

## Опыт термического мечения отоликов личинок щуки обыкновенной

Е.Б. Фурсенко

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии (ФГБНУ «ВНИРО»), г. Москва

E-mail: veta-08@inbox.ru

В статье приведен подробный обзор литературных источников о способах мечения молоди рыб, рассмотрены некоторые вопросы формирования микроструктуры отоликов щуки. На примере щуки обыкновенной показана возможность термического мечения отоликов личинок и ранней молоди рыб с коротким периодом эмбрионального развития. В ходе исследования определили возраст личинок щуки, благоприятный для проведения мечения, и оптимальную продолжительность температурного воздействия. Были апробированы три схемы мечения со временем экспозиции 5, 6 и 10 часов при положительном температурном градиенте 7–12 °С. Температурному воздействию подвергали личинок в возрасте 4 суток и 11 суток (после перехода на внешнее питание) не менее четырёх раз. Результаты мечения оценивали в первые сутки после мечения, через 10 суток и на более поздних этапах развития (в возрасте 21–44 суток). Наилучший результат по качеству и сохранности меток на отоликах был получен при мечении личинок щуки до перехода на активное питание короткими циклами по 5–6 часов.

**Ключевые слова:** отолит, личинки щуки *Esox lucius*, термическое мечение, мечение отоликов.

### ВВЕДЕНИЕ

Щука (*Esox lucius* L., 1758) наряду с судаком (*Sander lucioperca* (L., 1758)) является одним из наиболее массовых хищных видов пресноводных рыб. Широкое распространение её в Евразии повышает значение щуки как важного объекта промысла, а вместе с тем биологического мелиоратора естественных водоёмов [Ростовцев и др., 2011]. Эта рыба представляет собой облигатного хищника, который демонстрирует характерное поведение ещё во время личиночного периода и в составе ихтиоценоза водоёма играет роль ихтиофага [Силивров, 2008; Ефимов и др., 2011]. Присутствие в водоёме щуки позволяет сдерживать численность малоценных видов рыб, тренд к росту численности которых можно наблюдать на протяжении последних трёх десятилетий, как в России, так и за её пределами. При этом зачастую в водоёмах присутствует тенденция к снижению численности ценных видов и замещению их малоценными видами рыб [Сайфуллин, 2006; Ильмаст и др., 2018].

В то же время многие авторы указывают на снижение численности щуки в последние несколько десятилетий, что негативно сказывается

на составе пресноводной ихтиофауны водоёмов [Журавлев, 2006; Кистер, 2017]. Негативно влияет на численность щуки ухудшение условий воспроизводства – колебания уровня воды в водоёмах, вызывающие осушение нерестового субстрата, сокращение площадей нерестилищ или отсутствие надлежащего субстрата для нереста [Хайновский, Ульянов, 2015; Кистер, 2017], а также общее антропогенное воздействие на экосистемы водоёмов.

Одним из путей исправления дисбаланса в трофической цепи водоёма, когда основу рыбной части сообщества составляют малоценные виды рыб, повышения продуктивности и улучшения видового состава, является искусственное воспроизводство более ценных аборигенных видов [Зубин и др., 2010]. Искусственное воспроизводство щуки во многих случаях является одним из инструментов сохранения её природных популяций. В Российской Федерации искусственное воспроизводство щуки базируется на выпуске личинок. Так, например, проводится пополнение природных популяций личинками щуки в Можайском и Озернинском водохранилищах Московской области, а также водных объектов Во-

логодской, Тверской, Волгоградской и Саратовской областей. В отдельных регионах (Пермский край, Республика Башкортостан, Калининградская область) выпускают молодь, но масштабы выпуска незначительны.

Целесообразность проведения мероприятий по искусственному воспроизводству становится очевидной только в случае корректной оценки выживаемости молоди после выпуска в природный водоём. В настоящее время оценка выживаемости выпускаемой молоди (личинок) базируется на экспертных оценках. Существенным фактором дополнительных ошибок является также присутствие в водоёмах молоди, происходящей от естественного нереста. В этой связи выбор наиболее простого и эффективного способа массового мечения выпускаемой молоди и подсчёта выживших особей с использованием учётных съёмов приобретает высокую актуальность.

Известно большое количество методов мечения молоди рыб. К основным методам относятся следующие виды мечения – подрезка плавников, использование радиоактивных изотопов, красителей, в том числе флуоресцентных, и антибиотиков. У перечисленных методов есть определённые недостатки. Обрезка плавников, например, может влиять на реактивность движения, что сделает молодь более уязвимой и менее активной и скажется, в конечном счёте, на её росте и выживаемости. Помимо этого, обрезанные части плавников часто регенерируют, что затрудняет процесс идентификации помеченных рыб, а воздействие красителей может повышать селективность выедания хищниками таких особей [German, La Faunce, 1955; Lawler, Smith, 1963, цит. по Arnold, 1966]. Кроме того, многие методы не позволяют метить личинок и раннюю молодь.

Маркирование отолитов – способ массового мечения рыб на ранних стадиях развития. В настоящее время в лососеводстве мечение проводят двумя методами: в процессе инкубации икры используют метод сухого мечения отолитов посредством создания безводных условий [Хованская и др., 2014] или метод термического мечения, основанный на изменении температуры воды, который можно использовать и во время инкубации и после её окончания.

Принимая во внимание многочисленные плюсы мечения отолитов, такие как возможность его использования для массового мечения на ранних стадиях и относительная простота техники выполнения, высокая сохранность меток на

протяжении жизни меченых рыб, именно этот метод был выбран нами для оценки выживаемости молоди щуки в естественных водоёмах и эффективности её выпуска. Целью данного исследования стала отработка методики термического мечения отолитов щуки на ранних этапах развития. В ходе исследования предстояло решить вопросы адаптации метода, используемого для лососёвых (сем. Salmonidae), к таким особенностям щуки как короткий период эмбрионального развития, быстрый рост и переход на внешнее питание, смена кормовых объектов, склонность к каннибализму, отличный от рыб указанного семейства оптимальный температурный режим.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Работу проводили в несколько этапов: анализ литературных данных по существующим техникам мечения отолитов, развитию отолитов у разных видов рыб и исследованию формирования типичной микроструктуры отолитов щук, после чего – к определению температурного градиента, подходящего фотопериода и разработке схем мечения.

При выборе способа мечения для молоди, выпускаемой в целях искусственного воспроизводства, руководствовались соответствием метода нескольким критериям:

- возможность мечения ранней молоди в значительных количествах;
- возможность воспроизведения в заводских условиях;
- долговечность меток.

Эксперименты по разработке и адаптации метода термического мечения проводили на личинках щуки. Три партии оплодотворённой икры щуки были доставлены в аквариальную ФГБНУ «ВНИРО». Икру инкубировали в аппаратах Вейса при температуре 10–13 °С. Каждую партию делили поровну и рассаживали в два конусных 400-литровых аэрируемых бассейна – контрольный и опытный. Различия в условиях содержания контрольных и опытных групп заключались только в температурном режиме.

Различия между экспериментальными группами состояли в возрасте мечения или длительности температурного воздействия. В контрольных группах поддерживали постоянную температуру на уровне 10–12 °С до перехода на внешнее питание и около 16–20 °С после него.

Термическое мечение личинок проводили на 4 или 11 сутки после вылупления. С этой целью

воду нагревали от 11–12 °С до 18–20 °С. Затем личинок выдерживали при заданной температуре необходимое количество часов. После этого воду охлаждали (возвращали к исходной температуре). Процесс изменения температуры воды занимал 40–50 мин. Температурный градиент во всех экспериментальных группах составлял 7–12 °С.

Для сравнения эффективности одного режима мечения на разных этапах развития вторую экспериментальную группу личинок щуки поместили вторично после перехода на внешнее питание, таким же образом, как и до перехода (тёплая вода имела температуру – около 23 °С, холодная – 16–17 °С). Условия мечения личинок экспериментальных групп приведены в табл. 1.

Во время проведения экспериментов подмены воды осуществляли вручную, заменяя не более 25% в сутки. Требуемую температуру поддерживали в бассейнах при помощи аквариумных холодильников Hailea HC-2000. Процесс нагрева до необходимой температуры, как и охлаждения, занимал 30–50 минут. После завершения мечения все бассейны были подключены к системе УЗВ.

Для исследований личинок и молодь фиксировали в 96%-ном этиловом спирте в течение первых суток после мечения, через 10 суток и в возрасте 20–60 суток, (перед выпуском в природный водоём). Отбирали по 4–10 экземпляров из контрольной и 10–12 из опытной групп, фотографировали для определения этапа развития, взвешивали, измеряли длину и фиксировали в пробирках.

Отолиты фиксировали на предметных стеклах при помощи термоцемента TriPod Wax, просматривали под микроскопом в проходящем

свете. Шлифовку отолитов осуществляли вручную, на шлифовальных дисках Buehler. Подготовку и анализ препаратов проводили с помощью бинокулярного микроскопа Olimpus SZX-12 и тринокулярного микроскопа Leica DMLS, оборудованного камерой для микроскопов Leica DC 100. Обработку фотографий осуществляли при помощи программы Microsoft PowerPoint.

Предварительная оценка результатов мечения была проведена по отолитам, которые были отобраны в первые сутки после окончания мечения. Всего было обработано около 235 отолитов личинок щук сразу после окончания мечения и более 210 отолитов ранней молодки щуки через 10 суток после мечения, около 220 отолитов – на поздних этапах.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ литературных источников был направлен, в первую очередь, на поиск ответов на такие вопросы как выбор возраста мечения, определения сроков формирования микроструктуры отолитов, оптимального температурного градиента, фотопериода, а так же длины экспозиции.

### *Возраст мечения*

У лососёвых рыб ранний возраст возникновения отолитов обуславливает возможность мечения на разных стадиях развития икры. Так, например, у микижи (*Oncorhynchus mykiss* (Walbaum, 1792)), сагитты (отолиты, которые у микижи формируются первыми) появляются на 12-е сутки после оплодотворения и на 22 день уже имеют 7 колец [Salem, Omura, 1998]. Е.Г. Акиничева [2006] рекомендует метить икру лососёвых сухим способом после стадии пигментации глаз. Кроме того, существует возможность мечения личинок

Таблица 1. Схемы мечения экспериментальных групп личинок щуки

Параметры	Экспериментальные группы		
	1	2	3
Возраст начала мечения, суток	4 и 11	4	4
Продолжительность выдерживания в тёплой воде (Т), ч	5	5 и 10	5 и 6
Продолжительность выдерживания в холодной воде (Х), ч	5	5 и 10	5
Схема мечения (Т – тёплая вода, Х – холодная вода)	5Т5Х-5Т5Х-5Т5Х-5Т	5Т5Х-10Т10Х-10Т10Х-10Т	5Т5Х-5Т5Х-6Т5Х-6Т
Температура мечения, °С	18–21 22–23	19–22	18–19

лососёвых рыб до перехода на экзогенное питание [Акиничева, Рогатных, 1996].

У эмбрионов щуки, по данным Ю.Н. Городилова [1985], отолиты появляются после начала пигментации глаз (на 6 сутки после оплодотворения, и инкубации при температуре 10 °С), при длине зародыша 5 мм. Но образование т. н. суточных колец у щуки происходит позже. По данным разных авторов оно было отмечено от момента вылупления до полного рассасывания желточного мешка [Wang, Eckman, 1992; Fey et al., 2018]. Поздние сроки формирования типичной микроstructures отолитов у личинок щуки не позволяют проводить мечение в период инкубации.

Периоды формирования ярких колец, выделяющихся на фоне общей микроstructures, играют важную роль в выборе возраста мечения. Многие авторы указывают на присутствие метки вылупления (hatch check) — яркого кольца на отолитах разных видов рыб, в том числе и щук [Wang, Eckman, 1992; Hwang et al., 2006; Акиничева, 2006]. Кроме того, время вылупления зачастую ознаменовано и началом процессов кальцификации отолитов и соответственно образованием характерной для отолитов рыб микроstructures [Fey et al., 2018].

Другим периодом, сопряжённым со значительными физиологическими изменениями в организме личинок рыб, является период начала смешанного питания. Переход личинок щуки на экзогенное питание — важный этап, который может оставлять след на рисунке микроstructures образований отолитов. Время начала этого периода зависит от ряда факторов, главным из которых является температура воды во время инкубации икры и рассасывания желточного мешка личинок. Личинки щуки, содержащиеся во время опытов при температуре 16 °С, начинали питаться на 6 сутки, в то время как личинки, которых выращивали при 10 °С, начали питаться на 11 сутки после вылупления [Wang, Eckman, 1992].

Начало смешанного питания у личинок щуки отмечено в работах отечественных авторов на 9–10 сутки при температуре 10–15 °С [Костомарова, 1959; Ефимов и др., 2011]. Это согласуется с нашими данными, полученными в процессе выполнения работ по термическому мечению, когда начало экзогенного питания приходилось на период с 7 по 11 сутки при температуре инкубации 10–13 °С. Установлено изменение периодичности закладки колец на отолитах щуки при переходе на внешнее питание. Кроме того, контраст

между зонами (разделяющей и зоной роста) суточного кольца стал выше с переходом на экзогенное питание [Wang, Eckman, 1992]. Таким образом, наиболее перспективными периодами мечения личинок представляются периоды 2–4 суток от вылупления до перехода на внешнее питание (7–11 сутки); и через несколько суток после него — когда все личинки начнут активно поедать предложенные корма.

### *Температурный градиент*

Температурный градиент при мечении различных видов рыб зависит как от стадии развития, на которой происходит мечение, так и от особенностей вида. Икру и личинок лососёвых рыб можно метить при повышении температуры воды уже на 3,0–3,5 °С [Акиничева, Рогатных, 1996]. В то же время М.Т. Negus [1999] отмечает увеличение чёткости колец метки при повышении температурного градиента с 3–4 до 7–10 °С, но при повышении температуры мечения более чем на 10 °С метки более яркими не становились.

Рыб других семейств метили при температурных градиентах от 6 до 19 °С [Yang et al., 2016; Song et al., 2008]. Личинки щуки достаточно устойчивы к колебаниям температуры в широком диапазоне: перепады в пределах 5–8 °С не оказывают негативного влияния на их развитие [Ефимов и др., 2011]. Согласно литературным данным, можно предположить, что перепада температуры в 6–8 °С будет достаточно для возникновения метки, в то же время, такое изменение температуры воды не должно неблагоприятно воздействовать на метаболизм личинок и молоди, так как верхняя летальная температура для молоди щуки составляет более 34 °С, и значительно выше таковой для окуня (*Perca fluviatilis* L., 1758) и плотвы (*Rutilus rutilus* (L., 1758) [Капшай, Голованов, 2009].

### *Фотопериод*

Доказано влияние фотопериода на формирование микроstructures отолитов рыб [Taubert, Coble, 1977; Tanaka et al., 1981]. Интересные результаты были получены в эксперименте, где молодь щуки содержали при постоянной освещённости. Такая молодь росла значительно лучше, чем та, которую выращивали при режиме освещения 14 ч день — 10 ч ночь. Однако не было никаких существенных различий в средней ширине суточных колец между двумя режимами фотопериода [Wang, Eckman, 1992].

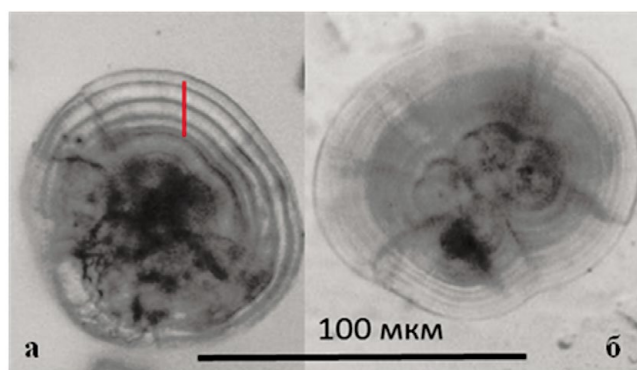
В результате анализа литературных источников, выполненного на первом этапе исследований, было установлено, что начало формирования типичной кольцевой микроструктуры отоликов щук связано с моментом вылупления. Момент вылупления и переход на внешнее питание – это важные этапы, оставляющие видимые изменения в микроструктуре отоликов, поэтому проведение мечения в этот период не желательно. Для формирования меток хорошего качества следует использовать максимальные перепады температур, в рамках зоны нормальной жизнедеятельности. Рассмотрев результаты исследований по термомечению не лососёвых видов рыб, мы остановили свой выбор на положительном температурном градиенте, а основными задачами работы стали определение оптимального возраста мечения ранней молоди щуки и времени воздействия температурного фактора для получения качественных меток, отличных от суточных колец.

После анализа литературных источников нами были выбраны следующие экспериментальные параметры:

- величина положительного температурного градиента должна составлять не менее 7 °С, что увеличивает вероятность появления термометки;
- содержание личинок экспериментальных и контрольных групп при круглосуточном освещении (24 ч день, 0 ч ночь), что позволяет получить высокие темпы роста;
- проведение термомечения личинок не ранее чем через 3 суток после вылупления и не ранее чем через 3 суток после начала активного питания, что позволяет избежать слияния ярких суточных колец начала вылупления и питания с кольцами термометки.

#### *Результаты мечения*

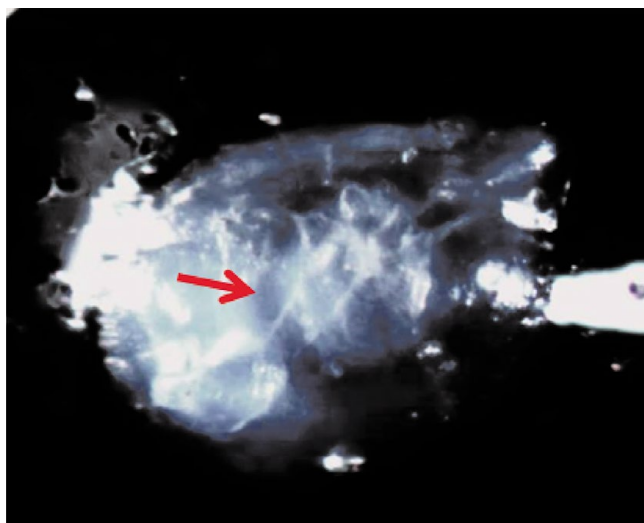
Первые результаты мечения всех экспериментальных групп были получены после обработки отоликов личинок, зафиксированных после окончания циклов мечения (рис. 1). На периферии отоликов личинок экспериментальных групп заметны более контрастные, по сравнению с суточными, кольца метки, появление которых обусловлено изменениями температурного режима в бассейне. Нельзя сказать, что микроструктура отоликов личинок контрольных групп была абсолютно однородной и не содержала ярких полос. Однако в контрольной группе мы не наблюдали такого рисунка, который был виден на отоликах личинок экспериментальных групп.



**Рис. 1.** Отолиты личинок второй экспериментальной группы щуки (а) и контрольной (б) в первые сутки после окончания мечения, 400х (кольца термометки выделены линией)

Все опробованные схемы мечения вызвали видимые изменения в микроструктуре отоликов щук экспериментальных групп, обнаруживаемые уже в первые сутки после завершения процессов мечения.

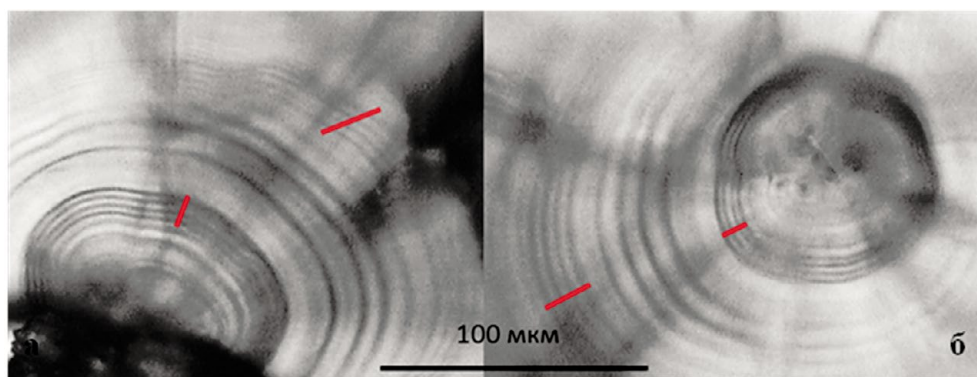
Метки, полученные до перехода личинок на внешнее питание, были заметны даже при просмотре под увеличением в 90 раз без шлифовки и визуализировались как тёмное кольцо (рис. 2).



**Рис. 2.** Отолит (сагитта) щуки первой экспериментальной группы через 10 суток после мечения (возраст 23 суток), 90х (кольцо термометки выделено стрелкой)

#### *Возраст мечения*

Для сравнения эффективности термомечения в разном возрасте молодь первой экспериментальной группы была помечена по одной схеме на разных стадиях развития в возрасте 4 и 11 су-



**Рис. 3.** Отолиты (сагитты) щук первой экспериментальной группы, помеченной в возрасте 4 и 11 суток, через 14 суток после мечения (возраст 36 суток), 400х (а, б – отолиты разных экземпляров; кольца термометок обозначены линиями)

ток. Были получены две метки на отолитах молоди экспериментальной группы. На фотографиях отолитов, сделанных через 14 суток после завершения всех циклов мечения, можно видеть, что метка, образовавшаяся на более поздних этапах развития, имеет меньшую яркость, чем ранняя метка (рис. 3). Такой результат может быть связан с тем, что темп роста молоди после перехода на внешнее питание возрастает. Можно предположить, что меньшая яркость колец метки связана с ускорением темпа роста тела и соответственно отолитов. На рис. 3 можно заметить, что расстояния между полосами метки, которая расположена дальше от центра, больше такового у метки, которая была сделана в возрасте 4 суток.

Ещё одной из возможных причин получения такого результата может являться увеличение стрессоустойчивости и эвритермности с возрастом. Термоустойчивость рыб меняется в процессе онтогенеза и возрастает по мере развития организма [Голованов, 2012]. Если рассматривать термические метки как стрессовые, то, вероятно, стресс от такого же перепада температуры как в возрасте 4 суток оказывает меньшее воздействие в старшем возрасте. Помимо этого, процесс обнаружения ранних меток более результативен, так как метка расположена ближе к центру отолита и по мере шлифовки теряет яркость медленнее, чем метка, сформированная после перехода личинок на внешнее питание.

Эти результаты противоположны тем, что описаны для лососёвых рыб, когда метки, полученные вскоре после вылупления, оказались несколько менее заметными, чем те которые были сделаны через 2 недели и более [Negus, 1999].

В то же время В. Wziątek отмечает, что лучшие метки были получены у личинок сига обыкновен-

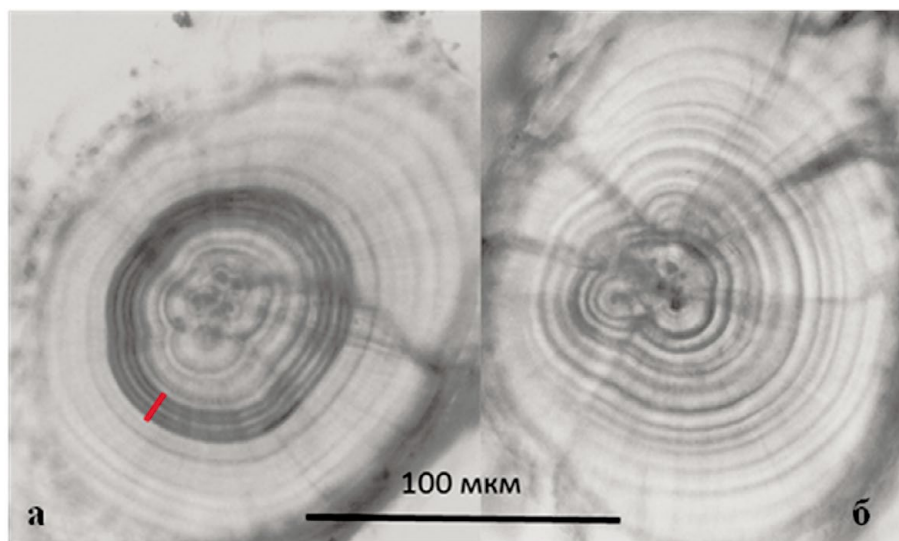
ного (*Coregonus lavaretus* (L., 1758)) в возрасте 5, чем в возрасте 25 суток. Кроме того, метки у личинок, которые голодали во время мечения, возрастом и 5, и 25 суток, были ярче, чем у питавшихся. Вероятно, этим феноменом можно объяснить и лучшие результаты мечения личинок щуки, проведённого в возрасте 4 суток, чем в возрасте 11 суток (после перехода на экзогенное питание) [Wziątek et al., 2007].

#### *Продолжительность термического воздействия*

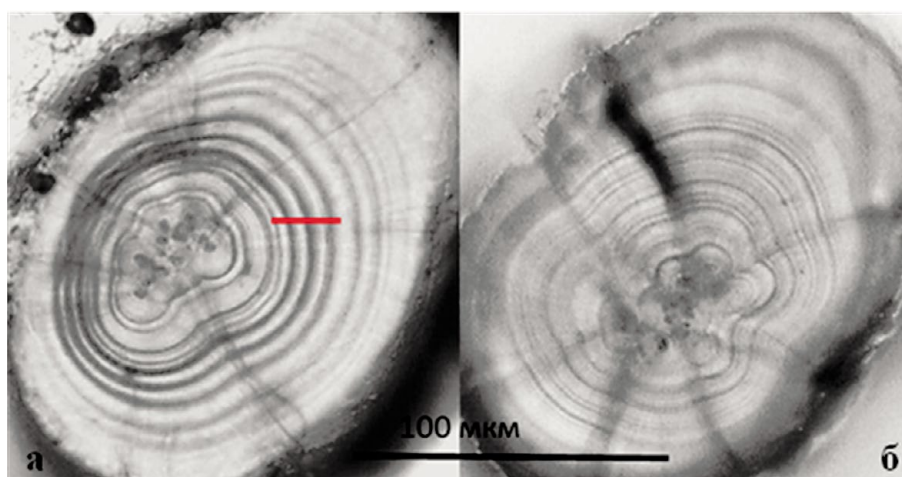
Нами были получены различия в структуре меток при изменении продолжительности термического воздействия. С увеличением времени выдержки в тёплой воде увеличивалась и ширина светлой зоны прироста – то есть расстояние между кольцами метки (разделяющими зонами). Вместе с тем расстояние между полосами метки было пропорционально времени длительности тёплого периода. Так метки в первой и третьей группах состояли из четырёх тёмных близкорасположенных колец, в то время как метка во второй экспериментальной группе состояла из 4 полос, 3 из которых находились на большем расстоянии друг от друга. Подобные результаты были описаны при термомечении личинок рыб сем. чукучановых (Catostomidae) и лососёвых [Song et al., 2008; Negus, 1999].

Более отчётливыми различия в микроструктуре отолитов личинок, помеченных термически, стали по прошествии времени. Все метки выделялись на фоне типичной микроструктуры со стандартными суточными кольцами на отолитах молоди контрольной группы через 10 суток после мечения (рис. 4).

В то же время визуальных различий в кольцах метки при времени выдержки в 5 и 6 часов



**Рис. 4.** Отолиты щук третьей экспериментальной (а) и контрольной группы (б) на 10 сутки после окончания мечения, 400х (кольца термометок обозначены линией)



**Рис. 5.** Отолиты щук второй экспериментальной (а) и контрольной (б) группы через 10 суток после окончания мечения, 400х (кольца термометок обозначены линией)

(третья группа, рис. 4) выявлено не было. При этом время выдержки в 10 часов (рис. 5) способствовало появлению метки, отличной от таковой для первой и третьей групп, которых метили короткими циклами нагрева. Расстояние между полосами такой термометки не отличалось значительно от расстояния между суточными кольцами на отолитах в контрольной группе, где время формирования как инкрементной зоны, так и разделяющей, можно условно принять равным 12 часам. Таким образом, качественная метка должна выделяться не только яркостью полос, но и иметь структуру (схему мечения), позволяющую отличить метку от рисунка суточных колец.

Интересно отметить, что в отличие от лососёвых рыб наиболее качественные метки были получены при коротких циклах мечения (5–6 часов) и в более раннем возрасте. Вероятно, это связано с быстрым ростом молоди щуки и её отолитов соответственно в первые недели жизни, по сравнению с лососёвыми.

Так для озёрной форели лучшие метки были обнаружены при времени выдержки личинок в тёплой воде в 12–16 часов, при этом рекомендованное время выдержки в холодной воде – 24 часа. Отмечено что метка, где расстояние между кольцами больше, в дальнейшем читается легче [Negus, 1999].

Подобные различия между щукой и лососёвыми рыбами могут быть связаны с тем, что термическое мечение лососёвых рыб используется на протяжении нескольких десятилетий и для определения происхождения особи не достаточно убедиться в наличии метки, требуется считать её код. Кроме этого, выявление метки происходило через год-два после выпуска, в отличие от молоди щуки, у которой метки считывали после окончания эксперимента (максимум через 39 суток). В первом случае полосы метки, расположенные на большем расстоянии считываются легче, не требуя при этом максимального увеличения (в 1000 раз) [Negus, 1999].

Е. Volk с соавторами [1999] пишут, что когда требуется большое количество вариантов метки, целесообразнее использовать мечение путём понижения температуры воды, при этом кратковременная (<24 ч) выдержка в холодной воде более эффективна для создания меток, чем выдержка в нагретой воде.

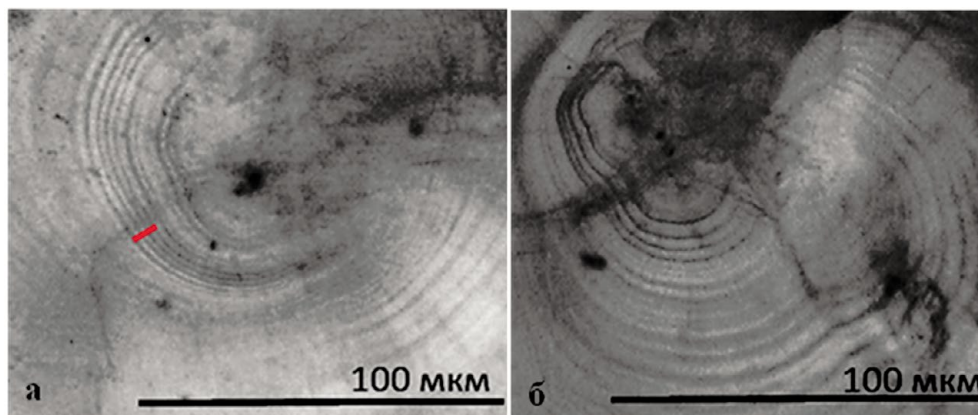
Так, например, хорошие результаты были получены при термомечении личинок сига обыкновенного. Наилучшее качество меток отмечено при выдерживании личинок в воде 4 часа с использованием отрицательного температурного градиента в 4 °C [Wziątek et al., 2007].

#### *Сложности идентификации меток*

С увеличением возраста исследуемых особей повышается и сложность обнаружения отолитной термометки. Все метки сразу после окончания процесса мечения (возраст личинок – 5–16 суток) были различимы или без шлифовки, или с минимальной шлифовкой отолитов. Полосы метки третьей группы сразу после окончания ме-

чения были хорошо различимы как набор из четырёх ярких колец. Даже спустя 39 суток, по мере роста рыб и увеличения размеров отолитов, метка визуализируется как широкое тёмное кольцо в центре отолита. Тем не менее, в этом возрасте после шлифовки все кольца термометки могут быть заметны уже при увеличении в 400 раз. Однако с идентификацией таких меток могут возникать определённые сложности в процессе шлифовки. Например, если шлифовать отолит слишком долго, то метка теряет яркость и в меньшей степени отличается от микроструктуры отолитов щук контрольной группы (рис. 6).

По результатам наших наблюдений качество меток на сагиттах и лапиллюсах практически не отличалось, при этом пробоподготовка лапиллюсов была менее трудоёмкой. У щуки это связано как с более быстрым ростом сагитты по сравнению с лапиллюсом, так и с более сложной формой отолита. Наши данные согласуются с данными польских учёных, изучавших динамику формирования суточных колец у молоди щуки. Они пишут, что сагитты предпочтительнее использовать у личинок размером до 25 мм, а у особей крупнее указанного размера – лапиллюсы [Feu et al., 2018], что соответствует возрасту 19–24 суток для контрольных групп проведённого нами эксперимента. Уже в возрасте 2 месяцев сагитты щук в силу больших размеров хуже поддаются шлифовке, они чаще трескаются, что мешает чтению полученных меток. Поэтому в качестве регистрирующей структуры у щуки для идентификации меток в мальковом и последующих периодах развития целесообразнее использовать лапиллюсы. Эти результаты согласуются с данными авторов, зафиксировавших лучшую видимость



**Рис. 6.** Отолиты (лапиллюсы) щук третьей экспериментальной (а) и контрольной (б) группы через 39 суток после окончания мечения (возраст 44 суток), 400х (кольца термометок обозначены линией)



метки на лапиллюсах других видов рыб [Yang et al., 2016], а также использовавших лапиллюсы как основные регистрирующие структуры для подсчёта суточных колец у молоди щук [Wang, Eckman, 1992].

Не всегда метки на всех отолитах были отчётливыми. По этой причине просматривали по возможности 4 отолита (2 сагитты и 2 лапиллюсы). При этом всегда хотя бы на одном отолите визуализировалась метка хорошего качества. Вероятно, это связано с быстрым ростом щук и необходимостью более продолжительной и в то же время аккуратной обработки отолитов для визуализации меток в центре отолитов в старшем возрасте. Трудоёмкость и длительность процесса пробоподготовки и идентификации меток может представлять большое препятствие к широкому применению данной методики мечения.

Направлениями дальнейшей работы могут стать изучение возможности идентификации термометок у молоди старшего возраста; апробация метода термического мечения при отрицательном температурном градиенте и адаптация метода для объектов искусственного воспроизводства различной систематической принадлежности.

## ВЫВОДЫ

1. В результате проведённых исследований была показана возможность термического мечения рыб с коротким циклом эмбрионального развития, в частности щуки.

2. Важными этапами развития молоди щуки, оставляющими характерные естественные метки на отолитах, являются моменты вылупления и перехода на внешнее питание.

3. Для достижения наилучших результатов термическое мечение личинок щуки следует проводить в возрасте 3–4 суток короткими циклами нагрева по 5–6 часов и метить личинок не менее 4 раз.

4. Перепад температуры, вызывающий видимые изменения в микроструктуре отолитов личинок щук, можно считать равным 7 °С.

5. Для идентификации полученных меток щуки удобнее использовать лапиллюсы в качестве регистрирующей структуры.

## ЛИТЕРАТУРА

Акиничева Е.Г. 2006. Особенности сухого маркирования тихоокеанских лососей // Современные проблемы

лососевых рыбоводных заводов Дальнего Востока. Мат. межд. науч.-практ. семинара. С. 224–234.

Акиничева Е.Г., Рогатных А.Ю. 1996. Опыт мечения лососей на рыбоводных заводах посредством термического маркирования // Вопросы ихтиологии. Т. 36. № 5. С. 693–698.

Голованов В.К. 2012. Эколого-физиологические закономерности распределения и поведения пресноводных рыб в термоградиентных условиях. Дисс. ... док. биол. наук. М.: МГУ. 250 с.

Городилов Ю.Н. 1985. Периодизация и хронология эмбрионально-личиночного развития некоторых видов пресноводных рыб // Сборник научных трудов ГосНИОРХ. Вып. 235. С. 31–49.

Ефимов А.Б., Бурлаченко И.В., Ежкин М.А., Береговский А.А., Николаева Н.А. 2011. Особенности промышленного выращивания европейской щуки *Esox lucius* в условиях установки замкнутого водообеспечения // Рыбное хозяйство. № 5. С. 80–83.

Журавлев В.Д. 2006. Рыбы бассейна Верхней Оби // Экология рыб Обь-Иртышского бассейна. Щука. М.: Т-во научных изданий КМК. С. 223–225.

Зубин А.А., Жуков В.П., Ульянов А.Г. 2010. Предложения по повышению эффективности воспроизводства ценных видов водных биологических ресурсов в водоёмах Калининградской области // Рыба и морепродукты. № 3 (51). С. 49–53.

Ильмаст Н.В., Стерлигова О.П., Кучко Я.А. 2018. Экосистема Урзозера и результаты вселения в водоём новых видов рыб // Российский Журнал Биологических Инвазий. № 3. С. 62–69.

Капшай Д.С., Голованов В.К. 2009. Верхние летальные температуры и термопреферендум молоди щуки (*Esox lucius* L.) // Рыбное хозяйство. Вып. 66. С. 65–70.

Кустер А.А. 2017. О необходимости присутствия щуки (*Esox lucius*) в водоёмах на примере Красноярского водохранилища // Тенденции развития науки и образования. № 27–1. С. 12–14.

Костомарова А.А. 1959. Биологическое значение этапа смешанного питания для развития личинок щуки // Рыбное хозяйство. № 8. С. 25–27.

Ростовцев А.А., Егоров Е.В., Зайцев В.Ф. 2011. Методические рекомендации по зарыблению озёр выращиванию и вылову товарной рыбы в озёрах. Новосибирск: Госрыбцентр. Доступно через: <https://textarchive.ru/c-1661274-pall.html> 15.02.2021

Сайфуллин Р.Р. 2006. Ихтиоценозы водоёмов Среднего Поволжья. Доступно через: [https://kpfu.ru/staff\\_files/F638281984/Monografiya.pdf](https://kpfu.ru/staff_files/F638281984/Monografiya.pdf) 15.02.2021.

Силивров С.П. 2008. Эколого-морфологическая изменчивость щуки (*Esox lucius* L.) и её хозяйственное значение в разнотипных водоёмах Урала. Автореф. Дисс. ... канд. биол. наук. Пермь: ПермГУ. 25 с.

Хайновский К.Б., Ульянов А.Г. 2015. Искусственное воспроизводство водных биологических ресурсов в Калининградской области: опыт, проблемы, перспективы // Труды ВНИРО. Т. 153. С. 57–73.

Хованская Л.Л., Сафроненков Б.П., Фомин Е.А. 2014. Руководство по искусственному разведению тихоокеан-

- ских лососей на рыбоводных заводах Магаданской области. Магадан: Кордис. 147 с.
- Arnold D.E. 1966. Marking Fish with Dyes and Other Chemicals // U.S. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife. P. 44.
- Fey D.P., Lejk A.M., Greszkiewicz M. 2018. Daily deposition of growth increments in sagittae and lapilli of laboratory-reared larval northern pike (*Esox lucius*) // Fishery Bulletin. V. 116. P. 302–309.
- Hwang S.-D., Song M.-H., Lee T.-W., McFarlane G.A., King J.R. 2006. Growth of larval Pacific anchovy *Engraulis japonicus* in the Yellow Sea indicated by otolith microstructure analysis // J. of Fish Biology. V. 69. P. 1756–1769.
- Negus M.T. 1999. Thermal Marking of Otoliths in Lake Trout Sac Fry // North American J. of Fisheries Management. V.19. I. 1. P. 127–140.
- Panella G. 1971. Fish Otoliths: Daily Growth Layers and Periodical Patterns // Science. V. 173. № . 4002. P. 1124–1127.
- Salem M.A., Omura Y. 1998. Embryonic Development of the Inner Ear and Otolith of the Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* // Arch. Histol. Cytol. V. 61. № 2. P. 179–187.
- Song Z., He C., Fu Z., Shen D. 2008. Otolith thermal marking in larval Chinese sucker, *Muxocyprinus asiaticus* // Environ Biol. Fish. V. 82. P. 1–7.
- Tanaka K., Mugiya Y., Yamada J. 1981. Effects of photoperiod and feeding on daily growth patterns in otoliths of juvenile *Tilapia nilotica* // Fishery Bulletin. V. 79. № 3. P. 459–466.
- Taubert B., Coble D. 1977. Daily Rings in Otoliths of Three Species of *Lepomis* and *Tilapia mossambica* // J. of the Fisheries Research Board of Canada. V. 34. P. 332–340.
- Volk E.C., Schroder S.L., Grimm J.J. 1999. Otolith thermal marking // Fisheries Research. V. 43. Is. 1–3, October. P. 205–219.
- Wang N., Eckman R. 1992. Effects of photoperiod, feeding regime and water temperature on the formation of daily growth increments in otoliths of larval pike (*Esox lucius* L.) // J. Appl. ichthyol. V. 8. I. 1–4, August. P. 246–250.
- Wziątek B., Hliwa P., Król J., Stabiński R., Kozłowski J., Nagieć M., Gomułka P. 2007. Optimization of the method for thermal marking of coregonid fish otoliths // Advances in Limnology. V. 60. P. 369–376.
- Yang K., Zeng R., Gan W., Deng L., Song Z. 2016. Otolith fluorescent and thermal marking of elongate loach (*Leptobotia elongata*) at early life stages // Environ. Biol. Fish. V. 99. P. 687–695.

Поступила в редакцию 20.02.2021 г.

Принята после рецензии 26.02.2021 г.

## Thermal marking of otoliths in common pike larvae

*E.B. Fursenko*

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography («VNIRO»), Moscow, Russia

The article provides a detailed review of the marking methods of juvenile fish and discusses the mechanisms of the microstructure pike otoliths' formation. The feasibility of thermal otolith marking of larvae and early juvenile fish with a short period of embryonic development is shown on the example of the common pike. The objectives of the study were to determine the most suitable age of pike juveniles for marking, and the optimal duration of temperature exposure. Three marking protocols were tested, in which the water temperature gradient was 7–12 °C, and the exposure time was 5, 6 and 10 hours, respectively. The pike larvae were marked at the age of 4 days and 11 days (after the start of the exogenous feeding) at least four times. The results of marking were evaluated on the first day and on the 10<sup>th</sup> day after marking, as well as at later stages of development (in the age of 21–44 days). Most visible marks were noted in short heating cycles (5–6 hours) in larvae before the start of the exogenous feeding.

**Keywords:** otolith, pike *Esox lucius* larvae, thermal marking, otolith marking.

### REFERENCES

- Akinicheva E.G.* 2006. Osobennosti sukhogo markirovaniya tikhookeanskikh lososej [Features of dry marking of pacific salmon] // *Sovremennye problemy lososevykh rybovodnykh zavodov Dal'nego Vostoka. Mat. mezhd. nauch.-prakt. seminara.* S. 224–234.
- Akinicheva E.G., Rogatnykh A. Yu.* 1996. Opyt mecheniya lososej na rybovodnykh zavodakh posredstvom termicheskogo markirovaniya [Experience in marking salmon in fish hatcheries by thermal marking] // *Voprosy ikhtiologii.* T. 36. № 5. S. 693–698.
- Golovanov V.K.* 2012. *Ehkologo-fiziologicheskie zakonomernosti raspredeleniya i povedeniya presnovodnykh ryb v termogradientnykh usloviyakh* [Ecophysiological patterns of distribution and behavior of freshwater fish in thermal gradients]. Diss. ... dokt. biol. nauk. M.: MGU. 250 s.
- Gorodilov Yu.N.* 1985. *Periodizatsiya i khronologiya ehmbrial'no-lichinochnogo razvitiya nekotorykh vidov presnovodnykh ryb* [Periodization and chronology of embryonic-larval development of some freshwater fish species] // *Sbornik nauchnykh trudov GosNIORKH.* V. 235. S. 31–49.
- Efimov A.B., Burlachenko I.V., Ezhkin M.A., Beregovskij A.A., Nikolaeva N.A.* 2018. Osobennosti industrial'nogo vyrashchivaniya evropejskoj shchuki *Esox lucius* v usloviyakh ustanovki zamknutogo vodoobespecheniya [Features of the industrial cultivation of the European pike *Esox lucius* in the recirculation aquaculture system] // *Rybnoe khozyajstvo.* № 5. S. 80–83.
- Zhuravlev V.D.* 2006. *Ryby bassejna Verkhnej Obi. Shchuka* [Fish of the upper Ob River basin. Pike] // *Ehkologiya ryb Ob'-Irtyskского bassejna. M.: T-vo nauchnykh izdaniy KMK.* S. 223–225.
- Zubin A.A., Zhukov V.P., Ul'yanov A.G.* 2010. *Predlozheniya po povysheniyu ehffektivnosti vosproizvodstva tsennykh vidov vodnykh biologicheskikh resursov v vodoemakh Kaliningradskoj oblasti* [Suggestions for improving the efficiency of reproduction of valuable types of aquatic biological resources in the reservoirs of the Kaliningrad region] // *Ryba i moreprodukty.* № 3 (51). S. 49–53.
- Il'mast N.V., Sterligova O.P., Kuchko Ya.A.* 2018. *Ehkosistema Urozera i rezul'taty vseleniya v vodoem novykh vidov ryb* [Ecosystem of lake Urozero and results of introduction of new fish species into the water body] // *Rossijskij Zhurnal Biologicheskikh Invazij.* № 3. S. 62–69.
- Kapshaj D.S., Golovanov V.K.* 2009. *Verkhnie letal'nye temperatury i termopreferendum molodi shchuki (Esox lucius L.)* [Upper lethal temperature and final thermopreferendum in juveniles of pike (*Esox lucius* L.)] // *Ribne gospodarstvo.* V. 66. S. 65–70.
- Kister A.A.* 2017. *O neobkhodimosti prisutstviya shchuki (Esox lucius) v vodoemakh na primere Krasnoyarskogo vodokhranilishcha* [The necessary of the presence of pike (*Esox lucius*) in water bodies on the example of the Krasnoyarsk reservoir] // *Tendentsii razvitiya nauki i obrazovaniya.* № . 27–1. S. 12–14.
- Kostomarov A.A.* 1959. *Biologicheskoe znachenie ehtapa smeshannogo pitaniya dlya razvitiya lichinok shchuki* [Biological significance of the mixed feeding stage for the development of pike larvae] // *Rybnoe khozyajstvo.* № 8. S. 25–27.

- Rostovtsev A.A., Egorov E.V., Zajtsev V.F. 2011. Metodicheskie rekomendatsii po zaryblyeniyu ozer vyrashchivaniyu i vylovu tovarnoj ryby v ozerakh [Guidelines for stocking of lakes in the cultivation and catching of commercial fish in lakes]. Novosibirsk: Gosrybtsentr. Accessible via: <https://textarchive.ru/c-1661274-pall.html> 15.02.2021.
- Sajfullin R.R. 2006. Ikhtiotsenozy vodoemov Srednego Povolzh'ya [Ichthyocenoses of reservoirs of the Middle Volga region]. Accessible via: [https://kpfu.ru/staff\\_files/F638281984/Monografiya.pdf](https://kpfu.ru/staff_files/F638281984/Monografiya.pdf). 15.02.2021.
- Silivrov S.P. 2008. Ekhologo-morfologicheskaya izmenchivost' shchuki (*Esox lucius* L.) i ee khozaystvennoe znachenie v raznotipnykh vodoemakh Urala [Ecological and morphological variability of pike (*Esox lucius* L.) and its economic significance in different types of reservoirs of the Ural]. Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk. Perm': PermGU. 25 s.
- Khajnovskij K.B., Ul'yanov A.G. 2015. Iskusstvennoe vosproizvodstvo vodnykh biologicheskikh resursov v Kaliningradskoj oblasti: opyt, problemy, perspektivy [Artificial Reproduction of Aquatic Bioresources in the Kaliningrad Region: Experience, Issues, and Prospects] // Trudy VNIRO. T. 153. S. 57–73.
- Khovanskaya L.L., Safronenkov B.P., Fomin E.A. 2014. Rukovodstvo po iskusstvennomu razvedeniyu tikhookeanskikh lososej na rybovodnykh zavodakh Magadanskoj oblasti [Manual on artificial breeding of Pacific salmon in fish hatcheries of the Magadan region]. Magadan: Kordis. 147 s.
- Arnold D.E. 1966. Marking Fish with Dyes and Other Chemicals // U.S. Bureau of Sport Fisheries and Wildlife. P. 44.
- Fey D.P., Lejk A.M., Greszkiewicz M. 2018. Daily deposition of growth increments in sagittae and lapilli of laboratory-reared larval northern pike (*Esox lucius*) // Fishery Bulletin. V. 116. P. 302–309.
- Hwang S.-D., Song M.-H., Lee T.-W., McFarlane G.A., King J.R. 2006. Growth of larval Pacific anchovy *Engraulis japonicus* in the Yellow Sea indicated by otolith microstructure analysis // J. of Fish Biology. V. 69. P. 1756–1769.
- Negus M.T. 1999. Thermal Marking of Otoliths in Lake Trout Sac Fry // North American J. of Fisheries Management. V.19. I. 1. P. 127–140.
- Panella G. 1971. Fish Otoliths: Daily Growth Layers and Periodical Patterns // Science. V. 173. № . 4002. P. 1124–1127.
- Salem M.A., Omura Y. 1998. Embryonic Development of the Inner Ear and Otolith of the Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* // Arch. Histol. Cytol. V. 61. № . 2. P. 179–187.
- Song Z., He C., Fu Z., Shen D. 2008. Otolith thermal marking in larval Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus* // Environ Biol. Fish. V. 82. P. 1–7.
- Tanaka K., Mugiya Y., Yamada J. 1981. Effects of photoperiod and feeding on daily growth patterns in otoliths of juvenile *Tilapia nilotica* // Fishery Bulletin. V. 79. № . 3. P. 459–466.
- Taubert B., Coble D. 1977. Daily Rings in Otoliths of Three Species of *Lepomis* and *Tilapia mossambica* // J. of the Fisheries Research Board of Canada. V. 34. P. 332–340.
- Volk E.C., Schroder S.L., Grimm J.J. 1999. Otolith thermal marking // Fisheries Research. V. 43. Is. 1–3, October. P. 205–219.
- Wang N., Eckman R. 1992. Effects of photoperiod, feeding regime and water temperature on the formation of daily growth increments in otoliths of larval pike (*Esox lucius* L.) // J. Appl. ichthyol. V. 8. I. 1–4, August. P. 246–250.
- Wziątek B., Hliwa P., Król J., Stabiński R., Kozłowski J., Nagieć M., Gomułka P. 2007. Optimization of the method for thermal marking of coregonid fish otoliths // Advances in Limnology. V. 60. P. 369–376.
- Yang K., Zeng R., Gan W., Deng L., Song Z. 2016. Otolith fluorescent and thermal marking of elongate loach (*Leptobotia elongata*) at early life stages // Environ. Biol. Fish. V. 99. P. 687–695.

## TABLE CAPTIONS

**Table 1.** The scheme of experiments of the pike larvae marking

## FIGURE CAPTIONS

**Fig. 1.** Otoliths of the second experimental group (a) and the control group (б) of pike larvae on the first day after marking, 400x (mark rings are indicated by the line)

**Fig. 2.** Otolith (sagitta) of pike of the first experimental group on the 10th day after marking (23 days old), 90x (the mark ring is indicated by the arrow)

**Fig. 3.** Otoliths (sagittae) of pike of the first experimental group marked at the age of 4 and 11 days, on the 14th day after marking (age is 36 days), 400x (a, б – otoliths of different specimens; mark rings are indicated by lines)

**Fig. 4.** Otoliths of pike of the third experimental group (a) and control group (б) on the 10th day after marking, 400x (mark rings are indicated by the line)

**Fig. 5.** Otoliths of pike of the second experimental group (a) and control group (б) on the 10th day after marking, 400x (mark rings are indicated by the line)

**Fig. 6.** Otoliths (lapilli) of pike of the third experimental group (a) and control group (б) on the 39th day after marking (44 days old), 400x (mark rings are indicated by the line)