

**ФГБОУ ВО «Керченский государственный морской
технологический университет»
(кафедра водных биоресурсов и марикультуры)**

Ассоциация «Живая природа степи»

ФГБНУ «Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства»

**ФГБУН «Карадагская научная станция имени Т.И. Вяземского –
природный заповедник РАН»**

ГБУ Природный заповедник «Опукский»

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ:
ИЗУЧЕНИЕ, СОХРАНЕНИЕ, ВОССТАНОВЛЕНИЕ,
РАЦИОНАЛЬНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**

Материалы Международной научно-практической конференции

Керчь, 19-23 сентября 2018 г.

Симферополь
ИТ «АРИАЛ»
2018

УДК 504.7
ББК 26.2
Б 63

Публикуется в авторской редакции

**Б 63 Биологическое разнообразие: изучение, сохранение, восстановление, рациональное использование : материалы Международной научно-практической конференции (Керчь, 19 – 23 сентября 2018 г.). – Симферополь : ИТ «АРИАЛ», 2018. – 424 с.
ISBN 978-5-907032-59-0**

Настоящее издание включает материалы Международной научно-практической конференции, проходившей в период с 19 по 23 сентября 2018 г. и приуроченной к 15-летию открытия направления и кафедры водных биоресурсов и марикультуры в Керченском государственном морском технологическом университете, а также 20-летию создания природного заповедника «Опукский».

УДК 504.7
ББК 26.2

Научное издание

**БИОЛОГИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ:
изучение, сохранение, восстановление, рациональное использование**

Материалы Международной научно-практической конференции

Керчь, 19-23 сентября 2018 г.

В авторской редакции

Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 24,65. Тираж 120 экз.

ИЗДАТЕЛЬСТВО ТИПОГРАФИЯ «АРИАЛ».
295015, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Севастопольская, 31-а/2,
тел.: +7 978 71 72 901, e-mail: it.arial@yandex.ru, www.arial.3652.ru

Отпечатано с оригинал-макета в типографии ИП Бражникова Д.А.
295053, Республика Крым, г. Симферополь, ул. Оленчука, 63,
тел. +7 978 71 72 902, e-mail: braznikov@mail.ru

ISBN 978-5-907032-59-0

© Авторы статей, 2018
© ИТ «АРИАЛ», 2018

1. Фундаментальная биология

УДК 597.11

Булли Александр Федорович

Керченский государственный морской технологический университет

г. Керчь, Российская Федерация

E-mail: abulli@bk.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТАДИИ ЗРЕЛОСТИ ЯИЧНИКОВ ПИЛЕНГАСА *LIZA HAEMATOCHEILA* (TEMMINCK ET SCHLEGEL, 1845) МАТОЧНОГО СТАДА ПО ДИАМЕТРУ ЖЕЛТКОВЫХ ООЦИТОВ

Аннотация. Проанализированы гистологические изменения в ооцитах разного размера у пиленгаса в преднерестовый период. Показано, что дефинитивного состояния ооциты достигают при диаметре 620- 650 мкм. В этот момент завершается накопление трофических веществ и наступает фаза E стадии IV, при которой отмечается максимальная чувствительность рыбы к введению гормональных препаратов.

Ключевые слова: Кефаль, ооциты, диаметр, нерестовый сезон

DETERMINATION OF THE STAGE OF MATURITY OF THE OVARIES OF
MULLET *LIZA HAEMATOCHEILA* (TEMMINCK ET SCHLEGEL, 1845)
OF THE MATERIAL STAGE ACCORDING TO THE DIAMETER OF
YELLOW OOCYTES

Abstract. Histological changes in oocytes of different sizes of *Liza haematocheila* mullet in the pre-spawning period were analyzed. It is shown that the definitive state of oocytes is attained at a diameter of 620-650 μm . At this moment, the accumulation of trophic substances is completed and the phase E of stage IV begins, at which the maximum sensitivity of the fish to the injection of hormonal preparations is noted.

Keywords: Mullet, oocytes, diameter, spawning season

ВВЕДЕНИЕ

Работа с пиленгасом маточного стада во время бонитировки и в период нерестовой кампании требует быстрого определения физиологического состояния самок для отбора более зрелых рыб в опыт и выбора стратегии гормональной стимуляции созревания яйцеклеток.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Маточное стадо пиленгаса содержали в делевых садках в прудах карьерах [1]. Известно, что кефали в неволе не созревают, гонады самок пиленгаса в условиях садкового содержания на Молочном лимане созревают до III- IV стадии зрелости, единичные самки до IV стадии [2-5].

Для определения состояния преднерестовых самок маточного стада вовремя в качестве критерия для отбора использовали величину желтковых ооцитов.

При изучении годового цикла и оогенеза самок маточного стада одновременно с отбором проб ооцитов для гистологического изучения, часть живых клеток 50-100 экземпляров измеряли под бинокуляром.

Ткань гонады для гистологии фиксировали во время полного биологического анализа, у живых рыб пробу ооцитов отбирали с помощью щупа из средней части яичника, введенного через генипору [6]. Часть пробы фиксировали в жидкости Буэна, и по общепринятой методике изготавливали срезы толщиной 5-7 мкм, окрашивали срезы железным гематоксмином по Генденгайну, изготавливали постоянные препараты [7, 8]. Вторую часть пробы живых клеток помещали в физиологический раствор с формалином, измеряли диаметр под увеличением бинокуляра 4x8 с помощью линейки окуляр-микрометра.

После изготовления постоянных гистологических препаратов, по центральному срезу ооцитов определяли и описывали их физиологическое состояние. Живые ооциты изучали под бинокуляром - проводили визуальный осмотр внешнего состояния, с помощью окуляр-микрометра измеряли диаметр, строили вариационный ряд и определяли средний размер.

Далее степень зрелости ооцитов с гистологических препаратов идентифицировали с величиной живых клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Фаза первоначального накопления желтка (начала отложения желтка)

Гистологическая картина. Отложение желтка наблюдается в ооцитах размером от 174,3 x 152,5 мкм. Мелкие, темноокрашенные зерна желтка округлой формы от 0,8 до 1,6 мкм

в диаметре располагаются рядами, на некотором расстоянии от оболочки ооцита, образуя на медиальном срезе слой серповидной формы. Толщина слоя прозрачных вакуолей вокруг ядра достигает половины или более половины расстояния от ядра до оболочки ооцита. Вакуоли увеличились до 5,8 x 4,2 мкм, диаметр отдельных вакуолей увеличился до 12,2 мкм. Остальная часть цитоплазмы гомогенная, слабо окрашенная. Желточное ядро не наблюдается, но в единичных ооцитах еще присутствует, оно более рыхлое и увеличилось в размерах до 27,7 x 18,9 мкм. Ядро ооцита 76,2 x 65,4 мкм занимает центральное положение. Ядрышки на срезе двояковыпуклой формы от 11,1 x 5,5 до 9,7 мкм и округлой от 3,5 до 4,4 мкм в количестве 8 - 13 располагаются возле оболочки ядра. Собственная оболочка ооцита хорошо выражена, ее толщина равна 0,4 - 1,1 мкм, высота клеток фолликулярного эпителия 1,1-1,5 мкм. (рис. 1).

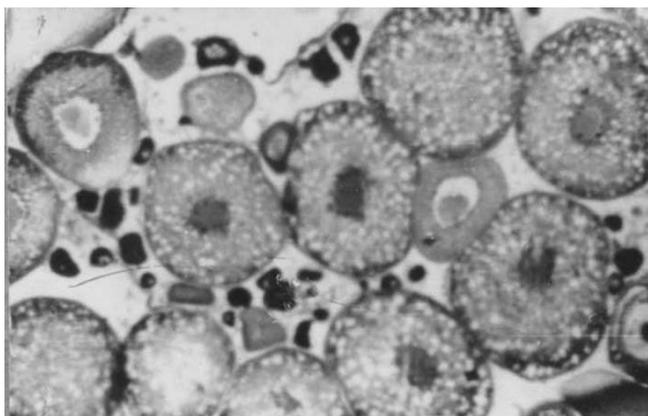


Рисунок - 1. Ооцит фазы начала отложения желтка (стадия III, начало)

Визуальная картина живых ооцитов x4x8. Ооциты правильной округлой формы, окрашен в бледно-желтый цвет, диаметр клеток от 250 мкм. Прозрачных неокрашенных участков цитоплазмы не наблюдается

Фаза Интенсивного накопления желтка

Гистологическая картина. В ооцитах, достигших величины (диаметра) 217,9 x 185,2 мкм идет активный вителлогенез. Цитоплазму заполняют желтковые гранулы, они увеличились до 3,3x1,2-4,4x2,2 мкм. На срезах гранулы выглядят прямоугольными или шестиугольными. Диаметр неокрашенных вакуолей около 5,5 мкм. Некоторое время периферийная часть цитоплазмы остается

свободной от желточных гранул и жировых вакуолей. Желточное ядро исчезло.

В конце фазы желточные гранулы и жировые вакуоли заполняют весь объем ооцита. Далее в ооцитах продолжается интенсивное накопление трофических веществ. В ооцитах величиной 241,7 x 222,3 мкм размеры желточных гранул увеличивается до 6,3 x 2,4 мкм, величина вакуолей достигает 10,9 x 4,9 мкм. В цитоплазме наблюдается хорошо выраженная слоистость за счет слоя темно окрашенных гранул желтка, расположенных под оболочкой ооцита и светлоокрашенных гранул, расположенных вокруг ядра в центральной части ооцита. Ядро 115,9 x 101,5 мкм, находится в центре ооцита, оно округлое с фестончатыми краями, количество ядрышек около 10 шт. Собственная оболочка увеличилась до 1,95 мкм. Высота клеток фолликулярного эпителия от 1,5 до 3,0 мкм (рис. 2).

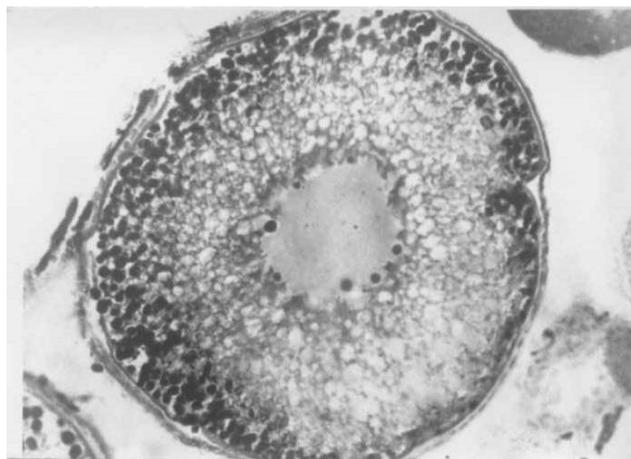


Рисунок - 2. Ооциты фазы Интенсивного накопления желтка (стадия III)

Визуальная картина живых ооцитов. Ооциты правильной округлой или слегка овальной формы, окрашены по всему объему в интенсивный желтый цвет, диаметр ооцитов 370-450 мкм.

Фаза «заполненный желтком ооцит»

Гистологическая картина. В ооцитах величиной 416x361 мкм – 446x429 мкм цитоплазма загружена трофическим материалом. Ядро занимает несколько ацентричное положение, контуры ядра неправильной прямоугольной формы от 111x39 мкм до 137x55 мкм. Ядрышки от 8 до 15, располагаются постенно. Крупные ядрышки от 5,5 до 8,3 мкм округлой формы имеют «пенистое» строение (состоят из многочисленных округлых образований разной степени окраски) мелкие ядрышки 2,8 мкм

однородные, округлые, интенсивно окрашены. *Zona radiata* выражена и различима при увеличении 7 x 90. Желтковые вакуоли серого цвета в центральной части ооцита начинают сливаться. Гранулы желтка возле оболочки ооцита сохраняют свою кристаллическую структуру, и увеличились до 13,7x8,23 мкм. Крупные гранулы, расположенные ближе к центру, изменили структуру и стали округлыми и находятся в вакуолях, они по-прежнему окрашиваются в интенсивный черный цвет. Жировые вакуоли вблизи оболочки ооцита и в слое периферического желтка начинают, увеличиваются, в центральной части цитоплазмы они также увеличиваются, но в гораздо меньшей степени. Завершение трофоплазматического роста наблюдали в ооцитах 470x392 - 523x470 мкм. Ядро лопастевидное неправильной геометрической формы 108x54 – 141x87 мкм. До 10 крупных ядрышек от 8,9x7.8 до 14,4x11,1 мкм располагаются в лопастях возле оболочки, 11-12 мелких ядрышек до 3,6мкмрасположены в центре ядра. Кристаллические гранулы желтка достигают 17,8x13,5 мкм. Слоистость цитоплазмы не изменяется. Собственная оболочка ооцита на разных участках имеет разную толщину от 6,7 до 19,0 мкм. Разница между толщиной участков оболочки одного ооцита может достигать от 3,3 до 11 мкм. (рис. 3).

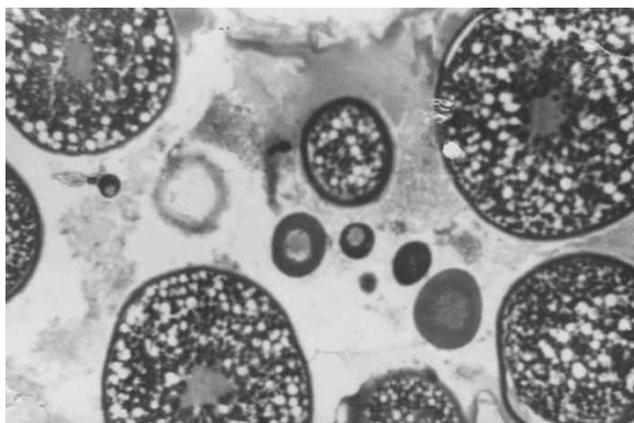


Рисунок - 3. Ооциты фазы «заполненный желтком ооцит» (стадия III- IV)

Визуальная картина живых ооцитов. Ооциты правильной округлой или слегка овальной формы, окрашены по всему объему в интенсивный желтый цвет, диаметр ооцитов 478 до 530 мкм

Завершение вителлогенеза (дефинитивный размер)

Гистологическая картина. Фаза Е. В ооцитах завершившие вителлогенеза происходит укрупнение жировых вакуолей начиная

с расположенных в периферийной зоне цитоплазмы. В ооцитах $539,9 \times 477,8$ Ядро в центре, очертания ядра приобретают лопастивидную форму, ядрышки располагаются постенно в лопастьях. (рис. 4).



Рисунок - 4. Ооциты, завершившие вителлогенез (стадия IV)

Визуальная картина живых ооцитов. Ооциты правильной округлой или слегка овальной формы, окрашены по всему объему в интенсивный желтый цвет, диаметр ооцитов 620- 650 мкм. – завершенная IV стадия зрелости яичника.

Таким образом, исходя из сравнительных данных гистологической картины ооцитов и диаметра живых клеток, отобранных одновременно из яичника самки. Можно заключить что в живых ооцитах диаметром 250 и более микрон начинается отложение желтка, что соответствует фазе Д4 3-й стадии зрелости яичника. В ооцитах диаметром 370 идет интенсивное накопление желтка, в ооциты диаметром 450 мкм гранулы желтка заполнили всю цитоплазму фаза Д5 3-й стадии зрелости яичника. Ооциты диаметром 478 до 530 мкм. Завершается накопление трофических веществ Фаза «заполненный желтком ооцит» стадия 3-4. Ооциты диаметром 620- 650 мкм. (дефинитивный размер) Завершили накопление трофических веществ фаза Е стадия 4

ВЫВОДЫ

Опираясь на полученные данные можно непосредственно во время бонитировки маточного стада определить степень зрелости яичника у самок пиленгаса по величине диаметра ооцитов, выделить и отбирать более зрелых производителей. Метод щуповых проб позволяет безболезненно отбирать повторные пробы ооцитов, не нанося при этом вреда рыбе.

Список использованной литературы

1. Семененко Л.И. Акклиматизация и рыбохозяйственное освоение пиленгаса / Л.И. Семененко // Рыб. хоз-во. Сер. Аквакультура: Информ. пакет ВНИЭРХ. - «Акклиматизация и рыбохозяйственное освоение пиленгаса» - М. - 1991. - вып.2. - 80 с.
2. Моисеева Е.Б. Функциональные особенности гипоталамо-гипофизарной системы черноморских кефалей при длительном содержании в искусственных условиях. Тез. док. Всероссийской конф. «Физиология морских животных». Аппатиты, 1989. с. 134.
3. Куликова Н.И. Разработка физиологических основ искусственного воспроизводства камбаловых и кефалевых рыб Азово-Черноморского бассейна // Эколого-физиологические основы аквакультуры на Черном море. ВНИРО, М.: 1981. - С. 6-20
4. Сакун О.Ф. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб / О.Ф. Сакун, Н.А. Буцкая // М., Знание. – 1963. – С. 36.;
5. Булли А.Ф. Особенности развития гонад пиленгаса маточного стада в условиях садкового содержания на Молочном лимане / А.Ф. Булли. // Рибне господарство, Вып. 63 К., 2004 С. 26-29.
6. Апекин В.С. Изменение ооцитов при созревании и получение зрелой икры с помощью гомопластических гипофезарных инъекций у лобана. / В.С.Апекин, Г.А Вальтер., Л.Г Гнатченко (*Mugil cephalus* L.) // Труды ВНИРО Том СХV М. – 1976. - С13-22.
7. Роскин Г.И. Микроскопическая техника / Г.И. Роскин // М., Советская наука. – 1951. – С. 447.
8. Волкова О.В. Основы гистологии с гистологической техникой / О.В. Волкова, Ю.К Елецкий. - М.: Медицина, 1982. – 304 с.