

Стресостійкість нащадків білого амура з дестростованої сперми до дії низьких температур

Анотація. Наведено результати визначення впливу дії екстремальних температур водного середовища на нащадків білого амура, отриманого з використанням кріоконсервованої сперми.

Ключові слова: рибництво, кріоконсервування, білий амур, личинки, резистентність.

The research survival of descendants of larvae of white amur got with the use of cryopreserved sperm to the action of subzero temperatures of water. DENYS A. SYROVATKA, VITALIY V. BEKH (Institute of fisheries Ukraine, Kiev)

Abstract. The article represents the results of the determination of the effect of extreme water temperatures of grass carp larvae obtained using the cryopreserved sperm.

Key words: aquaculture, cryopreservation, white amur, fish larvae, resistance.



Д. СИРОВАТКА, науковий співробітник

В. БЕХ, докт. с.-г. наук

Інститут рибного господарства НААН

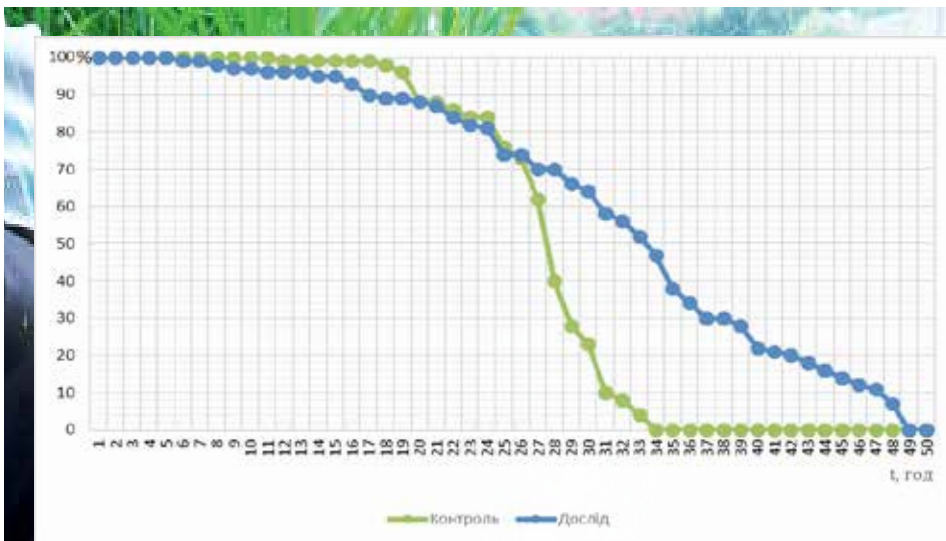
Останнім часом кріоконсервування статевих продуктів риб набуває все більшого практичного значення. У рибництві цей високотехнологічний метод має ті ж самі функціональні можливості, що і в тваринництві. Проте ми завжди повинні враховувати специфіку біології риб та окремих чинників, що впливають на сперму пойкилотермних тварин.

Використання методу кріоконсервування для сперми білого амура дає змогу зберігати генетично цінний матеріал протягом довготривалого періоду та попереджувати деградаційні процеси популяційної та генетичної структури, допомагає у здійсненні селекційних розробок. Також кріо-

консервування, як метод, можна використовувати при гібридизації територіально віддалених груп, що досить ефективно при проявах ефекту інбридингу.

На даний час, розроблені основні прийоми та методи заморожування і дефростації сперми коропових видів риб [1, 3, 5]. Але їх застосування у промислових рибних господарствах неможливе через ряд високотехнологічних процедур, які потребують високої кваліфікації працівників та наявності специфічного обладнання.

Успіх кріоконсервування сперми білого амура значною мірою визначається якістю захисного середовища, яке не повинно чинити негативного впливу на сперміїв у певному діапазоні температур, а також режимами заморожування-розморожування і оптимальними активаторами руху сперматозоїдів після розморожування [2,



Графік виживання личинок білого амура (n=150)



4]. Також існує досить багато гіпотез стосовно потомства, одержаного з використанням дефростованої сперми. Багато авторів висловлюють думку, що кріоконсервування не впливає на нащадків, решта дослідників стверджують, що дана методика шкідлива через вміст токсичних компонентів кріопротекторного розчину та дію низьких температур [2, 7, 8].

Саме тому, метою нашої роботи було одержати життєздатний матеріал білого амура з використанням дефростованої сперми та порівняти резистентність отриманих нащадків до дії негативних факторів середовища.

Дослідження проводили у 2012 році на базі ДП ДГ «Нивка» та лабораторії коропівництва ІРГ НААН.

У ході проведених досліджень були використані загальноприйняті в кріобіології, селекції та рибництві методи.

З основного стада відбрали 10 пар плідників з кращими статевими ознаками. Співвідношення плідників у досліді становило 1:1, що в свою чергу сприяло оцінюванню індивідуальних показників плідника. Для зручності проведення інкубаційної кампанії відібрану партію плідників розділяли на дві групи. Статеві продукти плідників одержували

за допомогою гонадостимулюючого препарату та оцінювали їх якісні показники. У самок за коефіцієнтом поляризації ядра, у самців за відсотком живих статевих клітин та тривалістю руху сперміїв. Кріоконсервування сперми білого амура здійснювали відповідно до методичних рекомендацій для коропових видів риб [4]. Для цього використовували модифікований кріопротекторний розчин, до складу якого входить гліцерин у кількості 5 % від загальної маси кріопротектора. Після витримання спермодози у рідкому азоті, протягом 30 хв та зниження її температури до -196°C , здійснювали дефростацію. Для спермодоз білого амура використовували режим дефростації з температурою водного середовища у 35°C та експозиції у ньому 30 с. [9]. На етапі одержання дефростованої сперми повторно оцінювали її вітальні характеристики з метою прогнозування відсотка запліднення ікри. Ікру від кожної самки розділяли навпіл, частину запліднювали нативною спермою, решту – дефростованою. Таким чином отримали дослід та контроль.

Інкубацію ікри проводили в модифікованих 100 л апаратах «Вейса» та 200 л апаратах «Амур». Після отримання личинок їх витримували у 500 л пластикових басейнах до переходу їх на екзогенне живлення.

5-денних личинок транспортували в приміщенні лабораторії коропівництва ІРГ НААН, з метою

ЛІТЕРАТУРА.

подальшого визначення стійкості виведених нащадків до дії екстремальних температур. Для цього провели гострий дослід у трьох повторностях. Під час його проведення дослідні та контрольні групи по 50 личинок поміщали в холодильну установку. Швидкість охолодження на етапі від 20 до 5 °C становила 3 °C/год. При стабілізації температури на рівні 5 °C личинки витримували протягом 24 год. Подальше зниження температури відбувалось зі швидкістю 1 °C/год. Перевірку кількості живих личинок перевіряли з інтервалом в 1 годину. Одержані дані обробляли статистично за допомогою комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Під час проведення дослідів при зниженні температури водного середовища в проміжку температур від 20 до 5 °C спостерігали пригнічений стан піддослідних личинок у досліді та контролі. За перші 24 години при стабільній температурі 5 °C, практично усі личинки знаходились на дні, в малорухливому стані, проте фіксували поодинокі випадки активного руху з дна до поверхні води. Часова динаміка відходу личинок має свої особливості (рис 1). Так, загибель особин в контрольній групі почалась пізніше, починаючи з 18 години, пік смертності припадав на 25–30 годину, загибель останньої особини фіксували на 33 годину дослідів. В дослідній групі загибель почали фіксувати на 12 годин раніше, проте відхід личинок тут проходив з істотною різницею, він був довше розтягнутий у часі. Пік смертності припадав на 30–38 години. Смерть останньої особини зафіксували на 49 годину дослідів.

Порівнюючи загальний час, протягом якого спостерігали відхід в контрольній та дослідній групах риб, слід зауважити, що в дослідній групі загальний час загибелі сягав 43 годин, у контролі 23 години.

На наш погляд, підвищення резистентності до дії низьких температур личинок білого амура, одержаних з використанням кріоконсервованої сперми, зумовлено певним селекційним ефектом процесу заморожування-розморожування. Це припущення потребує додаткових досліджень, проте слід зауважити, що дані наших попередніх робіт вказують, що на ефект кріоселекції головним чином впливатиме правильність підбору розчину [10].

Висновок

Личинки білого амура, одержані при заводському відтворенні з використанням дефростованої сперми, за своїми вітальними характеристиками, які виражаються через опірність до тривалої дії низьких температур, щонайменше не поступаються аналогічним показникам для личинок, одержаних звичайним заводським методом.

1. **Бех В.В.** Кріоконсервація сперми карпов українських порід. // Цитология. – Т. 46. № 9. Матеріали міжнародної конференції «Сохранение генетических ресурсов» (Санкт-Петербург, 19–22 октября 2004 г.) 2004. – С. 769–770.
2. **Бибенко О.В., Копейка Е.Ф.** Влияние кріоконсервации спермы карпа на эмбриогенез // Кріоконсервирование репродуктивных клеток и эмбрионов. Харьков, 1992. – С. 3–8.
3. **Гринжесвський М.В., Кругляк А.П., Бех В.В., Черепнін В.О., Карацуба І.В., Цедик В.В.** Низькотемпературне кріоконсервування сперми українських порід коропа // Вісник аграрної науки. – 2001. – № 8. – С. 37–38.
4. **Копейка Э.Ф.** Инструкция по низькотемпературной консервации спермы карпа. – М. ВНИИПРХ, 1986. – 11с.
5. **Копейка Э.Ф., Ананьев В.И.** Состояние и некоторые перспективы работ по кріоконсервации половых клеток рыб // Рыбн. Хоз-во. Сер. Аквакультура: Информ. Пакет / ВНИЭРХ. – 1994. – Вып. 1. – С. 8–14.
6. **Копейка Е.Ф., Дрокин С.И., Черепнин В.А., Бех В.В., Грициняк И.И., Линник Т.П., Шишков Г.С.** Опыт получения качественной спермы веслоноса (*Polyodon spathula* Walbaum 1792) и ее кріоконсервация. Матеріали конференції «Кріоконсервация как способ сохранения генетических ресурсов», (Пушино, 28–30 октября, 2008 г.). – 2008. – С. 65–66.
7. **Поликсенов Д.П.** Создание высокопродуктивного и жизнестойкого племенного стада карпа в целях выведения новой породы в Белоруссии // Вопросы рыбного хозяйства Белоруссии. Минск. – 1962. – С. 5–62.
8. **Савушкина С.И., Цветкова Л.И.** Рост молоди карпа полученной с применением кріоконсервированной спермы в условиях водоема – охладителя ГРЭС // Рыбн. Хоз-во. Сер. Аквакультура: Информ. Пакет/ВНИЭРХ. 1994. – Вып. 1. – С. 17–18.
9. **Сироватка Д.А., Бех В.В.** Влияние різних режимів розморожування на рухливість дефростованих спермій білого амура (*Stepharyngodon idella*) // Рибогосподарська наука України. Київ. – № 1. – 2013 р. – С 58–65.
10. **Черепнин В.А., Безусый А.Л., Сироватка Д.А.** Оценка эффекта кріоселекции при использовании оптимизированных кріозащитных сред для замораживания спермы карповых рыб. // Известия высших учебных заведений. Уральский регион. Челябинск. – № 1. – 2014 г. – С 112–117.