

ПРАКТИЧЕСКАЯ РАБОТА №3

ИСКУССТВЕННОЕ ВОСПРОИЗВОДСТВО МОРСКИХ ЕЖЕЙ

(Продолжительность практической работы – 4 часа)

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Целью данной работы является знакомство с биотехникой искусственного воспроизводства морских ежей.

РАБОЧЕЕ ЗАДАНИЕ

1. Внимательно прочитайте данное методическое руководство.
2. Ознакомьтесь с особенностями морских ежей как вида и биотехникой их искусственного воспроизводства .
3. Составьте блок – схему искусственного воспроизводства морских ежей с указанием всех технологических параметров.
4. Оформите отчет о проделанной работе в соответствии с требованиями.
5. Ответьте на контрольные вопросы.

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ВВЕДЕНИЕ

Морские ежи – ценный промысловый объект. Икра морских ежей – высококачественный пищевой продукт, в состав которого входят необходимые для организма человека ценные питательные вещества.

В настоящее время интенсивный промысел морских ежей ведется как за рубежом, так и у нас на Дальнем Востоке. За рубежом это обоснованное сочетание изъятия и воспроизводства, в нашей стране – только изъятие. В Японии для восполнения популяции молодь морских ежей собирают прямо со дна или выставляют в море специальные коллекторы. Затем молодь помещают в садки, в которые одновременно закладывают бурые и зеленые водоросли, которыми ежи питаются. Кроме того, они потребляют детрит и обрастания.

Садки осматривают 2...6 раз в год. За год отход в садках не превышает 20 % и зависит от плотности посадки ежей. Оптимальной плотностью посадки считается 100 шт/м² в возрасте до двух лет и 40...60 шт/м² в возрасте свыше двух лет. Садки размещают в хорошо прогреваемых бухтах с чистой водой. Продолжительность искусственного выращивания морских ежей в садках до промыслового размера 4 года.

Разработанный в ТИНРО-центре метод искусственного воспроизводства (рис. 1) позволяет получать молодь морского черного ежа *Strongilocentrotus nudus* жизнестойких стадий в любое время года.



Рис. 1. Схема культивирования морских ежей

Черный морской еж предпочитает обитать на глубине 40 м, но встречается и на глубине до 180 м. Распространен в заливе Петра Великого, у острова Сахалин, у полуострова Камчатка, в Желтом море.

Гонады морских ежей перед нерестом весят 20...30 г. Диаметр панциря у этих животных 65...85 мм.

В заливе Посьета ежи нерестятся с мая по октябрь и с июля по август. Личинки начинают оседать с конца июля - начала сентября. К ноябрю оседание личинок заканчивается. Сеголетки растут медленно и в возрасте одного года у вида *Strongilocentrotus intermedius* средний диаметр панциря 0,65 см, масса 0,16 г, а у вида *S. nudus* – соответственно 1,5 см и 2,3 г. Наиболее интенсивно ежи растут в июле-сентябре. Зимой рост замедляется. Половозрелость наступает в возрасте трех лет при массе 34...45 г.

В прибрежных районах Баренцева моря морской еж нерестится только один раз в году. Массовый нерест морского ежа в прибрежье Мурмана проходит в зимне-весенний период. Созревание и нерест *S. droebachiensis* в Белом море происходят позже – с середины июня до середины июля (после таяния льда в мае-июне).

Во всех перечисленных частях ареала так же, как и в Баренцевом море, *S. droebachiensis* в течение годового цикла нерестится только один раз. На протяжении почти всего ареала размножение морского ежа протекает в одно и то же время года – между февралем и началом мая, несмотря на весьма широкий температурный диапазон – 1...10 °С.

Для иглокожих характерна пятилучевая симметрия (т. е. их тело можно радиально разделить на пять равных частей); отсутствие головы и выделительных органов; децентрализованная нервная система и отсутствие головного мозга.

Морской еж питается в течение всего года, однако интенсивность питания

высока в период с марта по август, после сентября: она начинает снижаться.

Для роста взрослых ежей наиболее благоприятная температура воды 15...24 °С. Нерест этих животных у берегов Приморья приходится на июль-август.

Для воспроизводства морских ежей в Японии широко используют коллекторный сбор молоди с последующим выпуском ее в естественные биотопы. Целесообразным считают получение молоди в искусственных условиях с дальнейшим подращиванием ее в садках и высевам в район промысловых участков.

Жизненный цикл. Включает в себя следующие стадии: планктонную (эмбриональное и личиночное развитие), прикрепленную (развитие и рост спата на субстрате) и свободноподвижную (обитание на грунте). В ходе раннего онтогенеза последовательно происходит смена стадий развития: бластула, гаструла, плутеус I стадии, плутеус II стадии, плутеус III стадии, метаморфоз.

Средняя продолжительность жизни черного морского ежа 15 лет, обычные размеры промысловых ежей 60...70 мм.

Особенность размножения морского ежа необходимо знать для правильной заготовки производителей.

Размножение. Черный морской еж – раздельнополый вид. Половой зрелости достигает при диаметре панциря 40...45 мм. Плодовитость особей с диаметром панциря от 60 до 75 мм достигает 20...25 млн яйцеклеток. В период нереста пол животного можно определить визуально. У самок гонады желтоватого цвета, при вскрытии стенки из протоков выступают яйцеклетки бледно-желтого цвета. Гонада самца белесая, при вскрытии протоков спермии белого цвета. Как у самок, так и у самцов железы состоят из большого числа разветвленных протоков, связанных с ацинусами.

Половой цикл черного морского ежа – сложный, многоступенчатый процесс, который зависит от биотических и абиотических факторов среды. Температура при этом играет ведущую роль. Каждый этап гаметогенеза приурочен к определенным температурным периодам.

Нерест его приходится на середину июля - конец августа и происходит при температуре 19...22 °С. Активное развитие половых клеток отмечено со второй половины октября и до конца декабря. Гистологическая картина в январе свидетельствует о прекращении роста половых клеток. У самок наблюдается резорбция ооцитов, тогда как у самцов резорбция гамет в зимнее время обычно не выражена. В феврале-марте происходит активация гаметогенеза. У самок в конце марта - апреле в железе содержатся все генерации половых клеток, но преобладают ооциты на стадии большого протоплазматического роста, у самцов – сперматоциты 1-го порядка. В мае-июне гаметы созревают, в июле начинается нерест.

Стадии зрелости гонад у морского ежа. У морского ежа выделены в его репродуктивном цикле стадии зрелости гонад, каждой из которых присущи свои отличительные морфофункциональные признаки.

Эмбриогенез. Проникновение спермия в яйцо происходит довольно быстро. При этом наблюдается кортикальная реакция, в результате которой за 3...5 с образуется гомогенная и бесцветная оболочка оплодотворения. На ее поверхности еще некоторое время видны постепенно теряющие подвижность и агглютинирующиеся спермии.

Дробление начинается с образования меридиональной борозды, которая закладывается на анимальном полюсе и довольно быстро достигает вегетативного полюса. Через 2 ч наступает стадия двух бластомеров. Ее достигает подавляющая часть зигот. Отклонения от нормы расценены как патология развития, отмечены неразделившиеся яйцеклетки, а также яйцеклетки с незаконченной бороздой дробления, эмбрионы с равновеликими бластомерами.

Вторая борозда дробления закладывается перпендикулярно первой, но в той же меридиональной плоскости. В результате возникает стадия четырех равноценных бластомеров.

Третья, экваториальная, борозда делит каждый из четырех бластомеров надвое. Возникает типичная для радиального дробления стадия восьми бластомеров.

При дальнейшем дроблении возникает бластула в виде полого шара. Уже на стадии средней бластулы начинается образование первичной мезенхимы. При этом отдельные клетки из стенки бластулы мигрируют в бластоцель. На стадии поздней бластулы они в виде небольшого скопления наблюдаются у вегетативного полюса. Далее начинается гастрюляция, первичные мезенхимные клетки перемещаются в бластоцель и мигрируют вдоль внутренней стенки бластулы к тому месту, где образуют скелет. Вслед за движением первичных мезенхимных клеток происходит инвагинация всего вегетативного полюса, в результате чего образуется первичная кишка. Такую стадию развития эмбриона называют ранней гастролой.

Инвагинирующие клетки очень похожи на первичные мезенхимные. Они меняют форму, а после формирования первичной кишки образуют псевдоподии и окончательно прикрепляются к внутренней стенке противоположного (анимального) полюса бластулы. Сокращаясь, клетки втягивают первичную кишку дальше в бластоцель так, что она доходит почти до анимального полюса. В конце концов они отделяются от первичной кишки и становятся вторичной мезенхимой взрослого организма.

При дальнейшем развитии у эмбрионов изгибается и становится плоской вентральная сторона. На ней у анимального полюса зародыша образуется рот, начинается формирование целома. Это состояние эмбриона соответствует стадии призмы, т. е. началу образования малого плутеуса. У последнего вырастают зачатки рук, образуется желудок. Малый плутеус через 48 ч вырастает в плутеус I стадии. Плутеус II стадии формируется на 11...15-е сутки. Третья стадия плутеуса наступает на 16...21-е сутки. Метаморфоз начинается на 21...29-е сутки и на 31...36-е заканчивается полностью сформировавшимся морским ежом.

При искусственном получении личинок используют стеклянные сосуды различной вместимости. В течение дробления до бластулы эмбрионы находятся на дне сосуда. На стадии бластулы зародыш ведет свободноплавающий образ жизни. При дальнейшем развитии эмбрионы концентрируются у поверхностного слоя воды.

Плутеусы I, II и III стадий до метаморфоза свободно плавают в толще воды. В период метаморфоза они оседают на субстрат. Затем молодые ежи ведут свободный образ жизни, перемещаясь согласно своим законам миграции.

Биотехнология получения спата в лабораторных условиях заключается в следующем. Морских ежей (диаметр панциря 60...85 мм), отловленных из естественной среды, помещают в аквариумы, температура воды в которых близка к природной. В зависимости от сезона года и зрелости гонад определяют режимы содержания. Морских ежей с гонадами без зрелых гамет подвергают температурной стимуляции.

Стимуляция гаметогенеза. Суть ее заключается в том, чтобы в сжатые сроки воспроизвести естественный температурный фон, не меняя при этом экологические факторы.

Стимуляция гаметогенеза морского ежа включает в себя три периода: адаптацию к искусственной среде при температуре, соответствующей температуре воды в море; активацию гаметогенеза – сжатое воспроизведение естественного хода температур, при котором созревают гонады; завершение гаметогенеза с помощью поддержания устойчивых температур.

Половые продукты у половозрелых самок берут с помощью инъекции 0,5 М КС1 в перивисцеральную полость, у самцов железу извлекают из этого сегмента в чашку Петри. Концентрированную сперму забирают микропипеткой. Осеменение проводят в 10-литровых сосудах. Каплю «сухой» спермы разводят 5 мл морской воды и смешивают с яйцеклетками. Зиготы промывают 6 раз с 30-минутным интервалом и ждут вылупления личинок.

Под микроскопом оценивают процент оплодотворения, для чего пипеткой отбирают на предметное стекло 1 мл жидкости. Затем определяют количество зигот в 1 мл суспензии и пересчитывают число оплодотворенных зигот на объем сосуда.

На третьи сутки личинок кормят, помещая в 10-литровый сосуд с водорослями из расчета 3 тыс. микроводорослей на 1 мл воды в сутки. В качестве корма используют смесь микроводорослей *Platymonas viridis*, *Monochrysis sp.*, *Niphocloris salina*, *Lumnodenium lanskay*, *Chlorella sp.*, *Dunaliella viridis*.

Онтогенез черного ежа при температуре 17 °С протекает следующим образом. Плутеус I стадии возникает через 18 ч, II – на 11...15-е сутки, III стадии – на 16...21-е сутки. Метаморфоз начинается на 21-е сутки, и на 31-е сутки появляется морской еж.

В качестве субстрата для оседания личинок в аквариум вносят коллекторы – раковины моллюсков, кусочки шифера и т. п. Лучший субстрат для оседания

личинок – волнистые пластины с порослью *Ulsella lens* (дисковидный представитель зеленых водорослей). Осевшие личинки длиной 3..4 мм питаются бентосными диатомовыми водорослями на коллекторах. Кормом для личинок длиной 5 мм может служить *Ulva*.

Далее морских ежей вместе с коллекторами помещают в сетчатые садки и выставляют в море или в большие емкости (танки) в заводских условиях. Затем их переносят в места обитания естественных популяций.

Очень важный момент при выращивании личинок – доступность кормов. Микроводоросли для питания личинок морского ежа выращивают на среде Гольберга с использованием морской воды в модификации Ю.Г. Кабановой. Воду фильтруют через песчано-гравийный фильтр, затем стерилизуют.

Для приготовления питательной среды в стерилизованную воду добавляют 2 мл раствора № 1 и по 1 мл растворов № 2 и 3 из расчета на 1 л воды и тщательно перемешивают. Готовую питательную среду используют сразу или хранят не более 14 сут при температуре 2...5 °С.

Раствор № 1: в 100 мл дистиллированной воды растворяют 10,1 г KNO_3 .

Раствор № 2: в 100 мл дистиллированной воды растворяют 1,421 г Na_2HPO_4 .

Раствор № 3: в 100 мл дистиллированной воды растворяют 27,03 мг $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 19,79 мг $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 23,79 мг $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.