

На правах рукописи



Лютиков
Анатолий Анатольевич

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НЕЛЬМЫ
***STENODUS LEUCICHTHYS NELMA* В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ**

03.02.06 — ихтиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва - 2016

Работа выполнена в Государственном научно-исследовательском институте озерного и речного рыбного хозяйства им. Л.С. Берга – ФГБНУ «ГосНИОРХ»

- Научный руководитель: **Остроумова Ирина Николаевна**
доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории аквакультуры и воспроизводства ценных видов рыб ФГБНУ «ГосНИОРХ»
- Официальные оппоненты: **Бурлаченко Ирина Виленовна**
доктор биологических наук, руководитель Центра аквакультуры ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии»
- Купинский Сергей Борисович**
кандидат биологических наук, доцент кафедры «Аквакультура» Дмитровского рыбохозяйственного технологического института (филиал) ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет»
- Ведущая организация: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства»

Защита диссертации состоится «07» октября 2016 г. в 11⁰⁰ на заседании диссертационного совета Д 307.004.01 при ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГБНУ «ВНИРО») по адресу: 107140, г. Москва, Верхняя Красносельская, дом 17
Телефон: +7(499) 264-91-76, электронный адрес: sedova@vniro.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «ВНИРО» http://www.vniro.ru/files/disser/2016/Lutikov_Disser.pdf

Автореферат разослан «09» августа 2016 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
канд. биол. наук



Седова Марина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Нельма *Stenodus leucichthys nelma* – ценный и самый крупный представитель семейства сиговых рыб, единственный хищник в этом семействе. В настоящее время из-за нерационального промысла, антропогенной нагрузки и ухудшения условий нагула и нереста наблюдается повсеместное сокращение численности естественных популяций нельмы, а на территории Северо-Запада этот вид внесен в Красную книгу РФ (2001). В частности, оз. Кубенское (Вологодская обл.) было известно своими запасами нельмы (в середине 1950-х гг. добывалось до 61,5 т), однако к настоящему времени данная популяция находится на грани исчезновения. Восстановление численности нельмы только за счет естественного воспроизводства уже не представляется возможным, для этого требуются методы искусственного воспроизводства, среди которых наиболее перспективными выступают индустриальные технологии.

В отличие от других сиговых рыб для нельмы подобные технологии не разработаны, отсутствуют биотехнические нормативы и методические рекомендации по ее выращиванию и кормлению в искусственных условиях. Являясь хищником, нельма требует отличного от других сиговых подхода к вопросам кормления.

Цель данной диссертационной работы заключалась в исследовании эмбриогенеза кубенской нельмы под воздействием различных факторов среды, изучении личиночного развития нельмы в условиях рыбоводного завода, и разработке нормативов выращивания жизнестойкой молоди на искусственных и живых кормах (науплии артемии).

Для достижения поставленной цели, в работе были определены следующие задачи:

1. Изучить влияние температуры, освещенности и технологических особенностей инкубации на эмбриональное развитие нельмы;
2. Изучить особенности предличиночного и личиночного развития нельмы в условиях индустриального выращивания;

3. Провести сравнительную оценку разных плотностей посадки, кормов и режимов кормления на биологические показатели личинок нельмы при их выращивании в индустриальных условиях;

4. Исследовать возможность кормления нельмы в раннем онтогенезе искусственными кормами и в сочетании с живыми (науплии артемии);

5. Изучить кормовые предпочтения и определить оптимальную продолжительность использования живых кормов в раннем онтогенезе нельмы.

Научная новизна. Впервые на основании проведенных исследований были биологически обоснованы и разработаны методы инкубации икры кубенской нельмы с учетом ее видовых особенностей и факторов среды, влияющих на ход эмбриогенеза. Исследовано личиночное развитие нельмы в индустриальных условиях, на основании чего разработана методика комбинированного кормления ранней молодежи искусственным и живым кормом. Определены оптимальные плотности посадки и режимы кормления при выращивании личинок нельмы в индустриальных условиях на искусственных кормах.

Теоретическая и практическая значимость.

Полученные автором результаты могут быть использованы для развития теоретических основ разведения сиговых рыб. Закономерности, установленные при изучении влияния внешних факторов на эмбриогенез и ранний постэмбриогенез нельмы, включая температуру, освещенность, механическое воздействие, характер пищи и режимы питания, послужили основой практических рекомендаций для снижения смертности, увеличения скорости роста и, в целом, повышения эффективности инкубации икры и выращивания жизнестойкой молодежи кубенской нельмы в индустриальных условиях.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Инкубация икры нельмы в диапазоне температуры от 0,2 до 4-6°C при освещенности 0-240 лк позволяет получить физиологически полноценных жизнестойких предличинок.

2. Выращивание личинок нельмы от 20 мг при температуре 13-17°C в естественной освещенности до 3800 лк с суточной нормой корма от 10 до 12%

повышает темп роста, выживаемость и улучшает физиологический статус молоди.

3. Комбинированное кормление личинок нельмы искусственным и живым кормом оказывает положительное влияние на рыбоводно-биологические показатели, а также позволяет обеспечить благоприятный дальнейший перевод молоди полностью на искусственные корма.

Апробация работы. Основные результаты исследований были доложены на научных конференциях и научно-производственных совещаниях: «Современные проблемы и перспективы рыбохозяйственного комплекса» (г. Москва, 2011), «Комплексные исследования биологических ресурсов южных морей и рек» (г. Астрахань, 2012), «Биологические ресурсы Белого моря и внутренних водоемов Европейского Севера» (г. Мурманск, 2013), «Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб» (г. Санкт-Петербург, 2013), «Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря» (г. Петрозаводск, 2013), «Биология, биотехника и состояние запасов сиговых рыб» (г. Тюмень, 2013), The 12th International Symposium on the Biology and Management of Coregonid fishes (пос. Листвянка, г. Иркутск, 2014), «Проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса на современном этапе» (г. Мурманск, 2014), «Актуальные проблемы аквакультуры в современный период» (г. Ростов-на-Дону, 2015).

Публикации результатов исследований. По теме диссертационного исследования опубликовано 15 работ, из которых 7 – в периодических рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Объём и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, пяти глав, заключения, выводов, практических рекомендаций, библиографического списка и двух приложений. Работа изложена на 165 страницах печатного текста, содержит 34 таблицы и 19 рисунков. Список литературных источников включает 227 наименований, в том числе 26 – на иностранных языках.

Благодарности. Автор приносит особую благодарность научному руководителю д.б.н., профессору И.Н. Остроумовой и зав. лабораторией аквакультуры и воспроизводства ценных видов рыб, к.б.н. В.В. Костюничеву за выбор направления исследования и неоценимую помощь в процессе работы над диссертацией. Автор искренне благодарит сотрудников лаборатории аквакультуры и воспроизводства ценных видов рыб ГосНИОРХ: А.Е. Королева, А.К. Шумилину, И.И. Терешенкова и Т.Г. Бойко за методическую помощь в обработке материала, постановке экспериментов и всестороннюю поддержку. Отдельную благодарность автор выражает всем работникам рыбоводного хозяйства ООО «Форват».

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Характеристика объекта, обзор работ по искусственному разведению нельмы, особенности содержания производителей в индустриальных условиях

Рассмотрены систематическое положение и биологические особенности кубенской нельмы, а также причины, послужившие началу ее искусственного воспроизводства. Изложена история искусственного разведения нельмы от первых работ до настоящего времени. Проведен анализ существующих методов разведения нельмы. В обзор включены данные по разработке биотехники инкубации икры нельмы, выращиванию молоди в прудах, озерах-питомниках и индустриальных условиях. Указаны особенности созревания производителей нельмы при их содержании в искусственных условиях за пределами естественного ареала.

Глава 2. Материал и методы исследований

Работа выполнена на базе рыбоводного хозяйства ООО «Форват» (Ленинградская обл., оз. Суходольское) в период с 2009 по 2015 гг. Материалом для исследований послужили икра, развивающиеся эмбрионы, предличинки и личинки кубенской нельмы. Икру для исследований получали от одновозрастных производителей, выращенных в индустриальных условиях на

искусственных кормах (Kostyunichev, 2014). Сбор и осеменение икры проводили по общепринятым в сиговодстве методикам.

Опыты по изучению влияния внешних факторов среды на эмбриональное развитие нельмы проводили с 2010 по 2015 гг. Все опыты выполнялись в двух повторностях. Икру инкубировали в классических 8-литровых аппаратах Вейса. Исследование механического воздействия на зародышей кубенской нельмы проводили в аппаратах, предназначенных для инкубации икры форели, а также в модифицированных аппаратах Вейса. Исследование эмбрионального развития нельмы вели на живом материале. При работе с предличинками использовали как живой, так и фиксированный в 2% растворе формальдегида материал. Объемы выборок для эмбрионов составляли 15-20 экз. в пробе (всего 1391 экз.), для предличинок – не менее 25 экз. (всего 573 экз.).

Выращивание личинок нельмы проводили в прямоточных лотках и экспериментальных бассейнах. При изучении личиночного развития, а также влияния освещенности, плотности посадки и норм кормления на биологические показатели нельмы в индустриальных условиях личинок кормили искусственными экструдированными кормами в виде микрогранул Тгосо («Сорпенс», Голландия) и Biomar larviva wean-ex («Biomar Group», Дания). В опытах по кормлению личинок нельмы различными искусственными и живыми кормами, и их сочетанием, использовали искусственные корма Biomar larviva wean-ex («Biomar Group», Дания), Aller futura larvae ex и Aller artex («Aller Aqua», Дания), а также науплии артемии в возрасте одних суток.

Интенсивность роста рассчитывали по уравнению Г.Г. Винберга (1956). Индексы наполнения кишечника и интенсивность питания у личинок определяли по методике В.П. Барановой (1985). Биохимические показатели определяли по стандартным методикам (Бурштейн, 1963). Всего на морфометрический анализ, определение питания и роста личинок было отобрано и исследовано 3726 экз. нельмы, на биохимический анализ – 5272 экз.

Статистическую обработку собранного материала проводили в соответствии с принятыми методами (Лакин, 1980).

Глава 3. Эмбриональное развитие нельмы под воздействием различных факторов среды

3.1 Эмбриональное развитие нельмы

В настоящем разделе представлено описание эмбрионального развития кубенской нельмы на ООО «Форват». Указаны размерно-массовые характеристики неоплодотворенной икры и икры после оводнения («набухания»). Приведены сроки и описание отдельных стадий и этапов эмбриогенеза от осеменения до вылупления предличинок.

3.2 Влияние температурного режима на эмбриональное развитие нельмы

Эксперименты по инкубации икры нельмы в различных температурных режимах показали, что количество градусо-дней, полученное икрой за время инкубации, не коррелирует со скоростью эмбриогенеза. Это дает основание полагать, что на развитие зародышей влияет не сумма накопленного тепла, выраженная в градусо-днях, а температурный режим на отдельных этапах развития. На это указывает различное количество тепла, полученное икрой к определенному этапу эмбриогенеза в разные годы наблюдений. Например, начало тока крови по жаберным лепесткам за весь период исследований было отмечено в схожем возрасте – 157-164 сут., но сумма полученного тепла при этом, существенно варьировала – от 148 до 215 градусо-дней.

Кроме того, обращает на себя внимание скорость прохождения отдельных этапов зародышевого развития, которая от этапа циркулярного кровообращения до начала тока крови по жаберным дугам находилась в диапазоне от 43 до 63 сут., а до этапа формирования жаберных лепестков – от 15-17 до 40 сут. Причем не всегда в более теплом режиме наблюдалось ускорение развития.

3.3 Влияние освещенности на эмбриональное развитие нельмы

Исследования влияния освещенности на эмбриональное развитие кубенской нельмы показали, что искусственный свет при освещенности до 150 лк и естественное освещение в диапазоне 9-240 лк не влияют на

скорость роста, выживаемость эмбрионов и продолжительность инкубации икры по сравнению с развитием икры в темноте.

В то же время свет ускоряет сегментацию тела эмбрионов, что приводит к раннему окончанию этого процесса у зародышей, тогда как в темноте сегментация продолжается. Такая особенность развития отражается на общем количестве миотомов в теле эмбрионов, которое в затемнении оказывается достоверно больше (при $p \leq 0,05$), чем при свете – 66 против 65, соответственно.

Помимо влияния освещенности на формирование морфометрических признаков, световой фактор устанавливал различия в скорости и степени пигментации зародышей. Начало пигментации глаз и окрашивание форменных элементов крови при свете было отмечено несколько раньше, чем в темноте.

3.4 Влияние механического воздействия на икру нельмы на ранних этапах эмбрионального развития (использование разных методов инкубации икры)

Икра сиговых рыб на ранних этапах эмбрионального развития обладает высокой чувствительностью к механическому воздействию (Зотин, 1961; Кугаевская, 1981, 1985; Черняев и др., 1987; Смешливая, Семенченко, 2013, 2015), что сопровождается повышенной смертностью икры при ее инкубации в классических аппаратах Вейса. Кроме того, развитие икры в таких аппаратах увеличивает процент асинхронного дробления (Лютиков, Костюничев, 2013), что также способно приводить к последующей гибели зародышей. Причиной асинхронного развития может выступать сильный ток воды, устанавливаемый в аппаратах Вейса для предупреждения комкования икры, особенно в первые дни после закладки икры в аппараты, а также нестабильное положение икринок в процессе инкубации, которое, по мнению некоторых авторов (Дорфман, Черданцев, 1977), способно нарушать нормальный ход развития эмбриона.

Изменение технологии инкубации, направленное на снижение механического влияния тока воды на икру, позволяет достоверно (при $p \leq 0,05$)

повысить выживаемость зародышей нельмы на стадии органогенеза на 15-16% (табл. 1), и существенно снизить процент асинхронного развития. В опыте были использованы аппараты для инкубации икры форели (2012 г.) и модернизированные автором аппараты Вейса (2015 г.), подробное описание которых приведено в главе 3.4 диссертации.

Модернизация опытных аппаратов заключается в установке в 5-20 см от места водоподачи решетки, на которой располагается икра, что позволяет избежать прямого контакта струи воды с развивающимся зародышем.

Таблица 1. Выживаемость эмбрионов нельмы в экспериментах по инкубации икры в различных аппаратах

Год	Вариант	Возраст, сут.	Градусодни	Выживаемость, %	Стадия
2012	Опытный аппарат	7	31,6	92	Эпиболия
	Аппарат Вейса			86	
	Опытный аппарат	11	47,2	87	Начало формирования эмбриона
	Аппарат Вейса			78	
2015 (опыт 1)	Опытный аппарат	7	46,8	85	Морула мелких клеток
	Аппарат Вейса			69	
	Опытный аппарат	17	97,7	68	Пульсация сердечной трубки, в теле 47 митомов.
	Аппарат Вейса			52	
2015 (опыт 2)	Опытный аппарат	6	36,8	88	Морула средних клеток
	Аппарат Вейса			79	
	Опытный аппарат	13	67,1	71	Эмбрион огибает ½ желтка
	Аппарат Вейса			56	

Существенные отличия в выживаемости икры нельмы в разные годы при схожем способе инкубации были обусловлены различными температурными условиями развития. В 2015 г. температура воды в период исследований была существенно выше, чем в 2012 г., что отрицательно сказалось на выживаемости эмбрионов (табл. 1).

Глава 4. Особенности развития личинок нельмы в искусственных условиях

Целью исследований, изложенных в настоящей главе, было изучить биологические особенности ранней молоди нельмы для разработки

биотехнических нормативов при ее культивировании в промышленных условиях с применением искусственных кормов.

4.1 Характеристика предличинок в период вылупления

Установлено, что размерно-массовые характеристики предличинок нельмы, начало потребления внешнего корма и жизнеспособность зависят от времени вылупления, и, как следствие, от стадии эмбрионального развития при выходе из икринки. Выход свободных эмбрионов из оболочек в условиях рыбоводного хозяйства ООО «Форват» наблюдается с конца марта до первой декады мая. Предличинки, вышедшие из оболочки первыми, нежизнеспособны из-за низких температур окружающей среды и несформированности систем организма.

Массовое вылупление нельмы происходит в первых числах мая при повышении температуры воды до 4,5-5,8°C, однако в отдельные годы такие температуры приходились на 20-е числа апреля. К этому времени предличинки обладают развитой дыхательной системой (жаберные лепестки и псевдобранхии) и готовы к существованию вне оболочки. Размеры нельмы на этапе вылупления – наиболее крупные среди сиговых рыб и могут достигать 14,5 мм в длину при массе 12,4 мг.

4.2 Личиночное развитие нельмы в условиях рыбоводного хозяйства

В личиночный период жизни нельма проходит 6 этапов (по: Смольянов, 1957), которые характеризуются определенными морфологическими изменениями в организме, и, следовательно, особенностями биологии. Отличительным признаком нельмы, в сравнении с остальными сиговыми, можно считать раннее становление пищеварительной системы – зачаток желудка отмечен уже к моменту перехода на смешанное питание, т.е. на 2-3 сут. жизни (Богданова, 1977; Федорова, Джуматова, 2012), в то время как у сигов – на 15-22 сут. (Ковалев, 1962; Богданова, 1980; Коровина, 1980, 1981; Князева и др., 1984; Костюничев, 1986). Кроме того, нельма выделяется в

семействе сиговых своими морфологическими особенностями – крупная голова, длинная нижняя челюсть, прогонистое тело.

Помимо отличий в экстерьере, у нельмы имеются некоторые поведенческие реакции, не свойственные другим сиговым. Нельма не подбирает корм со дна, в отличие, например, от чира, муксуна или сигов. При кормлении ведет себя менее активно, на более поздних этапах личиночного развития кормится в толще воды, а не захватывает пищу с поверхности.

4.3 Влияние освещенности на рост и развитие личинок нельмы

Высокая интенсивность освещения на ранних этапах постэмбрионального развития крайне отрицательно влияет на выживаемость и рост личинок. Уже в течение первых 7 сут. в условиях инсоляции наблюдалось снижение скорости роста и высокая смертность, которая составила около 40% исходного числа личинок против 10% при выращивании нельмы в помещении цеха. Такая тенденция сохранялась до 22 суток (табл. 2).

Таблица 2. Показатели роста и выживаемости личинок нельмы при выращивании в разных условиях освещенности

Время после начала опыта, сут.	Низкая инсоляции (цех) – до 3800 лк			Высокая инсоляция – до 53000 лк		
	Масса, мг	Cv, %	Выживаемость, %	Масса, мг	Cv, %	Выживаемость, %
1-е	$\frac{29,5 \pm 0,96}{21,0-44,0}$	8,8	100	$\frac{29,5 \pm 0,96}{21,0-44,0}$	8,8	100
8-е	$\frac{61,3 \pm 1,13}{51,0-71,0}$	9,2	90,0	$\frac{55,5 \pm 1,63}{42,0-83,0}$	14,7	60,0
15-е	$\frac{154,6 \pm 4,53}{123,0-199,0}$	14,7	66,0	$\frac{123,8 \pm 4,42}{86,0-166,0}$	17,9	35,0
22-е	$\frac{201,3 \pm 8,25}{142,0-296,0}$	20,5	48,0	$\frac{155,8 \pm 4,56}{109,0-198,0}$	14,6	22,0
29-е	$\frac{255,0 \pm 10,86}{153,0-356,0}$	21,3	42,5	$\frac{362,8 \pm 13,76}{217,0-480,0}$	19,0	17,5

Резкое снижение плотности посадки из-за высокой смертности подопытных рыб обеспечило благоприятные условия для набора массы, которая в конце эксперимента составила 362,3 мг, в то время как в цехе – 255,0 мг. Выживаемость в условиях инсоляции и цехе по итогам 29 сут. выращивания составила 17,5 и 42,5%, соответственно (табл. 2).

Высокая смертность личинок, которая наблюдалась с первой недели эксперимента под воздействием чрезмерной инсоляции, можно объяснить рядом причин. С одной стороны, это стресс, вызванный сменой условий содержания (до начала эксперимента личинок выращивали в помещении цеха в течение 28 сут.), с другой – слабая пигментация поверхности тела нельмы и отсутствие гуанинового пигмента в перитонеуме (он образуется позже и наряду с пигментацией обеспечивает резистентность рыб к солнечной радиации). Отсутствие защиты от избыточного солнечного света негативно сказывалось на росте и выживаемости подопытных личинок, так как нельма игнорировала затемненные участки водной поверхности и равномерно рассредоточивалась по всему объему рыбоводной емкости.

Таким образом, даже кратковременное прямое воздействие сильной инсоляции способно нанести вред ранней молодежи нельмы, особенно на ранних этапах развития, когда защитные механизмы от ультрафиолетового излучения развиты слабо.

4.4 Влияние разных плотностей посадки и режимов кормления на биологические показатели нельмы

Помимо изучения влияния внешних факторов среды на молодь рыб в ранний период постэмбрионального развития, необходимо учитывать такие важные элементы биотехники, как плотность посадки и режим кормления.

Оптимальные плотности посадки, определенные экспериментальным путем, соответствуют в начале выращивания нельмы 25,5 тыс. экз./м³ с последующим сокращением плотности до 10,2 тыс. экз./м³. Разреживание численности нельмы проводили на 20-е сут. эксперимента при индивидуальной массе молодежи 45 мг.

В результате экспериментов по нормированию искусственного корма при выращивании нельмы в лотках с момента перехода личинок полностью на внешнее питание (20 мг) до малькового этапа (400 мг) лучшие результаты были получены при использовании суточного рациона, равного 12% от массы рыб

(в температурном диапазоне 13-17°C). Было отмечено, что увеличение количества выдаваемого корма повышало рыбопродуктивность с одной стороны, но снижало выживаемость и повышало кормовой коэффициент с другой.

Таким образом, плотности посадки и режимы кормления, установленные в результате опытов, позволяют получать молодь нельмы, характеризующуюся высокой выживаемостью и хорошим темпом роста.

Глава 5. Биотехнология использования искусственных и живых кормов и режимов кормления при выращивании личинок нельмы в искусственных условиях

Для обеспечения нормального роста молоди нельмы в ранний постэмбриональный период в индустриальном рыбоводстве необходимо использование современных кормов, а также разработка новых методик кормления, которые бы максимально удовлетворяли пищевым потребностям хищника (Остроумова, 2012).

Целью исследований, отраженных в настоящей главе было изучить влияние различных сухих искусственных и живых (науплии артемии) кормов и их сочетания на рост, выживаемость и физиологическое состояние личинок нельмы. Определить наиболее подходящую методику кормления с использованием в рационе живого корма и осуществить перевод молоди полностью на искусственные корма. Определить оптимальный период использования живых кормов в рационе личинок нельмы.

5.1 Результаты исследования комбинированной методики кормления (последовательно живым, затем искусственным кормом) и монорационов из живого и различных искусственных кормов

Выращивание молоди проводили на пяти различных диетах: №1 личинки с первых дней опыта получали науплии артемии, в №2 – сочетание науплий артемии и искусственного корма Biomar larviva wean-ex («Biomar Group», Дания). В последующих вариантах использовали только сухие искусственные

корма: вариант №3 – Biomar larviva wean-ex, №4 – Aller futura larvae ex, №5 – Aller artex, в состав которого входит экстракт из цист артемии – (последние два – фирмы «Aller Aqua», Дания).

5.1.1 Наполняемость кишечника и избирательность личинками кормов

Корм, как искусственный, так и живой, в кишечниках личинок нельмы был отмечен с начала эксперимента, а его количество на протяжении первой декады наблюдений во всех опытных вариантах находилось в пределах 0,1-0,2 мг, индексы наполнения колебались от 55 до 95⁰/₁₀₀₀.

На второй декаде опыта наибольшей массой пищевого комка характеризовалась молодь, получавшая смесь живых кормов с искусственными (вариант №2). На третьей – масса потребленной личинками пищи из вариантов №1 и №2 была практически равной, что может быть связано с различными массами науплиев артемии и гранул искусственного корма. Еще одной причиной, определяющей массу пищевого комка, является индивидуальная избираемость личинками того или иного корма в варианте №2.

В первые дни лишь у 6% личинок нельмы, получавших живой и сухой корм (вариант №2), помимо артемии было отмечено небольшое количество искусственного корма. В последующие 10 сут. молодь стала более активно потреблять искусственный корм, его доля в пищевом комке возросла до 45%, а количество потребляющей его молоди – до 76%. К концу эксперимента (30 сут.) доля сухого корма в потребленной пище возросла до 85% (табл. 3).

Таблица 3. Избирательность живых и искусственных кормов, а также их соотношение в пищевом комке у личинок нельмы при комбинированном кормлении

Сут. / температура воды, °С	Средняя масса личинки, мг	Этап развития	Biomar, %	артемия, %	Оба корма, %	Соотношение кормов в пищевом комке, %	
						Biomar	артемия
10 / 9,4	25,6	II	0	94	6	15	85
20 / 12,3	68,1	III-IV	4	20	76	45	55
30 / 15,6	157,8	V	76	4	20	85	15

Снижение роли науплиев артемии в питании личинок нельмы массой от 100 мг может быть обусловлено небольшими размерами рачков, не соответствующими потребностям подросшей молоди.

5.1.2 Рост, развитие и выживаемость личинок

Темп роста нельмы на живом корме (вариант №1) и сочетании живого с искусственным (вариант №2) был значительно интенсивнее, чем на одном искусственном. Уже по итогам первой декады суточные приросты личинок, выращиваемых с применением живого корма, составили 5,8-6,7% против 2,3-3,3% в вариантах опыта с использованием только сухих кормов (табл. 4).

Таблица 4. Рост личинок нельмы на искусственных и живых кормах

Тип корма (вариант опыта)	Сут. / температура воды, °С								
	10 / 10,9			20 / 13,7			30 / 16,9		
	Масса личинок, мг	С _v , %	СП, %	Масса личинок, мг	С _v , %	СП, %	Масса личинок, мг	С _v , %	СП, %
Артемия (№1)	$28,0 \pm 0,5$ 20,0-38,1	12,2	6,7	$66,7 \pm 2,2$ 33,0-83,5	18,9	8,9	$161,3 \pm 4,1$ 101,0-219,0	15,7	8,8
Артемия+Биомар (№2)	$25,6 \pm 0,4$ 20,0-29,0	8,8	5,8	$71,8 \pm 2,2$ 43,0-89,0	17,6	10,3	$164,2 \pm 4,7$ 110,0-203,0	14,6	8,3
Биомар (№3)	$18,4 \pm 0,2$ 12,4-23,0	12,5	2,5	$42,0 \pm 0,9$ 31,4-55,8	13,0	8,2	$84,0 \pm 4,5$ 48,0-132,5	27,4	6,9
Aller futura (№4)	$19,9 \pm 0,3$ 14,0-25,5	11,1	3,3	$42,4 \pm 1,2$ 24,0-54,0	15,7	7,6	$79,3 \pm 2,6$ 42,3-107,0	18,4	6,3
Aller artex (№5)	$17,9 \pm 0,5$ 11,0-23,0	17,5	2,3	$33,0 \pm 1,2$ 20,0-46,0	20,9	6,1	$29,0 \pm 1,5$ 18,3-47,0	24,9	-1,3

Примечание: СП – суточный прирост; начальная масса личинок – $14,3 \pm 0,2$ мг

Развитие личинок было сопряжено с их ростом. Вся молодь, в рацион которой был включен живой корм, после 30 сут. выращивания находилась на завершающем (V) этапе личиночного развития, на котором происходит появление в перитонеуме рыбы серебристого пигмента гуанина и формирование гомоцеркального хвостового плавника. При использовании монорационов из сухого корма от 50 до 85% личинок были на IV этапе развития, характеризующимся наполнением плавательного пузыря газом.

Выживаемость нельмы в эксперименте по итогам первого месяца была достаточно высокой и составляла около 85% во всех вариантах. Ранее мы отмечали, что использование сухих кормов увеличивало смертность молоди после наполнения газом плавательного пузыря (IV этап развития, возраст около 30 сут., средняя масса 80 мг) (Лютиков, 2012), однако кормление личинок живыми кормами позволило избежать высокой смертности на данном этапе. В то же время дальнейшее использование искусственных кормов в вариантах №3 и 4 подтвердило результаты наблюдений прошлых лет – на последней личиночной стадии (возраст 40 сут.) выживаемость в этих вариантах опыта сократилась до 67 и 60% соответственно.

5.1.3 Биологические показатели личинок при их переводе с живого на искусственный корм

При переводе молоди нельмы с живого полностью на искусственный корм (после 30 сут. выращивания) заметное преимущество в росте и выживаемости имели личинки, которые с самого начала получали живой корм в сочетании с искусственным (вариант №8). Такая молодь превосходила по массе сверстников из других вариантов опыта по итогам первой недели перевода в среднем на 26%, а по итогам второй – на 37%.

При поэтапном переводе с живого на искусственный корм (вариант №6) и одновременном замещении живого корма искусственным (вариант №7), достоверных отличий по массе (при $p \leq 0,05$) обнаружено не было. Постепенное исключение из рациона живого корма сопровождалось более высокой выживаемостью (64%), нежели резкое прекращение его выдачи (53%) (табл. 5).

Ускорение роста нельмы после прекращения подачи живого корма в варианте №8 может говорить о некотором ограничении положительного эффекта от науплий артемии у личинок с возрастом. Снижение эффективности использования артемии мы связываем с ее возможной пищевой неполноценностью (Остроумова, 2014) и мелкими размерами, которые не вызывают пищевого рефлекса у молоди на поздних этапах личиночного

развития и требуют большой двигательной активности и затрат энергии. В свою очередь использование искусственных кормов уже на стадии функционирования желудка у личинок нельмы ведет к более быстрому набору массы.

Таблица 5. Рост и выживаемость нельмы при переводе с живого на искусственный корм

Вариант опыта	Сут. / температура воды, °С							Выживаемость, %
	1 / 16,7		7 / 16,7		14 / 17,4			
	Масса, мг	Масса, мг	С _в , %	СП, %	Масса, мг	С _в , %	СП, %	
№6	<u>161,3±4,1</u>	<u>252,5±9,2</u> 149,0-355,0	22,1	6,4	<u>449,1±25,2</u> 184,0-728,0	30,7	8,21	64
	101,0-219,0	<u>265,4±19,2</u> 127,0-468,0			<u>494,5±32,6</u> 194,0-878,0			
№7	<u>164,2±4,7</u>	<u>350,0±15,2</u> 223,0-515,0	24,6	10,8	<u>745,6±35,2</u> 348,0-1106,0	26,3	10,8	78
	110,0-203,0							

5.1.4 Биохимические показатели личинок, выращенных на различных кормах

Результаты анализа молоди нельмы, выращенной с использованием различных кормов, указывают на однородность ее биохимического состава: содержание белка в сыром веществе- 11,1-11,6%, жира – 2,1-3,1, золы – 1,3-1,4%. Достоверные различия (при $p \leq 0,05$) отмечены по уровню жира в теле молоди, получавшей корма Biomar и Aller futura, – 3,1 и 2,1%, соответственно, что обусловлено разным содержанием в них этого компонента. Низким содержанием жира (2,1%) характеризовались также личинки, выращенные только на артемии.

Содержание аскорбиновой кислоты у нельмы находилось в зависимости от его уровня в рационе и было достоверно выше (при $p \leq 0,05$) в вариантах, в которых применяли только сухой корм. Наименьшее количество этого витамина было отмечено у нельмы, выращенной на живом корме, – 26,0±1,5 мкг/г, тем не менее такое количество находится в пределах нормы (Остроумова, 2012).

5.2 Результаты исследования различных методик комбинированного кормления с использованием сначала искусственного, затем живого корма. Определение оптимального периода использования живых кормов при выращивании личинок нельмы

Выращивание личинок нельмы на живых кормах в сочетании с искусственными оказывает положительный эффект на рост, развитие и выживаемость молоди, что, по-видимому, достигается взаимной компенсацией недостающих элементов каждого корма в отдельности. Однако выдача сначала науплиев артемии, затем искусственного корма отрицательно сказывалась на поедаемости последнего. Мы предположили, что живой корм следует скармливать после искусственного, что нашло отражение в дальнейших исследованиях. Кроме того, вопрос о продолжительности использования живого корма в рационе также является актуальным и должен быть обоснован с биологических позиций. В связи с этим необходимо было испытать различные методы комбинированного кормления, а также определить оптимальный период использования живых кормов в рационе личинок нельмы.

Эксперимент состоял из 5 вариантов опытов, разделенных на две группы. В первой группе (варианты №1, 2 и 3) личинок кормили сухим искусственным кормом *Biomar larviva wean-ex* в сочетании с науплиями артемии, причем в начале каждого часа сначала давали искусственный корм, а через 15 мин живой. Продолжительность использования артемии в рационе в варианте №1 составляла 10 сут., №2 – 20, №3 – 30 сут., после чего молодь получала только сухой корм. Во второй группе (варианты №4 и 5) первые три кормления давали искусственный корм, далее только живой. В варианте № 4 продолжительность кормления артемией ограничивалась 10 сут., в № 5 – 20 сут.

5.2.1 Наполняемость кишечника и избирательность личинками нельмы живых и искусственных кормов

Как и в предыдущих исследованиях, корм в кишечниках личинок нельмы был отмечен с первых дней кормления, а его количество по итогам первой декады выращивания было практически одинаковым во всех вариантах и

составляло в среднем 60⁰/₀₀₀ или 0,1-0,15 мг массы пищевого комка. При схожих значениях накормленности личинок количество того или иного съеденного корма в разных вариантах опыта было различным и зависело от метода кормления (табл. 6).

При исключении из рациона живого корма на 10 и 20 сут. была отмечена схожая тенденция – количество потребленного корма личинками было достаточно большим, в то же время происходило снижение темпа роста. Это указывает на необоснованно ранний перевод молоди полностью на искусственные корма, которые пищеварительная система личинок еще не в состоянии переварить и усвоить в полной мере.

Таблица 6. Избирательность личинками нельмы искусственных и живых кормов в период комбинированного кормления в 2014 г.

Продолжительность эксперимента, сут.	Вариант опыта	Средняя масса личинок, мг	Выбор корма, %			Соотношение кормов в пищевом комке, %	
			Биомар	артемия	оба	Биомар	артемия
10	1	21,4	0	67	33	17	83
	2	20,5	0	73	27	9	91
	3	20,5	0	60	40	20	80
	4	20,9	0	7	93	26	74
	5	20,6	0	7	93	46	54
20	2	35,4	0	60	40	21	79
	3	35,8	7	53	40	26	74
	5	36,6	14	0	86	68	32
30	3	74,6	0	14	86	54	46

5.2.2 Рост и выживаемость личинок

Прекращение выдачи артемии на 10-е сут. снизило темп роста личинок в последующую декаду в среднем на 22%, на 20-е сут. – лишь на 5%. Исключение артемии на 30-е сут. не отразилось негативно на дальнейшем росте нельмы, который в итоге имел максимальное значение в опыте – 9,1%.

Выживаемость нельмы в ходе эксперимента при различных методиках кормления существенно не различалась и по завершении опытов находилась на уровне 90%.

5.2.3 Биохимические показатели личинок, выращенных на различных кормах

Биохимические параметры нельмы находились в зависимости от продолжительности использования науплиев артемии (в период исследований, равный 30 сут.). Сокращение сроков кормления личинок живым кормом ухудшает показатели химического состава тела по содержанию белка и витамина С. Так, при использовании артемии в течение 30 сут. содержание протеина составило 16,4% в сыром веществе, витамина – 26,7 мкг/г, а в течение 10 сут. снижалось до 9,2% и 17,7 мкг/г, соответственно (табл. 7).

Таблица 7. Химический состав тела личинок нельмы

Продолжительность использования артемии, сут.	Влажность, %	Содержание в сырой массе			
		белок, %	жир, %	зола, %	витамин С, мкг/г
10	86,4±0,8	9,2±0,65	1,5±0,1	1,2±0,07	17,7±0,6
20	80,8±1,5	13,0±0,64	2,5±0,2	1,5±0,10	25,3±0,9 ^а
30	76,3±1,3	16,4±0,79	3,2±0,2	1,9±0,12	26,7±1,2 ^а

Примечание: ^а – достоверные различия отсутствуют при $p \leq 0,05$

5.3 Обсуждение результатов экспериментов по кормлению личинок нельмы различными методиками

Сравнение различных методик кормления с разной последовательностью выдачи живого и искусственного кормов указывает на преимущество скармливания сначала искусственного корма, а затем науплий артемии. Подобная технология позволяет сократить количество живого корма, использование которого требует дополнительных трудовых и финансовых затрат. Развитие молоди, выращенной по такой методике, проходит без отклонений, что говорит о качественном и количественном соответствии каждого из кормов потребностям нельмы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты настоящих исследований по биотехнике инкубации икры и выращиванию молоди кубенской нельмы в индустриальных условиях и их производственная проверка имеют большое значение для дальнейшего

проведения работ по созданию маточного стада этого ценного краснокнижного объекта, в том числе с целью воспроизводства и товарного выращивания.

Результаты, полученные во время исследовательских работ с кубенской нельмой, используются в последние годы на рыбоводном хозяйстве ООО «Форват» при инкубации икры и выращивании жизнестойкой, физиологически полноценной молоди сиговых рыб (акт внедрения от 15.03.2016 г.). Выращенная по разработанной биотехнологии ранняя молодь и сеголетки кубенской нельмы вселялись в естественный водоем обитания – Кубенское озеро (акты выпуска от 15.05.2015 г. и 25.11.2015 г.).

ВЫВОДЫ

1. На развитие зародышей нельмы влияет не сумма накопленного тепла, а температурный режим на отдельных этапах развития.
2. Освещенность, как искусственная (до 150 лк), так и естественная (до 240 лк), не влияет на скорость роста и выживаемость эмбрионов, а также продолжительность инкубации икры по сравнению с развитием зародышей в условиях темноты. Однако при воздействии света ускоряется формирование сегментов тела эмбриона, раньше пигментируются глаза и туловище, окрашиваются форменные элементы крови.
3. Икринки нельмы на ранних этапах эмбрионального развития чувствительны к механическому воздействию, создаваемому током воды в аппаратах Вейса. Снижение механической нагрузки на икру в начале развития посредством модификации инкубационных аппаратов позволяет увеличить выживаемость зародышей на 15-16%.
4. Личиночное развитие нельмы проходит по сиговому типу, однако имеет свои особенности, которые выражаются в некоторых морфологических признаках (соотношение длин головы и туловища), в раннем развитии пищеварительной системы – зачаток желудка формируется к началу внешнего питания, а также поведенческих реакций (на свет, корм).

5. Избыточная инсоляция отрицательно влияет на рост, развитие и выживаемость личинок нельмы, т.к. личинки не избегают освещенных участков рыбоводной емкости и у них не развита пигментация, обеспечивающая резистентность к солнечной освещенности.

6. Кормление личинок нельмы искусственным кормом в сочетании с живым (в количестве 10% от массы рыбы и сочетании 1:1) увеличивает скорость их роста, развития, а также выживаемость и снижает вариабельность массы. Молодь, получающая оба корма, более адаптирована к переходу полностью на искусственную диету. Рост личинок нельмы зависит от продолжительности использования науплий артемии. Наличие в рационе живого корма в течение 30 сут. позволяет получать наиболее крупную молодь, улучшить рыбоводно-биологические показатели и физиологический статус выращиваемого объекта.

7. Поедаемость искусственного и живого кормов личинками нельмы зависит от последовательности их скармливания. Кормление в начале искусственным, а затем живым кормом более чем в 5 раз увеличивает количество личинок, потребляющих искусственный корм. Перераспределение кормовых предпочтений (снижение в пищевом комке доли живого корма и увеличение искусственного) вне зависимости от последовательности подачи кормов происходит у нельмы при достижении массы 70-80 мг в возрасте 20-30 сут. при температуре воды 10-12°C.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Для получения физиологически полноценной жизнестойкой молоди нельмы температура в начале инкубации должна составлять не выше 4-6°C, начиная со стадии пигментации глаз – 0,4-0,2°C. После окончания пигментации глаз возможно повышение температуры до 8-11°C.

2. В период инкубации икра нельмы может находиться в условиях естественной освещенности и нет необходимости в ее ограждении от воздействия света.

3. Для повышения выживаемости икры нельмы на ранних стадиях развития (до начала формирования эмбриона) инкубацию следует проводить в условиях минимального механического воздействия на зародышей.
4. Выращивание личинок нельмы в условиях высокой инсоляции следует проводить с использованием тентов защищающих личинок от прямых солнечных лучей.
5. При выращивании нельмы с момента вылупления до 250 мг только на искусственных кормах (при средней температуре 15°C) рекомендуется начальная плотность посадки 25 тыс. экз./м³ с последующим сокращением до 10 тыс. экз./м³ на 20 сут. при массе 45 мг. Такая молодь обладает лучшими биологическими характеристиками и хорошим физиологическим состоянием.
6. Суточная норма кормления сухим кормом после перехода полностью на внешнее питание молоди нельмы от 20 до 400 мг в диапазоне температур 13-17°C составляет 12% от массы рыбы.
7. При наличии живого корма (науплий артемии) следует выдавать его в сочетании с сухими искусственными кормами с первых дней питания. Такая методика кормления позволяет сократить количество живого корма, использование которого требует дополнительных финансовых и трудовых затрат, а также осуществить последующий успешный перевод личинок полностью на искусственные корма.
8. Применение живого корма в рационе личинок нельмы рационально до массы молоди приблизительно 75 мг. Далее следует переводить молодь полностью на искусственный высокобелковый сухой корм.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК

1. Лютиков А.А. Влияние освещенности на выживаемость и развитие личинок нельмы *Stenodus leucichthys nelma* (Salmoniformes: Coregonidae) // Вопр. ихтиологии. 2012. Т. 52. № 5. С. 610-613.

2. **Лютиков А.А.** Влияние освещенности на эмбриональное развитие нельмы *Stenodus leucichthys nelma* (Salmoniformes: Coregonidae) // Вестник АГТУ. Сер.: Рыб. хоз-во. 2013. № 1. С. 146-153.
 3. Sendek D. S., Ivanov E. V., Khodulov V. V., Novoselov A. P., Matkovsky A. K., **Ljutikov A. A.** Genetic differentiation of coregonids populations in Subarctic areas // *Advanc. Limnol.* 2013. V. 64. P. 223-246.
 4. **Лютиков А.А.** Воспроизводство кубенской нельмы *Stenodus leucichthys nelma* // *Вопр. рыболовства.* 2014. Т. 15. № 2. С. 189-200.
 5. **Лютиков А.А.** Рост и выживаемость молоди нельмы *Stenodus leucichthys nelma* в зависимости от плотности посадки и режима кормления // *Вест. АГТУ. Сер.: Рыб. хоз-во.* 2014. № 3. С. 91-96.
 6. **Лютиков А.А.** Выращивание личинок нельмы *Stenodus leucichthys nelma* (Salmoniformes: Coregonidae) на живых и искусственных кормах // *Вопр. рыболовства.* 2015. Т. 16. № 3. С. 305-320.
 7. **Лютиков А.А., Костюничев В.В.** Экологические аспекты созревания сиговых рыб (Coregonidae) за пределами естественного ареала // *Вода: химия и экология.* 2015. № 12. С. 131-136.
- Публикации в других научных изданиях**
8. **Лютиков А.А.** Результаты инкубации икры нельмы *Stenodus leucichthys nelma* (PALLAS, 1773) в различных температурных и световых условиях // *Современные проблемы и перспективы рыбохозяйственного комплекса: Материалы Второй научно-практической конференции молодых ученых ФГУП «ВНИРО».* М.: Изд-во ВНИРО, 2011 г. С.26-29.
 9. **Лютиков А.А.** Влияние температуры на отдельные этапы раннего эмбриогенеза нельмы *Stenodus leucichthys nelma* // *Материалы III международной научно-практической конференции молодых ученых «Комплексные исследования биологических ресурсов южных морей и рек».* Астрахань: Изд-во КаспНИРХ, 2012. С. 75-77.
 10. **Лютиков А.А.** Зависимость темпа роста и выживаемости нельмы *Stenodus leucichthys nelma* от режима кормления // *Воспроизводство*

естественных популяций ценных видов рыб. Материалы докл. 2-ой междунар. научн. конф. (СПб, 16-18 апреля 2013 г.) СПб.: Изд-во ФГБНУ «ГосНИОРХ». С. 236-238. 1 CD-ROM.

11. **Лютиков А.А.** Опыт индустриального выращивания кубенской нельмы в Ленинградской области // Проблемы изучения, рационального использования и охраны природных ресурсов Белого моря. XII Международная конференция с элементами школы для молодых ученых и аспирантов. Сборник материалов. Петрозаводск, Россия. Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2013. С. 189-191.

12. **Лютиков А.А., Костюничев В.В.** Опыт инкубации сиговых рыб (Coregonidae) в аппаратах форелевого типа // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб: материалы Восьмого международного научно-производственного совещания (Тюмень, 27-28 ноября 2013 г.): научное издание. Тюмень: ФГУП «Госрыбцентр», 2013. С. 136-140.

13. **Lyutikov A.A., Kostyunichev V.V.** Spawning terms in some cisco fish (Coregonidae) grown in aquaculture beyond natural habitats // Abstracts 12th international symposium on the biology and management of coregonid fishes (25-30 august, 2014, Listvyanka – Irkutsk). Иркутск: ООО «Издательство «Аспринт», 2014. P. 47.

14. **Лютиков А.А.** Выращивание личинок нельмы *Stenodus leucichthys nelma* с использованием различных кормов // Проблемы и перспективы развития рыбохозяйственного комплекса на современном этапе: тез. докл. междунар. конф. молодых ученых (г. Мурманск, 22-24 окт. 2014). Мурманск: Изд-во ПИНРО, 2014. С. 96-98.

15. **Лютиков А.А.** Избираемость живых и искусственных кормов личинками нельмы *Stenodus leucichthys nelma* // Актуальные проблемы аквакультуры в современный период: Материалы Международной научной конференции, 28 сентября – 2 октября 2015 г. г. Ростов-на-Дону, ФГБНУ «АзНИИРХ». Изд-во: ФГБНУ «АзНИИРХ», 2015. С. 98-101.