

Инновационная модель комбинированного стимулирования овуляции у осетровых рыб и цитометрические особенности продуцируемых ооцитов

Э.В. Бубунец¹, А.О. Ревякин², А.В. Лабенец³

¹ – ФГБУ «Центральное управление по рыбохозяйственной экспертизе и нормативам по сохранению, воспроизводству водных биологических ресурсов и акклиматизации», Москва

² – ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», Московская область

³ – Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства РАСХН, Москва

Контактная информация: к.б.н. Ревякин Артем Олегович, scbmt@yandex.ru

Рассматриваются результаты практического использования защищенной патентом РФ модели стимулирования овуляции. Показано, что овулировавшие в результате комбинированного воздействия суспензии гипофиза карпа и синтетического препарата «Сурфагон» ооциты осетровых физиологически полноценны. Несмотря на несколько меньшие размеры, они могут успешно использоваться как для репродукции, так и для производства пищевой черной икры.

Ключевые слова: стимулирование овуляции, гипофиз, «Сурфагон» ($C_{56}H_{78}N_{16}O_{12}$), осетровые рыбы, ооциты.

Введение

Расширение масштабов искусственного воспроизводства осетровых, как для коммерческого культивирования, так и для пополнения остающихся природных популяций, обусловило насущную необходимость поиска реальной альтернативы утраченным источникам природного сырья для гонадотропных препаратов.

Известны попытки применения с этой целью суспензии гипофизов филогенетически отдаленных видов рыб (преимущественно, карповых), а также ряда промышленно выпускаемых синтетических аналогов. Нами в республике Корея также относительно успешно применялись при воспроизводстве осетро-

вых препараты LH-RH - «CONTROL» и GnRHа «GONADON» местного производства [4]. На практике, однако, получило массовое распространение только применение синтетического олигопептида «Сурфагон», как самостоятельно, так и в различных комбинациях с рядом других препаратов [3, 11]. Последнее направление является наиболее перспективным, однако до настоящего времени далеко от совершенства. Исходя из этих предпосылок, нами была разработана модель гормонального стимулирования овуляции у осетровых, ориентированная на применение в рыбоводных предприятиях, осуществляющих их полноточичное культивирование [9, 10].

Целью работы являлся анализ результатов практической реализации инновационной модели комбинированного стимулирования овуляции у самок культивируемых видов анадромных осетровых.

Материалы и методы

Использованные при проведении работы самки осетровых находились в IV завершенной стадии зрелости гонад. Овуляция стимулировалась комбинированно (согласно схеме, представленной на рисунке) – с использованием суспензии гипофизов карповых рыб [5] для предварительной инъекции в дозировке 0,4-0,8 мг/кг живой массы, т.к. предварительные исследования показали ее оптимальность для рыб рассматриваемых видов [3], и синтетического препарата «Сурфагон» (1,5-2,5 мкг/кг) для разрешающей инъекции. Интервал между введением препаратов составлял 12 ч.

Пробы для изучения цитометрических характеристик ооцитов получались при биопсийных исследованиях гонад, а также отбирались из получаемой витально овулировавшей икры [8]. При оценке качества икры и молоди осетровых на ранних этапах онтогенеза применялись соответствующие руководства [1].

Результаты и их обсуждение

Практическое применение предложенной модели стимулирования овуляции в ряде рыбоводных хозяйств показало, что ее реализация обеспечивает большую стабильность результатов (100% созревание самок) при пониженных температурах воды по сравнению с использованием только «Сурфагона». Овуляция икры у самок происходит наиболее полно, первая партия сжеженной икры составляет 85-90% при более высоком её качестве. Выживаемость самок

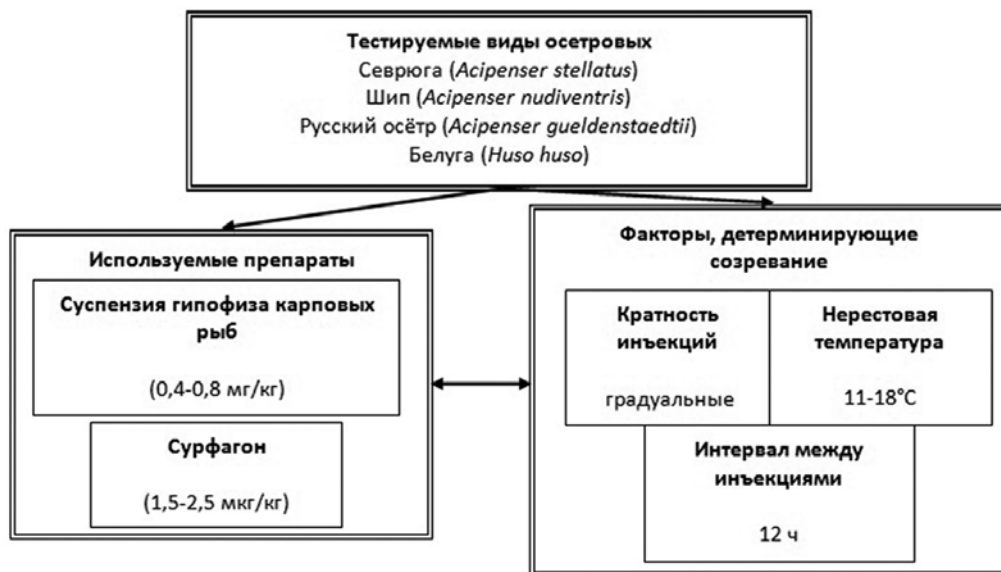


Рис. Схема комбинированного стимулирования овуляции.

после витального получения икры составила 100%.

Овулировавшие под влиянием комбинированной стимуляции ооциты осетровых характеризуются весьма высокой однородностью и незначительным количеством нарушений в строении [6]. Единственным достоверным отличием от икринок рыб соответствующих видов, обитающих в состоянии естественной свободы, являются их несколько меньшие размеры (табл. 1). Последнее, однако, является общей тенденцией для осетровых в условиях культивирования [2, 6, 12] и практически не сказывается на рыбоводных и технологических качествах икры.

Морфология осетровых на ранних этапах онтогенеза рассматривается как один из критериев оценки эффективности искусственного воспроизводства. Как показали детальные исследования, выполненные А.В. Новосадовой [7], у развивающихся эмбрионов и молоди осетровых рыб, получаемых при воспроизводстве с использованием пред-

ложенной модели гормонального стимулирования, частота встречаемости практически всех известных видов морфологических аномалий существенно меньше, чем в потомстве производителей, изымаемых из естественной среды [1]. В целом, качество икры анадромных осетровых, выращенных в условиях культивирования, позволяет осуществлять их воспроизводство без изъятия особей из природных популяций для реакклиматизации и восстановления нативных видов. Получаемые в результате применения предложенной модели овулировавшие ооциты по всем показателям соответствуют требованиям, предъявляемым к сырью для производства пищевой черной икры.

Производственные результаты проводившихся в дальнейшем оплодотворения, инкубации икры в аппаратах Вейса, выдерживания свободных эмбрионов и выращивания личинок и молоди соответствовали нормативным показателям или отличались в лучшую сторону.

Таблица 1
Цитометрические показатели овулировавших ооцитов

Показатели		Шип	Севрюга	Русский осётр	Белуга
Диаметр (D), мм	Lim: (min-max)	2,6-3,6	1,97-2,81	2,6-3,5	2,88-3,94
	M±m	2,91±0,01	2,42±0,01	2,98±0,01	3,31±0,01
	Cv±m _{Cv}	5,35±0,30	6,36±0,32	5,28±0,24	5,19±0,25
Масса, мг	Lim: (min-max)	9,50-18,00	7,00-11,00	9,85-15,00	12,00-20,00
	M±m	13,55±0,11	9,21±0,05	12,14±0,06	16,97±0,09
	Cv±m _{Cv}	10,39±0,59	7,37±0,37	7,85±0,35	7,91±0,38
Плотность, мг/мм ³	Lim: (min-max)	0,942-1,995	0,92-2,46	0,74-1,27	0,74-2,12
	M±m	1,18±0,010	1,52±0,02	1,01±0,01	1,14±0,01
	Cv±m _{Cv}	11,00±0,62	17,21±0,86	8,32±0,37	17,08±0,82

Опыт использования предложенной модели позволяет утверждать, что на продолжительность эмбрионального развития (а, следовательно, инкубации икры) рассматриваемых видов осетровых влияет не только регламент гормональной стимуляции, но и температурные условия зимнего содержания производителей. В частности, отмечено, что при использовании комбинированных инъекций для впервые нерестующих самок шипа, севрюги, белуги, русского осетра происходит увеличение продолжительности инкубации до 30 ч. Однозначно установлено, что чем ниже температура воды во время зимовки производителей, тем позднее созревают впервые нерестующие самки после разрешающей инъекции.

Для повышения эффективности стимуляции созревания самок осетровых и получения стабильных результатов рекомендуется использовать комбинированную модель гормонального стимулирования, адаптированную к условиям конкретных предприятий и учитывающую биологические особенности каждого вида (табл. 2).

Данные табл. 2 обобщают большой массив эмпирических фактов, полученных в течение длительного времени в рыбоводных предприятиях различных типов, и могут быть полезными при практической реализации рассмотренной модели.

Выводы

1. Практические результаты использования предложенной модели комбинированного стимулирования овуляции показали ее пригодность для производства. Продуцируемые ооциты по цитометрическим и функциональным характеристикам (за исключением несколько меньшего диаметра) не отличаются от зрелых икринок рыб соответствующих видов, обитающих в состоянии естественной свободы.

2. Применение новой модели стимулирования овуляции обеспечивает стабильные результаты искусственного воспроизводства осетровых. Получаемое при этом потомство характеризуется морфологической и физиологической полноценностью и соответствует отраслевым технологическим нормативам

Таблица 2

Условия и результаты применения разработанной модели стимулирования овуляции

Вид осетровых	Температура воды, °С	Препараты и дозировки инъекций		Время созревания, ч	
		Предварительная (суспензия гипофиза карпа)	Разрешающая («Сурфагон»)	Начало	Окончание
Севрюга	16-18	0,4-0,5 мг/кг	1,5 мкг/кг	21	27
Шип	15-16	0,4-0,5 мг/кг	1,5-2,0 мкг/кг	21	35
Русский осётр	13-15	0,5-0,6 мг/кг	2 мкг/кг	28	36
Белуга	11-13	0,5-0,8 мг/кг	2-2,5 мкг/кг	27	41

Список литературы

1. Атлас нарушений в гаметогенезе и строении молоди осетровых / Акимов Н.В., Горюнова В.Б., Микодина Е.В., Никольская М.П., Рубан Г.И., Соколова С.А., Шагаева В.Г., Шатуновский М.И. - М.: Изд-во ВНИРО. 2004. 120 с.
2. Бубунец Э.В. Биометрические критерии качества овулировавших ооцитов впервые нерестующих анадромных осетровых в условиях культивирования // Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук. 2014. № 4. С. 48-50.
3. Бубунец Э.В., Лабенец А.В. Применение градуальных инъекций сурфагона в нетрадиционные сроки при воспроизводстве осетровых // Аграрная наука. 2012. № 2. С. 26-28.
4. Бубунец Э.В., Новосадов А.Г. Использование гормональных препаратов LH-RH - «CONTROL» и GnRHа «GONADON» (зарубежных аналогов сурфагона) при получении икры от различных видов осетровых в нетрадиционные рыбоводные сроки // Рациональное использование пресноводных экосистем - перспективное направление реализации национального проекта «Развитие АПК». - М.: Россельхозакадемия. 2007. С. 241-246.
5. Инструкция по использованию гипофизарных инъекций в рыбоводстве // Сборник нормативно-технологической документации по товарному рыбоводству. Т.1. - М.: Агропромиздат. 1986. С. 109-119.
6. Лабенец А.В., Новосадова А.В. Морфометрические и некоторые ультраструктурные особенности икры русского осетра, продуцируемой при полноциклическом выращивании // Актуальные проблемы современной науки и образования. Биологические науки: Мат-лы Всеросс. научно-практ. конференции с международным участием. Т. II. - Уфа: РИЦ БашГУ. 2010. С. 368-372.
7. Новосадова А.В. Морфологические нарушения в раннем онтогенезе осетровых рыб у потомства культивируемых производителей / Автореф. дисс. ... канд. биол. наук 03.02.06-ихтиология. - М.: ВНИРО. 2013. 24 с.
8. Подушка С.Б. Получение икры у осетровых с сохранением жизни производителей // Научно-технический бюллетень лаборатории ихтиологии ИНЭНКО. - СПб. 1999. № 2. С. 4-9.
9. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях / под ред. Н.Н. Каркищенко, С.В. Грачева. - М.: Профиль 2С. 2010. С. 88-101.
10. Способ воспроизводства осетровых рыб / Бубунец Э.В., Лабенец А.В., Жигин А.В. Патент РФ № 2500101. Опубликовано: 10.12.2013. Бюлл. № 34. 7 с.
11. Чебанов М.С., Галич Е.В. Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб. Технические доклады ФАО по рыбному хозяйству и аквакультуре. № 558. Анкара: ФАО. 2013. 297 с.
12. Chebanov M.S. Conservation culture of sturgeons in the Asov Sea Basin // BIORESTURGEONS 2005. 1st International workshop on the biology, conservation and sustainable development of sturgeons in southern Europe (Granada, November 28-30, 2005). Abstracts. Granada. 2005. P. 69-74.

Innovative model of combined stimulation of sturgeon ovulation and cytometric features of produced oocytes

E.V. Bubunets, A.O. Revyakin, A.V. Labenets

The results of practice using of ovulation stimulation model, saved by the patent of Russian Federation, are analyzed. It is showed, that ovulated oocytes of sturgeon in result of combined action of carp hypophysis suspension and syntetical preparation «Surfagon» are physiological full. In spite of smaller measurement they can successfully be used as for reproduction or for production of food black caviar.

Key words: ovulation stimulation, hypophysis, «Surfagon» ($C_{56}H_{78}N_{16}O_{12}$), sturgeons, oocytes.