся подвижными и быстро распространяются в капле воды. Сперма, в которой все сперматозоиды подвижны и большинство из них движется поступательно, оценивается в 5 баллов (рис. 15). При 4 баллах в сперме хорошо выражено поступательное движение, но 10–15% сперматозоидов имеют лишь колебательное движение. Сперма,

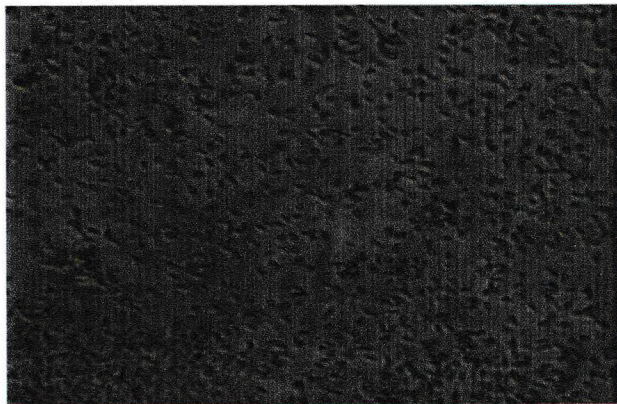


Рис. 15. Активированные сперматозоиды перед осеменением (увел. 10x10)

оцениваемая в 3 балла, характеризуется тем, что у 50–60 % выражено поступательное движение и 30–40 % колебательное, уже имеются неподвижные спермии. Сперма в 2 балла имеет единичные сперматозоиды с поступательным движением и 70–75 % неподвижных. При 1 балле все сперматозоиды неподвижны.

Для искусственного осеменения икры используют сперму, оцениваемую в 4–5 баллов, в крайних случаях – 3 балла, но при увеличении объема спермы.

Перед осеменением икру распределяют по тазам, где и производят этот процесс. Сперму собирают в сухие чистые сосуды отдельно от каждого самца. Осеменение икры производят смесью спермы от 3–5 самцов после проверки ее качества. Лучшие результаты дает осеменение сразу после получения зрелой икры.

Оплодотворение икры осетровых рыб производят «полусухим» способом. У осетровых рыб икра имеет несколько микро-пилярных каналов (Подушка, 1999), что при избытке сперматозоидов в процессе искусственного осеменения может привести к одновременному проникновению в яйцеклетку нескольких сперматозоидов (полиспермное оплодотворение). Это приводит к возникновению аномалий развития эмбрионов, и в итоге к их гибели. Поэтому для осетровых рыб с целью предотвращения полиспермии применяется «полусухой» способ осеменения путем предварительного разбавления отцеженной спермы водой.

Смесь из расчета 10 мл спермы на 1 кг икры прежде чем вылить в таз с икрой разводят в 200 раз, то есть в 2 л воды. Икру тщательно и осторожно перемешивают с разведенной спермой птичьим пером (гусиным, утиным) или рукой в течение 5 минут. После этого воду с остатками спермы сливают, промывают икру водой и приступают к обесклеиванию. Обесклеивающая суспензия готовится следующим образом: на 10 л воды добавляют тальк или мел – 150–200 г, ил речной – 0,5 л, молоко сухое – 200–250 г, молоко цельное – 2 л, танин 1 гр/2 л. Обесклеивание полученной суспензией икры проводят в аппаратах для обесклеивания икры (АОИ) (рис. 16), или вертикальных аппаратах типа «Вейса» при энергичном барботаже в течение 40–45 минут. При небольших партиях



Рис. 16. Стандартные аппараты для обесклеивания икры

икры целесообразно использовать простую конструкцию для обесклеивания, представленную на рисунке 17.



Рис. 17. Модифицированный аппарат для обесклеивания небольших объемов икры

После завершения процесса обесклеивания оплодотворенная икра должна свободно отделяться друг от друга и не должна приклеиваться к стенкам аппарата, такую икру необходимо тщательно отмыть от раствора путем многократного промывания чистой водой (рис. 18).



Рис. 18. Отмывка икры перед закладкой на инкубацию (45 мин)

При этом необходимо контролировать температуру промывающей воды для предотвращения гибели эмбрионов, разница температур не должна превышать 0–0,5 °С.

4. Инкубация икры

Успешная инкубация в любом типе аппарата определяется биологическим качеством икры, поступившей на инкубацию, температурой воды, оптимальной для развития, и спецификой самого инкубационного аппарата. Процесс эмбрионального развития протекает у белуги 5–14 суток при температуре воды 11–17 °С, у осетра 5–10 суток при 12–20 °С, у севрюги 4–6 суток при 16–22°С. При благоприятных усло-

виях инкубации продолжительность развития эмбрионов зависит от температуры воды. Повышение температуры ускоряет развитие, понижение – замедляет.

На большинстве рыбоводных предприятий процесс инкубации обесклеенной икры осетровых производится в аппаратах «Осетр» и других аналогичных конструкциях в условиях чередования покоя и всплытия икринок вверх и опускания вновь на сетчатое дно под воздействием гидропривода.

Для инкубации небольших объемов икры в условиях регулируемых параметров водной среды был сконструирован инкубационный аппарат (рис. 19), принципиальная конструкция которого была предложена в своей монографии Кокозой А.А. (Кокоза, 2004). Аппарат состоит из ящика аппарата «Осетр», помещенного в рыбоводный бассейн 1×1 м. Сверху установили ковш от аппарата «Осетр», воду на который подавали фильтром Hydor.

Уход за икрой в период инкубации заключается в обеспечении светового режима (отсутствие прямого солнечного света), контроля качества подаваемой воды и постоянного отбора мертвой икры. Содержание растворенного кислорода в воде должно составлять 8–11 мг/л.

Предупреждение развития сапролегниоза (микозная болезнь икры) инкубируемой икры достигается путем проведения дезинфекции инкубационных аппаратов перед закладкой икры. При проведении

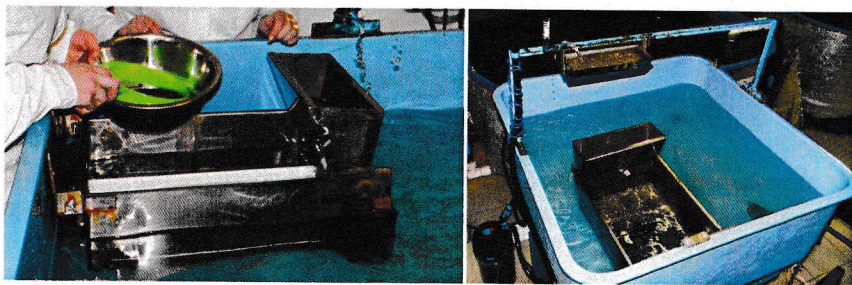


Рис. 19. Модифицированный инкубационный аппарат, работающий по принципу замкнутого водообеспечения

инкубации для предотвращения развития сапролегниоза используют фиолетовый К в концентрации 2-3 мг/л.

5. Выдерживание предличинки, подращивание личинок

Выход предличинки у осетровых по завершении инкубации икры обычно составляет 80–90 % (рис. 20). Их размещают в бассейны 1×1×0,4 м рабочим объемом 250-300 л., снабжаемые чистой, хорошо аэрированной водой.

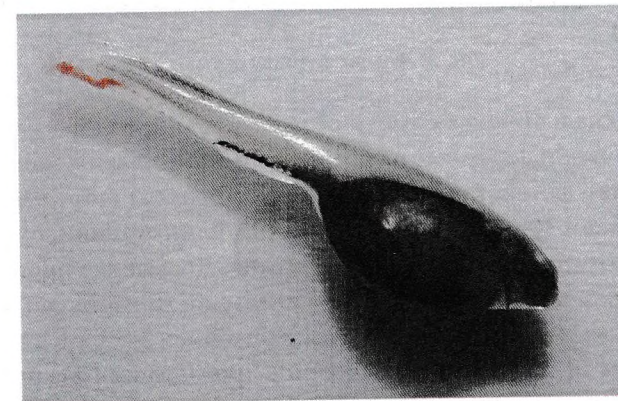


Рис. 20. Однодневная личинка осетровых рыб

Плотность посадки предличинки 3–5 тыс./м². За 3–4 дня до перехода на активное питание предличинки начинают образовывать на дне бассейна веерообразные скопления – «рои» (рис. 21).

К моменту перехода на питание внешней пищей они рассредоточиваются по дну и в толще воды. Выход меланиновой пробки из анального отверстия у всех личинок длится 3–4 дня. Уход за предличинками заключается в ежедневном удалении погибших экземпляров,

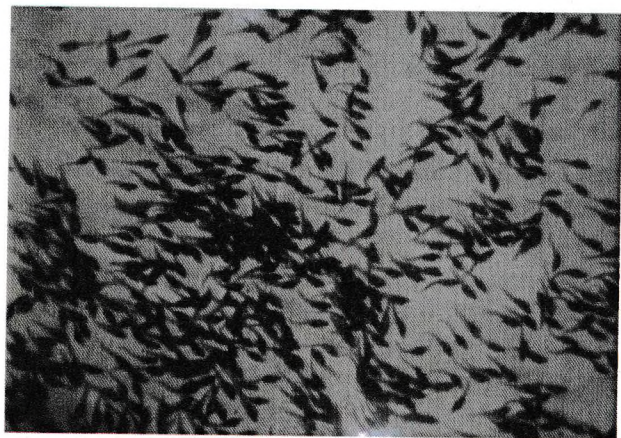


Рис. 21. Роение личинок осетровых рыб

очистке дна и стенок емкостей от осевшего ила, водорослей. Через 5–7 суток личинки переходят на внешнее питание мелким зоопланктоном.

Кормят личинок в основном искусственным стартовым кормом с добавлением 10–15 % живого корма (науплии артемии, пресноводный зоопланктон) в течение первого месяца. Кормление производят круглосуточно через 2 часа при учете поедаемости корма, по достижении молодью массы 3 г – через 3–4 часа. Водообмен 2–3 раза в час, температура воды 20–25 °С. Чистка бассейнов производится два раза в день.

При выращивании молоди важнейшим технологическим элементом является сортировка рыбы. Первую сортировку можно начинать по достижении мальками массы 300–500 мг, при этом мелкую рыбу не трогают, отсаживают только крупную молодь. По достижении молодью массы 1 г ее сортируют и пересчитывают.

Этапы получения половых продуктов, осеменения и инкубации икры, подращивания предличинок являются наиболее ответственными в технологическом процессе, поскольку определяют успешность дальнейшей деятельности хозяйства. На этой стадии особенно важны ответственность и высокая квалификация обслуживающего персона-

ла. Поэтому для целей товарного рыбоводства выгоднее предусмотреть приобретение подрощенной молоди в рыбопитомниках. В этом случае не потребуются бассейны для содержания производителей, выпадают процессы оплодотворения и инкубации икры, подращивания личинок, что значительно упрощает и укорачивает процесс получения товарной продукции. Однако в этом случае следует оценить возможности стабильного снабжения рыбопосадочным материалом и возможности его безотходной транспортировки.

Список использованной литературы

- Боев А.А.** 1989. Инструкция по приготовлению, тестированию и использованию в рыбоводстве глицеринового гипофизарного препарата осетровых и карповых рыб. М.: Главрыбвод. 7 с.
- Бурцев И.А.** Получение потомства от межродового гибрида белуги со стерлядью // Генетика, селекция и гибридизация рыб. М.: Наука, 1969. С. 232-242.
- Васильева Л.М.** Роль центра «БИОС» в развитии отечественного осетроводства / Л.М. Васильева. Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития. – М.: ВНИРО, 2006. – С. 5-7.
- Гербильский Н.Л.** Метод гипофизарных инъекций и его роль в воспроизводстве рыбных запасов // Труды ЛГУ. 1941. С. 28-31.
- Гончаров Б.Ф., Изумнова Л.В., Полупан И.С. и Савельева Э.А.** 1991. Сравнение действия синтетического аналога гонадотропин – рилизинг гормона и гипофизов осетровых рыб. Онтогенез. 22 (5): 514–524.
- Державин А.Н.** Нормативы по воспроизводству осетровых запасов. М., 1932.
- Детлаф Т.А., Гинзбург А.С., Шмальгаузен О.** Развитие осетровых рыб. – М.: Наука, 1981.- 224 с.
- Казинский Б.Н., Феклов Ю.А., Подушка С.Б., Молодцов А.Н.** Экспресс-метод определения степени зрелости гонад у производителей осетровых рыб // Рыбное хозяйство. – 1978. – № 2. – С. 24-27.
- Ковалева А.В.** Эффективность использования цианокобаламина для повышения резистентности объектов аквакультуры на разных этапах онтогенеза. // Автореф. дисс. ... к-та биол. наук. – Астрахань, 2006. – 24 с.
- Козоза А.А.** Искусственное воспроизводство осетровых рыб. Астрахань: Изд-во АГТУ, 2004. – 208 с.
- Кряжев А.И.** Влияние хищных рыб на формирование численности молоди осетровых в Волго-Каспийском районе: Дисс. ... канд. биол. наук, Астрахань, 1980, 154 с. – 162.

- Львов Л.Ф., Попова А.А., Чуканова В.А.** О прижизненном получении потомства у русского осетра // Биологические ресурсы Каспийского моря. Тезисы докладов первой международной конференции. Астрахань. 1992. С. 253-256.
- Львов Л.Ф., Соловьева О.М.** О рыбоводно-биологических показателях самок русского осетра искусственной генерации. // Биологические ресурсы Каспийского моря. Астрахань, 1992. С. 253-256.
- Персов Г.М.** Половая функция самцов осетровых. «Вестник ЛГУ», 1948, № 8.
- Подушка С.Б.** Способ получения икры от самок осетровых рыб. Авторское свидетельство СССР № 1412035. 1986.
- Подушка С.Б.** 1999. Изменчивость числа микропиле в яйцах стерляди *Acipenser ruthenus* // Научно-технический бюллетень лаборатории ихтиологии ИНЭНКО. – № 2. – СПб. – С.39-45.
- Полянинова А.А.** Питание и обеспеченность пищей заводской молоди осетровых в западном районе Северного Каспия // Биологические основы осетроводства. М.: Наука, 1983. С. 200-216.
- Пономарев С.В., Гамыгин Е.А., Никоноров С.И., Пономарева Е.Н., Грозеску Ю.Н., Бахарева А.А.** Технологии выращивания и кормления объектов аквакультуры юга России (справочное, учебное пособие). – Астрахань: «Новая плюс», 2002. – 264 с.
- Сорокина М.Н.** Эффективность использования α-токоферола и аскорбиновой кислоты при подготовке самок осетровых рыб к нересту. // Автореф. дисс. ... к-та биол. наук. – Астрахань, 2004. – 24 с.
- Трусов В.З.** 1964. Метод определения зрелости половых желез самок осетровых. Рыбное хозяйство. 1: 26–28.
- Федосеева Е.А., Лозовский А.Р., Шевлякова Н.В.** Сезонная динамика содержания белков сыворотки крови у разновозрастных осетровых, содержащихся в РМС.// Международная научно-практическая конференция «Аквакультура осетровых рыб: достижения и перспективы развития». Астрахань, 2001. С. 39-41.

Пономарёва Е.Н., Григорьев В.А., Ковалёва А.В.,
Сорокина М.Н., Корчунов А.А.

**Методика получения качественного потомства для
восстановления популяций редких и исчезающих
видов рыб в южных морях России
(для осетровых рыб).**

Печать цифровая. Бумага офсетная. Гарнитура «Minion Pro».

Формат 60x84/16. Тираж 50 экз.

Отпечатано в РИО ЮНЦ РАН.

344006, г. Ростов-на-Дону, пр. Чехова, 41

Тел. (863) 250-98-21