

Федеральное агентство по рыболовству

**Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ»**

**Филиал по пресноводному рыбному хозяйству
ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»)**

СБОРНИК НАУЧНЫХ ТРУДОВ

Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры

Выпуск 92

2-е издание



Астрахань – 2022

УДК 639.3/6
ББК 47.2
С 23

С23 Сборник научных трудов. Актуальные вопросы пресноводной аквакультуры. – Вып. 92. 2-е издание. – Астрахань: Издатель: Сорокин Роман Васильевич, 2022. – 126 с.

Сборник научных трудов ВНИИПРХ включает статьи, посвященные исследованиям по всем основным направлениям научного обеспечения аквакультуры: технологии выращивания, ихтиопатологии, криобиологии, кормлению рыб и селекционно-племенной работе. Несколько статей посвящены вопросам мониторинга естественных водоемов рыбохозяйственного значения. Собранные вместе, статьи сборника формируют представление о тематике исследований, выполняемых в настоящее время в Филиале по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»). Научные статьи представлены в авторской редакции.

УДК 639.3/6
ББК 47.2
С 23

ISBN 978-5-00201-078-3

© Филиал по пресноводному рыбному
хозяйству ФГБНУ «ВНИРО»
(«ВНИИПРХ»), 2022 г.

АНАЛИЗ ЗАКОНОМЕРНОГО ХОДА СПЕРМАТОГЕНЕЗА У СИБИРСКОГО ОСЕТРА ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ВОСПРОИЗВОДСТВЕ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

В.А. Илясова, Е.А. Мельченков, В.В. Калмыкова,
Н.А. Козовкова, А.П. Воробьёв, А.А. Арчибасов, А.В. Мищенко
*Филиал по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО»
(«ВНИИПРХ»)*

*E-mail: ilyasova_va@vniiprh.ru, melchenkov_ea@vniiprh.ru,
kalmykova_vv@vniiprh.ru*

В статье представлен закономерный ход сперматогенеза у самцов сибирского осетра ленской популяции с учетом особенностей развития половых клеток в условиях индустриального предприятия с годовой суммой тепла 5600 градусо-дней. Созрели самцы в возрасте 1400 суток, на первое созревание потребовалось 21483 градусо-дней со средней температурой 15,3 °С и средней массе тела 5,19 кг. Цитологическая дифференцировка пола происходит в половозрелом состоянии, которое обеспечивают волны сперматогенеза, которые характеризуются интенсивным протеканием от III до VI стадий зрелости семенников. При VI стадии зрелости неиспользованные сперматозоиды перезревают и подвергаются естественному процессу резорбции. При контроле степени половой зрелости у самцов в преднерестовый и нерестовый периоды во времени в условиях индустриального предприятия с годовой суммой тепла 5600 градусо-дней открываются пути управления закономерным ходом сперматогенеза в годичном половом цикле.

Ключевые слова: сибирский осетр, сперматогенез, сумма тепла, закономерности, градусо-дни, стадия зрелости.

ВВЕДЕНИЕ

Для обеспечения путей управления в ходе сперматогенеза в преднерестовый и нерестовый периоды важно знать особенности развития половых клеток с целью разработки методов контроля степени половой зрелости рыб в индустриальных условиях.

При использовании универсальной шестибальной шкалы, описанной для разных видов рыб, период созревания у самцов происходит асинхронно [Персов, 1947, 1975; Буцкая, 1955; Саун, Буцкая, 1963; Трусов, 1964; Алтуфьев и др., 1986; Илясова, 1988, 1989, 1995; Багров и др., 2020]. Критерием периода созревания служат волны сперматогенеза, которые проходят с последовательным протеканием от III до VI стадий зрелости семенников в основу, которых положены цитологические критерии.

Развитие половых клеток, состояние семенников и всего организма в целом взаимосвязаны и находятся во взаимозависимости от абиотических факторов среды – в частности, температуры воды и общей суммы тепла в градусо-днях. Познание закономерностей развития половых клеток, продолжительности функционирования половых желез, ритмов размножения, обеспечат пути управления нерестом при искусственном воспроизводстве для целенаправленного формирования маточных стад.

В статье представлен закономерный ход сперматогенеза у зрелых самцов осетровых рыб на примере сибирского осетра ленской популяции с учетом особенностей развития половых клеток в условиях индустриального предприятия с годовой суммой тепла 5600 градусо-дней.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для анализа развития половых клеток у самцов сибирского осетра ленской популяции использовали гистологические методы [Ромейс, 1953; Микодина и др., 2009].

Рыба выращивалась на индустриальном предприятии отдела «Конаковский» Филиала по пресноводному рыбному хозяйству ФГБНУ «ВНИРО» («ВНИИПРХ»). От 50-ти впервые созревших самцов сибирского осетра генерации 2017 г. в возрасте 1400 суток брались пробы гонад методом биопсии, с последующей фиксацией их в 70%-ном спирте. После обезвоживания готовили срезы толщиной 7-8 мкм на микротоме РОТМИК-2. Освобожденные от парафина срезы окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну с последующим обезвоживанием и заключением в бальзам. При описании стадий зрелости гонад и развития половых клеток использовали универсальную шкалу [Саун, Буцкая, 1963; Трусов, 1964]. Изучение и анализ гистологических срезов осуществляли с использованием микроскопа микромед-2 и цифровой камеры для микроскопа серии TourCam.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В индустриальном предприятии отдела «Конаковский» использовались впервые созревшие 4-х летние самцы сибирского осетра при общей сумме тепла 21483 градусо-дней со средней температурой 15,3 °С и средней массе тела 5,19 кг. Исследования касались изучения и анализа хода сперматогенеза с учетом особенностей развития половых клеток в индустриальных условиях с заданным температурным режимом, с годовой суммой тепла 5600 градусо-дней.

Различают четыре периода сперматогенеза: размножение сперматогоний, рост, деления созревания и спермиогенез [Саун, Буцкая, 1963; Трусов, 1964]. Первыми признаками дифференцировки по полу у сибирского осетра генерации 2017 г. на втором году жизни было анатомическое формирование соматических тканей гонады по форме и строению единичных первичных половых клеток – сперматогоний, которые могут быть критериями ранней половой диагностики пола (рисунок 1).

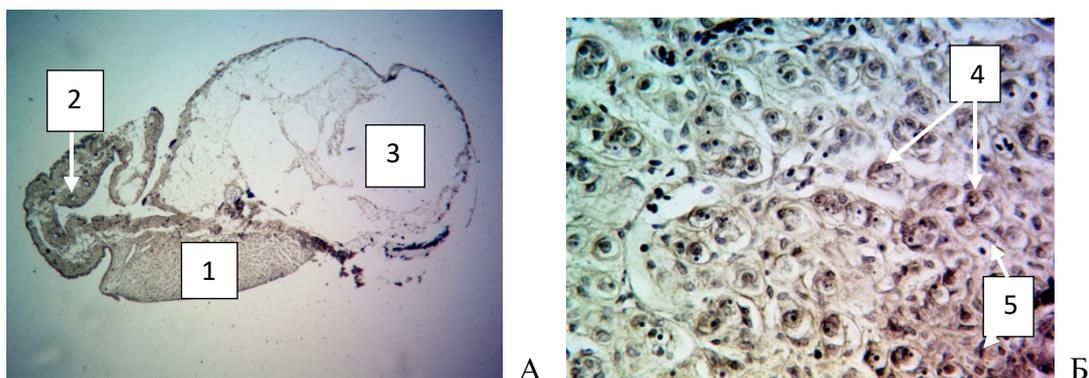


Рисунок 1 - Анатомическая дифференцировка пола у самцов сибирского осетра:

- А. 1) гонада; 2) рудимент яичника; 3) жировое тело. Ув.ок.10× об.4×
 Б. 1) фрагмент гонады в I стадии зрелости: 4) первичные сперматогонии;
 5) соединительнотканнные клетки гонады. Ув.ок.10× об.40×

Цитологическая дифференцировка пола у самцов происходит в половозрелом состоянии в полностью сформированной железе [Сакун, Буцкая, 1963, Персов, 1975].

Началом вторичного полового признака, цитологической дифференцировки пола в семенниках, являются волны сперматогенеза, которые в период созревания происходят асинхронно и характеризуются интенсивным протеканием III, III-IV, IV, IV-V, V, V-VI и VI стадий зрелости.

Определение пола у самцов рыб носит генотипический характер и состоит из нескольких этапов. Первый этап волны сперматогенеза – митотические деления сперматогоний до сперматоцитов I порядка размером от 7,0 до 5,0 мкм. Второй этап – мейоз, это два деления созревания, ведущие к уменьшению вдвое числа хромосом – сперматоциты II порядка размером от 3,6 до 3,2 мкм и сперматиды с гаплоидным набором хромосом размером от 2,7 до 2,3 мкм. Асинхронный характер волны сперматогенеза III стадии зрелости семенника показан на рисунке 2.

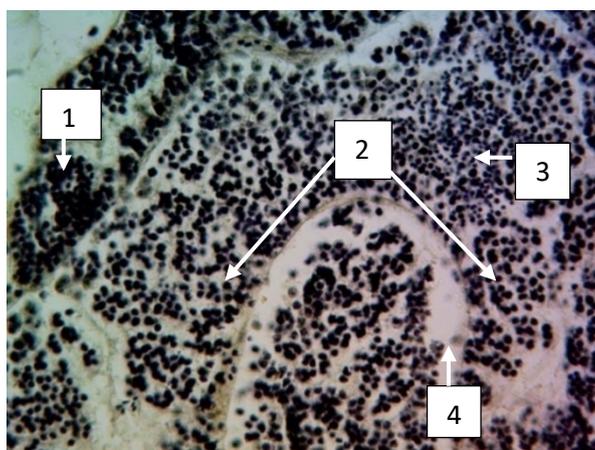


Рисунок 2 - Фрагменты семенника III стадии зрелости у самцов в трехлетнем возрасте, что соответствует цитологической дифференцировке пола, в цистах находятся:

- 1) сперматоциты I порядка; 2) сперматоциты II порядка; 3) сперматиды;
 4) фолликулярный эпителий цист. Ув.ок.10× об.40×

Третий этап – спермиогенез, характеризуется как IV стадии зрелости семенника, в ходе которого сперматиды преобразуются в сперматозоиды. Цисты со зрелыми сперматозоидами показаны на рисунке 3.

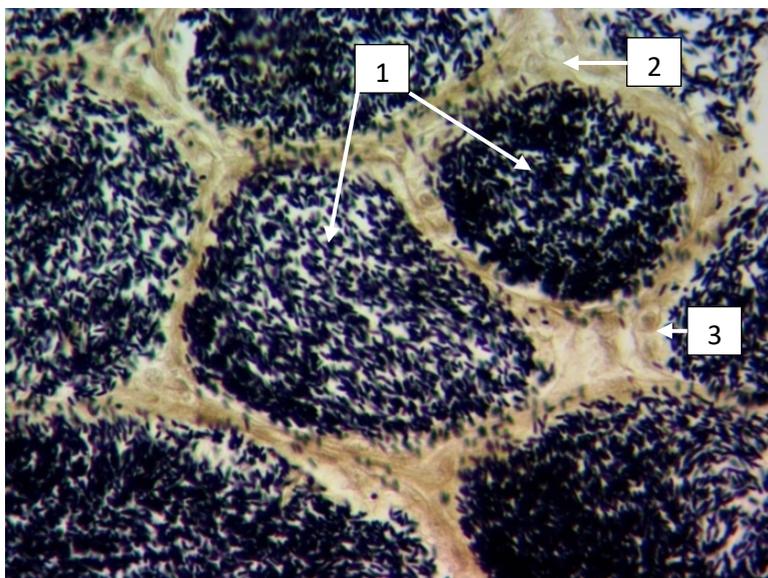


Рисунок 3 - Фрагмент семенника IV стадии зрелости: 1) цисты со зрелыми сперматозоидами; 2) фолликулярный эпителий цист, приобретающий кубическую форму; 3) первичные сперматогонии. Ув.ок.10× об.40×

Сформированные сперматозоиды выходят из цист в семенные каналцы и направляются к общему выводному протоку, расположенному в верхней части семенника. Присутствие цист со зрелыми сперматозоидами и пустыми от спермы характеризует переход семенников в IV-V стадию зрелости (рисунок 4).

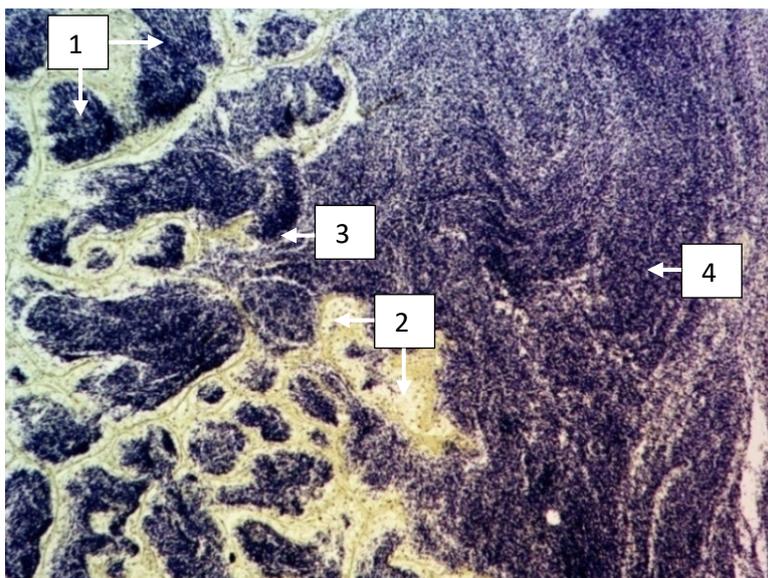


Рисунок 4 - Фрагмент семенника IV-V - стадий зрелости: 1) цисты со зрелыми сперматозоидами; 2) опустевшие цисты; 3) выход сперматозоидов из цист; 4) зрелые сперматозоиды в выводном протоке Ув.ок.10× об.10×

Зрелые сперматозоиды палочковидной формы в выводном протоке характеризуют V стадию зрелости, рисунок 5.

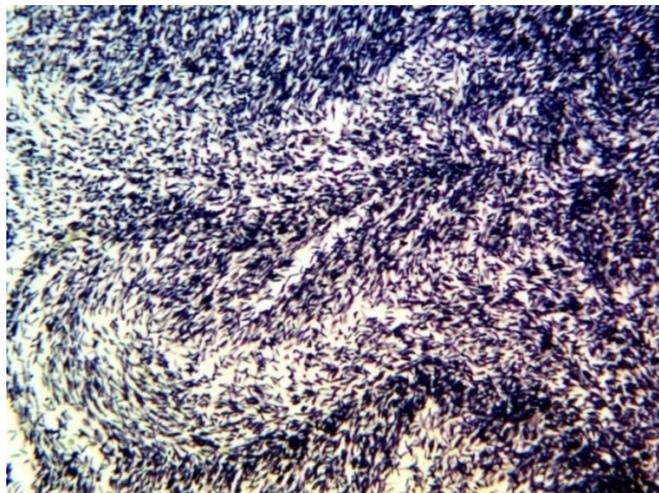


Рисунок 5 – Зрелые сперматозоиды палочковидной формы.
Ув.ок.10× об.40×

Одновременно с выходом сперматозоидов в выводной проток в цистах идет процесс резорбции перезревшей спермы, который осуществляется клетками фолликулярного эпителия [Кулаев, 1927; Персов, 1947; Сакун, 1954; Буцкая, 1959; Серебрякова, 1964].

Показателем процессов резорбции в семенниках, уже IV-VI стадии зрелости, является присутствие в цистах наряду с остаточными сперматозоидами и цист с неиспользованными сперматозоидами, слившиеся в сплошные непросвечивающие массы (рисунок 6).

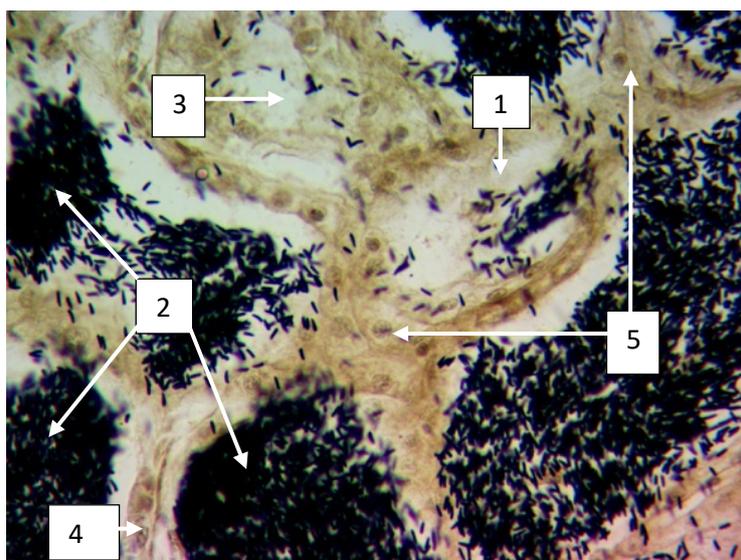


Рисунок 6 - Фрагмент семенника IV-VI стадии зрелости: 1) цисты со остатками резорбирующихся сперматозоидов; 2) массы слившихся резорбирующихся сперматозоидов; 3) опустевшие цисты; 4) фолликулярный эпителий; 5) клетки фолликулярной оболочки.
Ув.ок.10× об.40×

После нереста семенники вступают в VI стадию зрелости (выбой). Опустошение семенных канальцев приводит семенники в дряблое состояние. В цистах остатки сперматозоидов подвергаются резорбции как регулирующим, естественным процессом в протекании половых циклов у рыб. Стенки фолликулярной оболочки, обеспечивающие резорбцию, приобретают кубическую форму, а внутри фолликулярных клеток можно различать фагоцитированные головки сперматозоидов (рисунок 7).

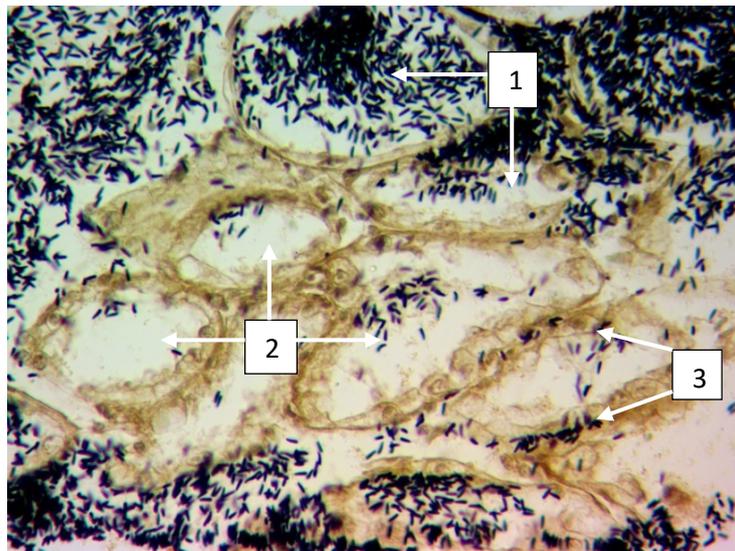


Рисунок 7 - Фрагмент семенника VI стадии зрелости (выбой): 1) цисты с остатками резорбирующихся сперматозоидов; 2) опустевшие цисты; 3) стенки фолликулярной оболочки цист со фагоцитированными головками сперматозоидов. Ув.ок.10× об.40×

В выводном протоке неиспользованные сперматозоиды также подвергаются резорбции, сливаясь в сплошные непросвечивающие массы (рисунок 8).

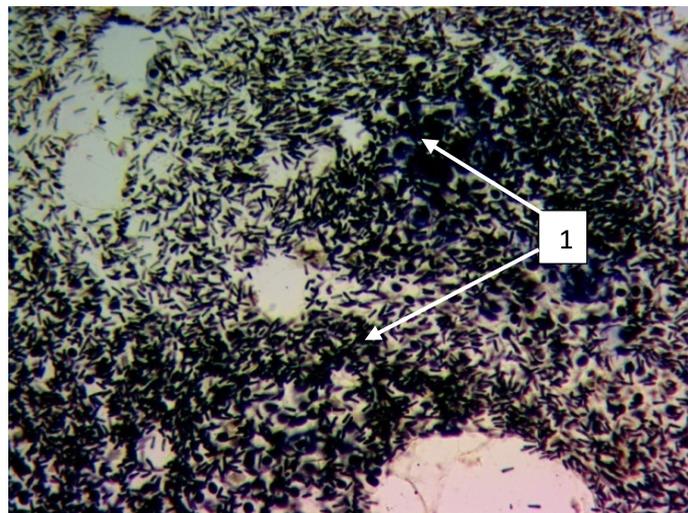


Рисунок 8 - Фрагмент выводного протока VI стадии зрелости: 1) резорбция неиспользованной спермы. Ув.ок.10× об.40×

После выбоя семенники постепенно переходят в VI – начало II-ой стадии зрелости, где происходит резорбция остатков неиспользованных сперматозоидов и формирование цист, содержащих первичные сперматогонии новой генерации половых клеток следующего полового цикла в будущем нерестовом сезоне (рисунок 9).

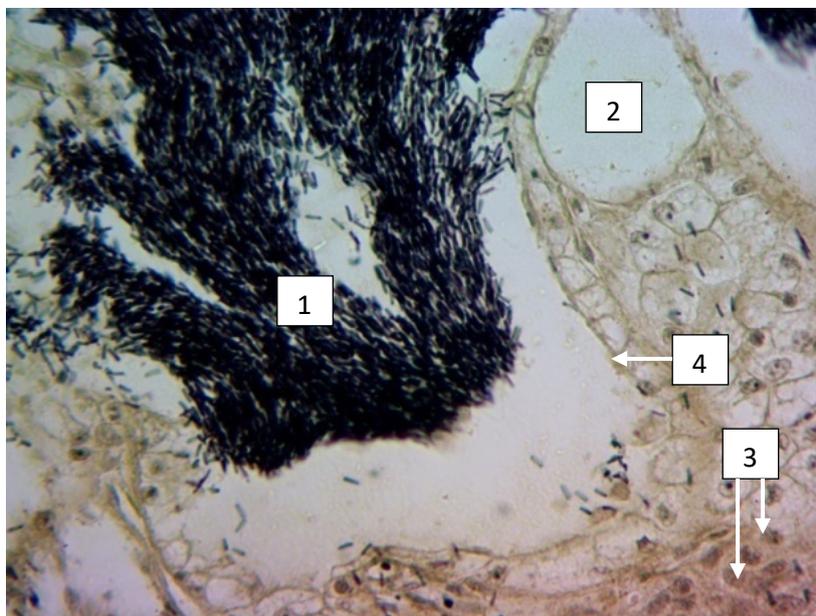


Рисунок 9 - Фрагмент семенника VI - начало II стадии зрелости: 1) цисты с остатками резорбирующихся сперматозоидов; 2) опустевшие цисты; 3) первичные сперматогонии; 4) фолликулярная оболочка. Ув.ок.10× об.40×

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс сперматогенеза в промышленных условиях показан у впервые созревших самцов сибирского осетра ленской популяции в возрасте 1400 суток, для которого потребовалось 21483 градусо-дней. Цитологическая дифференцировка пола у самцов происходит в 4-летнем возрасте в полностью сформированной железе. Созревание половых клеток у самцов осетровых рыб обеспечивают волны сперматогенеза, характеризующиеся интенсивным протеканием от III до VI стадий зрелости семенников. Определение пола у самцов рыб носит генотипический характер и состоит из нескольких этапов. Первый этап волны сперматогенеза – митотические деления сперматогоний до сперматоцитов I порядка, второй этап – мейоз, это 2 деления созревания, ведущие к уменьшению вдвое числа хромосом - сперматоциты II порядка и сперматиды с гаплоидным набором хромосом. Третий этап – спермиогенез, в ходе которого сперматиды преобразуются в сперматозоиды, характеризующие IV стадии зрелости семенника. Сформированные сперматозоиды выходят из цист в семенные каналцы и направляются к общему выводному протоку, расположенному в верхней части семенника для последующего выхода их через генитальное отверстие. Текучесть половых продуктов характеризуется как V стадия зрелости семенников. После вытекания спермы из семенных каналцев

наступает посленерестовое состояние, VI стадия зрелости, при которой неиспользованные сперматозоиды перезревают и подвергаются естественному процессу резорбции, порой сливаясь в сплошную однородную массу.

В гонадах у отнерестившихся самцов остается небольшое количество цист, которые заполнены зрелыми сперматозоидами, указывающих на возможность повторного получения спермы. В связи с этим использование самцов в нерестовом сезоне может быть неоднократным, но кратковременным в зависимости от полового цикла самок. Для осетровых рыб характерен единовременный тип икрометания, поэтому волна сперматогенеза закономерно носит сезонный характер, она всегда взаимосвязана с протеканием оогенеза, обеспечивая целенаправленное формирование искусственно создаваемых маточных стад.

При контроле степени половой зрелости у самцов в преднерестовый и нерестовый периоды во времени в условиях индустриального предприятия с годовой суммой тепла 5600 градусо-дней открываются пути управления закономерным ходом сперматогенеза в годичном половом цикле.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- Алтуфьев Ю.В., Романов А.А., Долгопол А.П. Методическое пособие к изучению развития половых желез у рыб (на примере семейства *Acipenseridae* – осетровых). - Астрахань: Астраханский технический институт рыбной промышленности и хозяйства, 1986. - 57 с.
- Багров А.М., Илясова В.А., Мельченков Е.А., Калмыкова В.В. Новые объекты акклиматизации в пресноводной аквакультуре: гаметогенез, половые циклы, рыбоводное освоение // Рыбное хозяйство. – 2020. - № 3. – С. 82-87.
- Буцкая Н.А. Об особенностях функции семенников у рыб различными типами нереста // Докл. АН СССР. – 1955. - Т. 100, № 4. – С. 809-812.
- Буцкая Н.А. Фолликулярный эпителий семенников и особенности его функции, связанные с типом нереста (на примере окуневых) // Зоологический журнал. - 1959. - Т. 38, вып. 12. - С. 1844-1849.
- Илясова В.А. Гаметогенез и половые циклы веслоноса. Сообщение 2. Сперматогенез // Сб. науч. тр. «Растительные рыбы и новые объекты рыбоводства и акклиматизации». - М.: ВНИИПРХ, 1988. - Вып. 54. - С. 35-39.
- Илясова В.А. Гаметогенез и половые циклы веслоноса (*Polyodontidae*): автореф. дисс. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук. - М., 1989. - 24 с.
- Илясова В.А. Гаметогенез и половые циклы новых объектов рыбоводства и акклиматизации в связи с искусственным воспроизводством: автореф. дисс. на соиск. учен. степ. докт. биол. наук. - М., 1995. - 48 с.
- Кулаев С.И. Наблюдения над изменением семенников речного окуня в течении годового цикла // Русский зоологический журнал. - 1927. - Вып. 3. - С. 15-53.
- Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д.А., Микулин А.Е., Пьянова С.В., Полуэктова О.Г. Гистология для ихтиологов. Опыт и советы. - М.: Изд-во ВНИРО, 2009. - 112 с.

- Персов Г.М. Семенник севрюги в период нерестовой миграции, нереста и поката // Тр. лаб. основ рыбоводства. - 1947. - Т. 1. - С. 177-185.
- Персов Г.М. Дифференцировка пола у рыб. - Л.: Изд-во ЛГУ, 1975. - 147 с.
- Ромейс Б.С. Микроскопическая техника. - М.: Иностранная литература, 1953. - 648 с.
- Сакун О.Ф. Анализ функции половых желез у самцов и самок рыб в связи с характером нереста (на примере сырты *Vimba vimba*) // Докл. АН СССР. - 1954. - Т. 98, № 3. - С. 505-507.
- Сакун О.Ф., Буцкая Н.А. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. - М.: Пищевая промышленность, 1963. - 36 с.
- Серебрякова Е.В. Исследование гонад производителей осетра Волгоградского водохранилища // Осетровые южных морей Советского Союза / Труды ВНИРО. М.: Пищевая промышленность, 1964. - Т. 56 Сборник 3. - С. 117-130.
- Трусов В.З. Некоторые особенности созревания и шкала зрелости половых желез осетра // Труды ВНИРО. – 1964. - Т. 56 Сборник 3. - С. 69-78.

ANALYSIS OF SPERMATOGENESIS TRENDS IN SIBERIAN STURGEONS IN ARTIFICIAL BREEDING DEPENDING ON ABIOTIC FACTORS

V.A. Ilyasova, E.A. Mel'chenkov, V.V. Kalmykova,
 N.A. Kozovkova, A.P. Vorob'ev, A.A. Archibasov, A.V. Mishchenko
Branch for the Freshwater Fisheries of VNIRO («VNIIPRKh»)
E-mail: ilyasova_va@vniiprh.ru, melchenkov_ea@vniiprh.ru

Abstract. The paper focuses on spermatogenesis trends in male Siberian sturgeons of Lena population, considering sex cell development under industrial conditions with annual heating degree days of 5,600. The males achieved maturity at 1,400 days, where the first maturation took 21,483 degree-days with a mean temperature of 15.3 °C and mean body weight of 5.19 kg. Cytological sex determination takes place in mature species, which promotes intense spermatogenesis waves from stage III till stage VI of testicular development. At stage VI of development, unused sperm becomes overripe and is naturally reabsorbed. Monitoring of sexual maturity level in males before and during spawning under industrial conditions with annual heating degree days of 5,600 enables control of spermatogenesis trends in the annual sexual cycle.

Keywords: Siberian sturgeon, spermatogenesis, thermal constants, trends, degree-days, stage of maturity.