

РЫБНОЕ ХОЗЯЙСТВО И АКВАКУЛЬТУРА

УДК 639.3.041.2

ВЗАИМОСВЯЗЬ ДИНАМИКИ ЭЛИМИНАЦИИ И УСТОЙЧИВОСТИ К МЕХАНИЧЕСКИМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ ЭМБРИОНОВ СИГОВЫХ РЫБ COREGONIDAE ПРИ ИНКУБАЦИИ

С. М. Семенченко^{1,2}, Н. В. Смешливая¹, Т. В. Белослущая¹

¹Тюменский филиал ФГБНУ «ВНИРО» («Госрыбцентр»),
625023, Россия, г. Тюмень

²ФГБОУ ВО «Государственный аграрный университет Северного Зауралья»,
625003, Россия, г. Тюмень

*Исследована динамика гибели икры сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна в условиях нормально протекающего технологического процесса инкубации на Тобольском региональном рыбопитомнике. В лабораторных условиях двумя методами изучена устойчивость внутренней оболочки икры сиговых рыб к механическим воздействиям в эмбриогенезе. Объектом исследования являлась развивающаяся икра пеляди (*Coregonus peled*), чира (*C. nasus*), муксуна (*C. tixun*) и сига-пыжьяна (*C. pidschian*). Показано, что, вне зависимости от видовой принадлежности, прочность внутренней оболочки икры сиговых рыб и интенсивность гибели зародышей изменяются в эмбриогенезе в соответствии с общими закономерностями. После завершения оводнения икры, начиная с первых дроблений бластодиска до завершения гаструляции, происходит снижение прочности внутренней оболочки. С органогенеза до середины этапа начала формирования системы кровообращения ее прочность возрастает с последующей стабилизацией на высоком уровне. Перед выклевом зародышей прочность оболочки желточного мешка несколько снижается. Максимальная интенсивность гибели икры сиговых рыб в условиях инкубационного цеха выявлена при завершении этапа дробления бластодиска. Последующее быстрое снижение смертности зародышей сменяется стабилизацией на низком уровне, наступающей в интервале от начала органогенеза до образования хрусталика глаза. Выявлена статистически достоверная обратная взаимосвязь интенсивности элиминации зародышей при инкубации и устойчивости внутренней оболочки икры к механическим воздействиям в эмбриогенезе. Предложено рассматривать минимизацию механического воздействия на икру сиговых рыб как перспективное направление совершенствования биотехники инкубации. Обоснованы сроки транспортировки икры.*

Ключевые слова: икра рыб; эмбриогенез; сиговые рыбы; инкубация икры; смертность зародышей; выживаемость икры; механическое воздействие; оболочка икры; биотехника; искусственное воспроизводство

Введение

Минимизация гибели икры рыб при инкубации — одна из важнейших технологических задач, определяющих эффективность искусственного воспроизводства в целом.

Любая технология инкубации в промышленных масштабах неизбежно связана с различного рода механическими воздействиями на икру: загрузка в инкубационный аппарат, влияние проточности, отборка мертвой икры и т. д. Уровень механических воздействий в эмбриогенезе, в частности, сиговых рыб Coregonidae на нерестилищах и в заводских

© С. М. Семенченко, Н. В. Смешливая, Т. В. Белослущая

условиях существенно различается. В инкубационных аппаратах икра развивается в состоянии постоянной циркуляции, испытывая соответствующие ускорения под воздействием потока воды, тогда как в естественных условиях икра неподвижна. Последствия механических воздействий при инкубации на зародыши сиговых рыб в полной мере не исследованы. Из рыбоводной практики сиговодства известно, что гибель в пределах технологических нормативов и отбор мертвой икры в процессе инкубации протекают неравномерно. Основное количество погибшей икры отбирается из инкубационных аппаратов в первой трети эмбриогенеза. Причем изъятие мертвой икры из аппаратов в технологическом процессе инкубации может происходить на месяц позже момента гибели [1; 2]. Закономерно возникает вопрос обусловленности динамики элиминации икры изменением устойчивости зародышей к механическим воздействиям в эмбриогенезе. Ответ на данный вопрос на примере сиговых рыб, важнейших объектов аквакультуры Сибири, является целью нашего исследования, включающего следующие задачи:

— оценить изменения интенсивности гибели икры в течение инкубационного периода при режиме, соответствующем технологической норме;

— определить динамику устойчивости зародышей к механическим воздействиям в эмбриогенезе.

Ранее была изучена динамика гибели и отбора мертвой икры байкальского омуля [1; 2]. Исследования устойчивости икры сиговых рыб к механическим воздействиям в основном посвящены оценке динамики прочности ее внешней оболочки лишь на первых этапах эмбриогенеза [1; 3–7]. Показано, что прочность внешней яичевой оболочки у шести видов сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна достигает максимума и стабилизируется к моменту первого дробления бластодиска через сутки после попадания в воду при температуре до 1 °С [8]. При последующем развитии целостность внутренней оболочки икринки нарушается при более низком уровне механического воздействия по сравнению

с внешней оболочкой. Следовательно, судить о влиянии механического воздействия на выживаемость икры корректнее по прочностным характеристикам именно внутренней оболочки. Однако сведения об изменении ее прочности в течение всего эмбриогенеза рыб, включая сиговых, в литературе не представлены.

Материал и методика

Динамику элиминации эмбрионов сиговых изучали в производственных условиях в Сузгунском инкубационном цехе Тобольского регионального рыбопитомника в 2005–2006 гг. Материалом являлась икра муксуна *Coregonus muksun*, чира *C. nasus* и озерной формы пеляди *C. peled*. Сбор и оплодотворение икры муксуна осуществляли на базе «Сухоруково» (р. Обь, Ханты-Мансийский район ХМАО); чира — на научно-производственном участке «Волково» (старица Волковская, Тобольский район Тюменской области); пеляди — на оз. Сырковом (Кондинский район ХМАО). Инкубацию осуществляли в стандартных восьмилитровых аппаратах Вейса при нерегулируемом температурном режиме. С середины октября до последней пятнадцатки ноября температура воды последовательно снижалась с 5,5 до 0,5 °С. Затем до последней пятнадцатки апреля находилась на стабильном уровне 0,3–0,5 °С с последующим увеличением к концу мая до 9,0 °С. Данный температурный режим является типичным для сиговых инкубационных цехов Сибири [1; 2] при использовании рек и ручьев в качестве источников водоснабжения.

Экспериментальную партию икры каждого из исследуемых видов на вторые-четвертые сутки после оплодотворения размещали в трех инкубационных аппаратах — в двух «рабочих» и в третьем «контрольном». Из рабочих аппаратов осуществляли ежедневный отбор погибшей икры с последующим ее переносом в контрольный аппарат в соответствии с общепринятой в сиговодстве биотехникой [9]. Поскольку временной интервал с момента гибели икры до ее изъятия из аппарата в производственных условиях достигает одного месяца, анализ гистограмм отбора

мертвой икры [1] не позволяет корректно судить о фактической динамике гибели зародышей в эмбриогенезе. С этой целью использовали показатель «интенсивность элиминации зародышей», под которым понимается доля погибшей за сутки икры от общего «отхода» (суммарной гибели) за инкубацию. Для расчета значений этого показателя с интервалом 5–7 сут производили суммарную оценку текущего количества живой икры в рабочих и контрольном аппаратах каждой экспериментальной партии. Количество погибшей икры в партии за интервал времени t между двумя последовательными оценками определяли по падению суммарного количества живой икры ($B_t = A_i - A_{i+t}$) в рабочих и контрольном аппаратах. Текущее среднее значение интенсивности элиминации на момент $i + t/2$ ($\varphi_{i+t/2}$, %/сут) рассчитывали как отношение убыли количества живой икры в партии между двумя последовательными оценками ($A_i - A_{i+t}$), соотнесенное с общим количеством погибшей икры в данной партии за весь период инкубации ($\sum B$), и продолжительностью интервала между оценками (t , сут):

$$\varphi_{i+t/2} = \frac{(A_i - A_{i+t})100}{t \sum B}$$

Данная формула дает возможность оценить среднее суточное значение интенсивности элиминации икры за интервал t .

Предложенный метод позволяет отразить распределение общего количества погибшей икры за период инкубации во времени в относительных величинах.

Последовательные периодические оценки количества живой икры в каждом аппарате осуществляли модифицированным объемно-весовым способом [10] при нулевом расходе воды с учетом доли мертвой икры в качественных пробах. Текущее количество живой икры в экспериментальной партии рассчитывали как сумму количества живой икры в двух рабочих и контрольном аппарате. Средние качественные пробы отбирали дважды из каждого аппарата специальным щупом, изготовленным из обрезанной у крана бюретки. Щуп, с открытыми торцевыми отверстиями, медленно вертикально опускали в аппа-

рат с икрой до середины конусной части при остановленной водоподаче. Икра заполняла щуп по мере его погружения. Затем закрывали верхнее отверстие пальцем, изымали «столб» икры и выливали содержимое щупа в мерный стакан. Равномерный отбор икры по всей толще аппарата позволяет нивелировать вертикальную неоднородность распределения живой и мертвой икры, возникающую из-за известного эффекта ее «самоотборки». Непосредственно перед последующим анализом пробы икру перемешивали, набирали химической пипеткой объемом 2 или 5 мл и в ней же просматривали под биноклем не менее 200 шт., учитывая количество мертвых икринок. Мертвыми считали икринки с разным уровнем деструкции их содержимого, начиная с момента разрушения внутренней оболочки (оболочки желтка). Затем рассчитывали долю мертвых икринок в пробе от общего количества проанализированных икринок.

Необходимо подчеркнуть, что предложенная оригинальная методика позволяет изучать динамику смертности икры при инкубации в аппарате Вейса непосредственно в производственных условиях без каких-либо изменений технологического процесса.

Наблюдения за эмбриогенезом проводили на живом материале. Пробы икры просматривали под биноклярным микроскопом МБС-10 методом бокового микроскопирования [11; 12]. Определение стадий эмбрионального развития проводили в соответствии с работой Л. В. Кугаевской, Л. Л. Сергиенко [13]. Этапы эмбрионального развития приведены по Ж. А. Черняеву [1]. При изучении динамики смертности зародышей сиговых рыб наблюдениями охвачен весь эмбриональный период.

Кроме возраста зародышей, выраженного в сутках, оценивали степень развития эмбрионов («биологический возраст») с помощью безразмерной характеристики τ_0 [14], соответствующей продолжительности одного митотического цикла в период синхронных дроблений бластодиска при определенной температуре. Частное от абсолютной продолжительности какого-либо периода развития τ_n и величины τ_0 при той же температуре

соответствует относительной характеристике продолжительности этого периода или любого интервала эмбриогенеза [15]. Величину τ_0 для каждого из исследованных видов рассчитывали по полученным ранее уравнениям [16; 17]. Биологический возраст зародышей, выраженный в сумме τ_n/τ_0 , позволяет корректно сравнивать результаты опытов, различающихся по температурным условиям.

Всего обработана и проанализирована 261 проба на интенсивность элиминации зародышей и 83 пробы на определение стадий эмбрионального развития.

При исследовании динамики устойчивости зародышей сиговых рыб к механическим воздействиям в эмбриогенезе в качестве факторов, оказывающих дозируемое механическое воздействие на икру, использовали силу соударения падающей икринки об горизонтальную стеклянную поверхность (метод «падения») и центробежную силу вращения (метод «вращения»).

Материалом для исследования прочности внутренней оболочки икры методом «падения» служила икра сиговых четырех видов рыб Обь-Иртышского бассейна: чира, речной формы пеляди, муксуна и сига-пыжьяна (*C. pidschian*). Работы проводили в лаборатории отдела воспроизводства рыбных запасов ФГУП «Госрыбцентр» с ноября 2011 по апрель 2012 г. Оплодотворенную икру чира, речной формы пеляди и пыжьяна доставили в лабораторию с рыбоводной базы «Рахтынья», икру муксуна — с садкового хозяйства «Волковское». В лабораторных условиях икру инкубировали по оригинальной методике [18] в воде из оз. Волково, которая относится к гидрокарбонатному классу кальциевой группы со слабой минерализацией (до 0,2 г/л) при pH = 7,3–7,5. Температура инкубации икры варьировала от 0,5 до 1,5 °С.

О прочности внутренней оболочки косвенно судили по высоте, падение с которой вызывало ее разрыв у 50 % опытных икринок. В каждом опыте с закрепленной на определенной высоте полки поштучно сбрасывали на дно стеклянного аквариума 25 икринок. После этого икру аккуратно собирали, просматривали методом бокового прижизнен-

ного микроскопирования [11] и определяли долю икринок с разрушенной внутренней оболочкой. Затем последовательно изменяли высоту с дискретностью 10 см и повторяли опыт до достижения 50 %-го уровня погибших икринок. Всего проведено 62 опыта в течение всего эмбриогенеза: 19 опытов с икрой чира, 14 — с муксуном, 16 — речной пелядью, 13 — пыжьяном.

В опытах по влиянию скорости вращения на целостность внутренней оболочки икринок в эмбриогенезе (метод «вращения») использовали центрифугу Biosan MSC-6000 с диаметром ротора 48 мм. Материалом для исследования служила икра чира, муксуна и озерной пеляди, собранная от производителей, выращенных на садковом хозяйстве «Волковское», и инкубируемая в лаборатории Госрыбцентра в ноябре — апреле 2016–2017 гг. Средняя масса икринок пеляди, определенная прижизненно на весах ВЛР-20, составила $4,59 \pm 0,11$ мг, муксуна и чира — $8,25 \pm 0,23$ и $13,12 \pm 0,21$ мг соответственно. Опыты проводили сериями с икрой одинакового возраста отдельно по каждому из видов. Временные интервалы между сериями опытов нарастали по мере инкубации икры от 1–2 сут в начале до 4–10 сут в конце эмбриогенеза. В каждом опыте одной серии помещали по 20 икринок в пробирку центрифуги объемом 2 мл без воды и вращали с определенной скоростью в течение 10 с без учета времени разгона и остановки ротора. После завершения вращения икринки вынимали, помещали в стакан с водой и через 5 мин визуально оценивали долю икринок с разрушенной внутренней оболочкой. Нарушение целостности внутренней оболочки (оболочки желтка), сопровождающееся вытеканием желтка в перивителлиновое пространство, трактовалось как гибель икры. Как показали наблюдения, деструкция зародыша при нарастающем механическом воздействии на икру начинает проявляться именно с разрыва внутренней оболочки. В предварительных опытах доля погибших икринок через 5 мин и через сутки после завершения опытов существенно не отличалась, поэтому дальнейшие наблюдения за подопытной икрой не проводили. В опытах

каждой серии скорость вращения последовательно наращивали от 1200 до 5300 об/мин с шагом 100 об/мин, что соответствует расчетному диапазону значений центробежного ускорения от 77 до 1507 g. По итогам серии опытов регистрировали скорость вращения, при которой выживало 90, 50 и 10 % икринок по отношению к контролю. В качестве контроля служила икра, с которой совершали те же манипуляции, что и с опытной икрой, но без вращения в центрифуге. Икру, подвергнутую опытам, в дальнейших исследованиях не использовали. Всего было проведено 29 серий опытов с чиром, 31 — с муксуном, 29 — пелядью. Первую серию опытов проводили через сутки после осеменения.

Результаты и обсуждение

В общих чертах у исследованных видов сиговых рыб динамика смертности зародышей в течение инкубационного периода была схожей. С момента оплодотворения икры интенсивность элиминации зародышей быстро нарастает и достигает максимальных

значений при биологическом возрасте от 7 до 17 τ_n/τ_0 , что соответствует этапу дробления бластодиска (II), периоду с конца стадии крупноклеточной морулы до стадии средноклеточной и мелкоклеточной морулы. Максимальные значения исследуемого показателя составили у чира 7,12 %/сут в возрасте 14 τ_n/τ_0 ; у пеляди — 6,01 %/сут в возрасте 7 τ_n/τ_0 ; у муксуна — 10,44 %/сут в возрасте 17 τ_n/τ_0 (рис. 1). Необходимо отметить, что у икры муксуна и чира выражен один пик максимума интенсивности гибели, а у пеляди — два. Второй пик, сравнимый по значению с первым (5,2 %/сут), у пеляди отмечен при биологическом возрасте 19 τ_n/τ_0 (мелкоклеточная морула), что нельзя считать типичным для эмбриогенеза сиговых рыб [2]. Есть основания полагать, что первый пик интенсивности гибели эмбрионов пеляди связан с транспортировкой на четвертые сутки после оплодотворения, тогда как икру чира и муксуна перевозили на вторые сутки. С учетом последнего обстоятельства, можно считать, что максимальная смертность икры

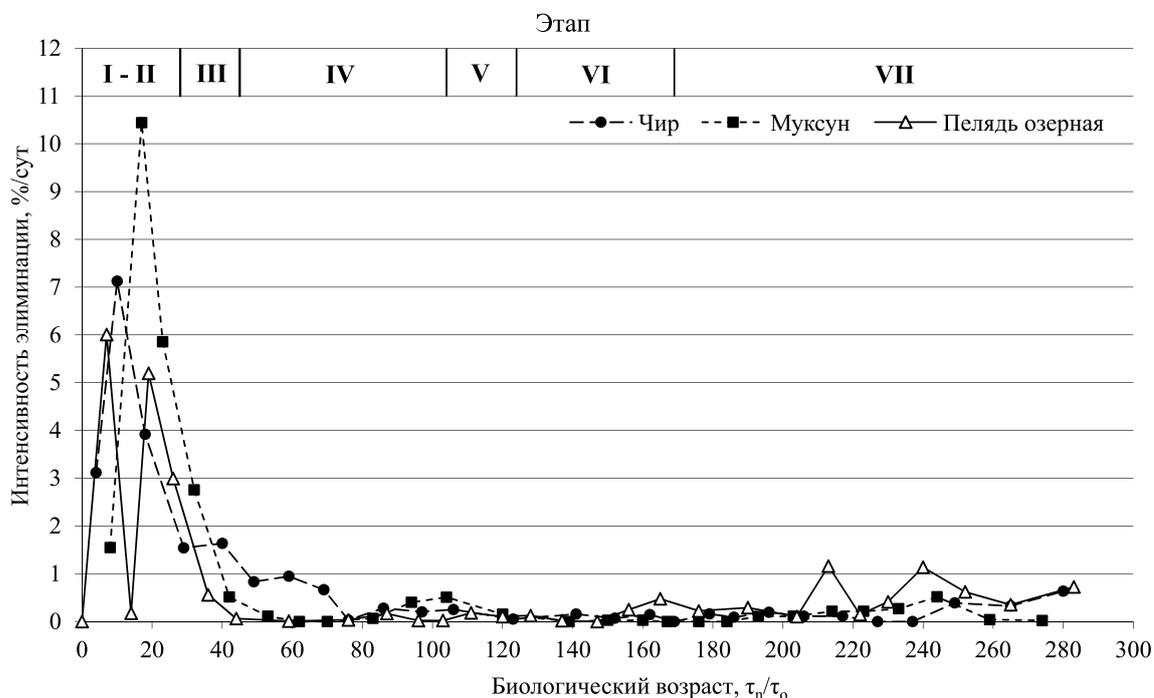


Рисунок 1 — Зависимость динамики элиминации зародышей сиговых рыб от степени их развития.

Сузгунский инкубационный цех Тобольского рыбопитомника, 2005–2006 гг.:

I — образование бластодиска; II — дробление бластодиска; III — гастрюляция; IV — органогенез;
V — отчленение туловищно-хвостового отдела от желтка и образование хвоста;

VI — появление системы кровообращения; VII — появление кардинального кровообращения
(этапы эмбрионального развития приведены по Ж. А. Черняеву [1])

исследованных сиговых рыб приходится на конец этапа дробления бластодиска. При температуре 0,4–0,8 °С в начале инкубации икры исследуемых видов в Сузгунском цехе пиковые значения смертности наблюдались на 10–12 сут развития зародышей без учета первого пика гибели икры пеляди. Примечательно, что при инкубации икры байкальского омуля на Баргузинском и Селенгинском рыбоводных заводах в схожих температурных условиях максимальная интенсивность гибели зародышей отмечена в аналогичном возрасте (10–13 сут развития) к началу гастрюляции [2].

Последующее развитие сопровождается быстрым снижением интенсивности гибели зародышей. Однако у чира это снижение протекает медленнее. Так, если у пеляди уровень интенсивности элиминации 0,5 %/сут преодолевался при биологическом возрасте $37 \tau_n/\tau_0$ (завершение гастрюляции, обрастание бластодермой 1/3 желтка, 21-е сут развития), у муксуна — в $43 \tau_n/\tau_0$ (начало органогенеза, обрастание 3/4 желтка, 23-и сут), то у чира — при $74 \tau_n/\tau_0$ (начало образования хрусталика глаза, 40-е сут). Период условно низкой интенсивности гибели зародышей трех исследуемых видов рыб со значениями менее 0,5 %/сут пришелся на биологический возраст 76–204 τ_n/τ_0 , соответствующий интервалу между стадиями эмбриогенеза от образования хрусталика глаза до начала движения грудных плавников при продолжительности развития в условиях Сузгунского инкубационного цеха 40–120 сут. Минимальные значения относительной смертности (0,00–0,16 %/сут) у всех трех видов наблюдались в середине зародышевого развития в возрасте 120–150 τ_n/τ_0 со стадии начала пигментации глаз до момента появления кровеносных сосудов на желточном мешке. Некоторое повышение интенсивности гибели эмбрионов наблюдалось перед выклевом в интервале от 213 τ_n/τ_0 у пеляди до 249 τ_n/τ_0 у чира (0,39–1,14 %/сут) в конце этапа появления системы кровообращения. У озерной пеляди увеличение смертности зародышей в конце эмбриогенеза было выражено в большей степени, чем у чира и муксуна. Есть основания полагать,

что этот эффект связан с относительно высокой температурой в конце инкубации икры озерной пеляди — до 10 °С. Такое повышение температуры объясняется смещением выклева ее зародышей на вторую половину мая по причине более позднего сбора икры, чем у сиговых рыб, нерестящихся в реках. В частности, выклев предличинок чира в условиях Сузгунского инкубационного цеха обычно приходится на середину апреля при температуре 0,4–0,5 °С; а муксуна — на первые числа мая при температуре 1–2 °С.

В целом по результатам наблюдений за интенсивностью гибели зародышей сиговых рыб можно констатировать, что при соблюдении технологических требований результаты инкубации в заводских условиях определяются начальным периодом эмбриогенеза с начала дробления бластодиска до конца гастрюляции — начала эмбриогенеза. На этот период, длящийся в условиях Сузгунского инкубационного цеха около трех недель при общей продолжительности инкубации 160–190 сут, пришлось по 84 % от всей погибшей икры пеляди и муксуна. У чира этот показатель равен 68 %. Аналогичный характер распределения относительного количества погибшей икры в процессе инкубации показан ранее для байкальского омуля [2].

Необходимо отметить, что массовая отборка погибшей икры из аппаратов (свыше 1 % от общего отхода в сутки) была начата рыбоводами у чира на 31-е сут, у пеляди — на 35-е, у муксуна — на 38-е сут. Учитывая, что наиболее интенсивная гибель икры происходила в течение второй недели инкубации, можно сделать вывод, что мертвая икра при существующей технологии ее отбора находилась в аппаратах около трех-четырех недель. Следовательно, по гистограммам отбора мертвой икры не корректно судить о фактической динамике смертности икры при инкубации в производственных условиях [1].

Как было показано ранее, устойчивость внутренней оболочки икринок сиговых рыб к механическому воздействию, определенная методом «падения», увеличивается в первые 3–4 ч после активации при контакте с водой и стабилизируется после завершения оводне-

ния икринок в течение последующих суток до начала дробления бластодиска [17].

Динамика прочности внутренней оболочки икры исследованных видов сиговых рыб в эмбриогенезе, опосредованно оцененная методом «падения», имеет общий характер (рис. 2). На первых трех этапах развития прочность внутренней оболочки снижалась после завершения оводнения икры и достигала минимума в интервале биологического возраста 32–38 τ_n/τ_o , что соответствует этапу гаструляции до момента обрастания $\frac{1}{2}$ желтка бластодермой. Минимальная высота падения икринок, приводящая к разрыву 50 % оболочек, существенно не зависела от вида рыбы и составляла 0,2–0,3 м. Последующее развитие приблизительно до середины этапа формирования системы кровообращения сопровождалось увеличением прочности внутренней оболочки икры. Очевидно, процесс

обрастания желтка бластодермой при гаструляции приводит к утолщению и упрочнению внутренней оболочки икринки. Необходимо отметить, что нарастание устойчивости внутренней оболочки икринок к механическому воздействию, вызванному падением, происходило неравномерно. У каждого из исследованных видов в интервале эмбриогенеза, соответствующему тренду упрочнения внутренней оболочки, можно выделить период относительно кратковременной стабилизации исследуемого показателя. Горизонтальные участки кривых зависимости 50 %-й гибели икринок от высоты их падения отмечены в интервале биологического возраста зародышей от 95 до 146 τ_n/τ_o (см. рис. 2), что соответствует стадиям от образования хвостовой почки до закладки жаберных плакод. Середина этого интервала пришлась на стадию начала пигментации глаз — 107–123 τ_n/τ_o .

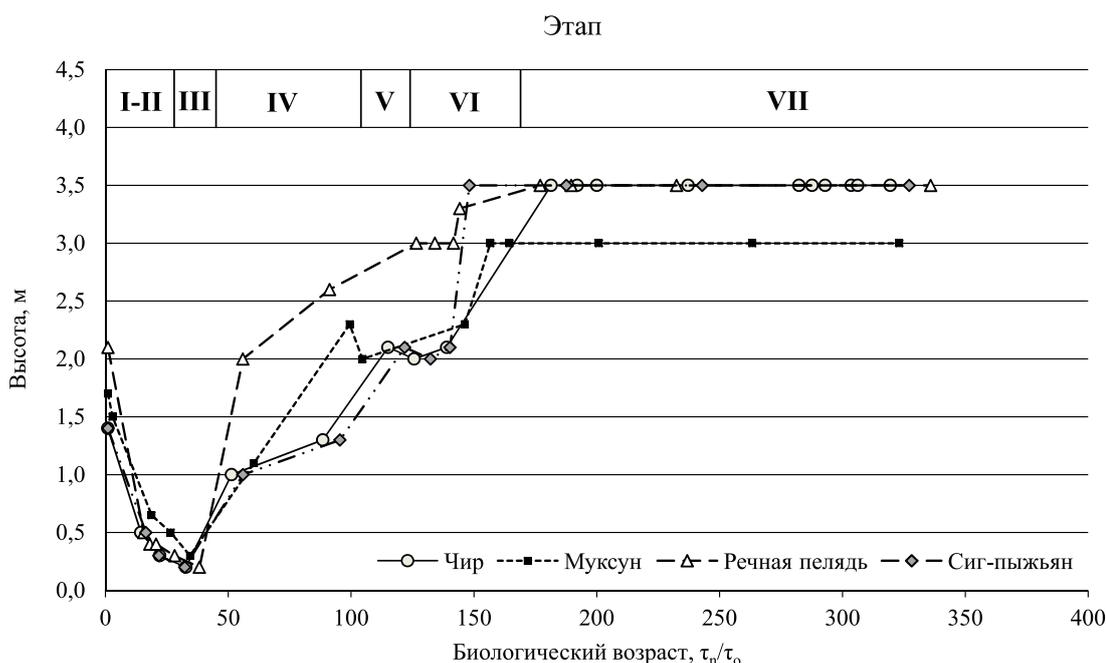


Рисунок 2 — Динамика в эмбриогенезе высоты падения икринок сиговых рыб, приводящей к разрыву 50 % внутренних оболочек (обозначение этапов см. рис. 1)

Различия в значениях биологического возраста зародышей исследованных сиговых рыб, при которых происходит стабилизация прочности внутренней оболочки на максимальном уровне, не превышали 22 %. Так, у сига-пыжьяна высота, вызывающая разрыв оболочки у 50 % опытных икринок, достига-

ла своего максимального значения 3,5 м при биологическом возрасте 140 τ_n/τ_o , у речной пеляди — 171 τ_n/τ_o , у чира — 181 τ_n/τ_o (см. рис. 2). По сравнению с перечисленными видами зародыши муксуна во второй половине эмбриогенеза оказались чувствительнее к механическому воздействию, вызванному

падением икринок. Половина икринок у этого вида погибала при максимальной высоте сбрасывания 3,0 м при биологическом возрасте $157 \tau_n/\tau_o$. Приведенные значения стабилизации прочности внутренней оболочки икринок, оцененной методом «падения», приходятся на этап формирования системы кровообращения (VI) от стадии появления кровеносных сосудов на желточном мешке до стадии появления гуанина в глазах. Ориентировочно эти стадии соответствуют середине эмбриогенеза сиговых рыб при постоянной температуре. При дальнейшем развитии икры, вплоть до выклева, изменений прочности внутренней оболочки не выявлено. Кривые соответствующей зависимости выходят на устойчивое плато.

Результаты оценки динамики прочности внутренних оболочек икринок сиговых рыб в эмбриогенезе методами «вращения» и «падения», описанные выше, в целом схожи (рис. 3). Зона минимальных значений скорости вращения, приводившей к разрушению внутренней оболочки икринок чира, муксуна и озерной пеляди, учитывая все три выбранные уровни оценки выживания зародышей в опытах (10, 50 и 90 %), была отмечена в начале эмбриогенеза при биологическом возрасте 8–35 τ_n/τ_o на стадиях от среднеклеточной морулы до обрастания $\frac{1}{2}$ желтка (этап гастрюляции). У исследованных видов в период экстремально низкой прочности внутренней оболочки икринок ее разрыв происходил при одинаковых или близких минимальных скоростях вращения ротора. Так, у чира и пеляди 90 %-й уровень выживаемости икринок в опытах отмечали при минимальной скорости вращения ротора 1400 об/мин, 50 %-й — 1600 об/мин, 10 %-й — 1900 об/мин (при центробежном ускорении — 105, 137, 194 g соответственно). В опытах с икрой муксуна аналогичные показатели были на 100 об/мин меньше. Увеличение прочности внутренней оболочки икринок отмечено со второй половины этапа гастрюляции. Интересно отметить, что, так же как и при оценке прочности внутренней оболочки методом «падения», кривые изучаемого процесса имеют ступенчатый характер (см. рис. 3). «Промежуточная» стабилиза-

ция устойчивости икринок к повреждающему воздействию вращения по трем уровням выживаемости отмечена у чира в интервале биологического возраста 56–106 τ_n/τ_o , у муксуна — 63–113 τ_n/τ_o , у пеляди — 59–112 τ_n/τ_o . Данные интервалы соответствуют стадиям от начала образования первых пар сомитов (этап органогенеза) до начала пигментации глаз зародыша (начало этапа появления системы кровообращения). «Основной» период стабилизации устойчивости зародышей к негативному воздействию центробежного ускорения отмечен при максимальных значениях скорости вращения за период эмбриогенеза. В частности, уровень выживаемости 90 % икринок чира и муксуна наблюдали при скорости вращения 3900 об/мин (816 g), озерной пеляди — 4000 об/мин (858 g); 50 %-й стабильный уровень выживаемости отмечен у чира при 4100 об/мин (902 g), у муксуна — при 4400 об/мин (1039 g) и у пеляди — при 4500 об/мин (1087 g); 10 %-ю выживаемость икры в этот период наблюдали у чира, муксуна и пеляди при 4800, 5000 и 5200 об/мин соответственно (1236, 1342 и 1451 g) (см. рис. 3). Выявленную последовательность чир — муксун — пелядь по степени устойчивости зародышей к повреждающему воздействию вращения можно объяснить обратной зависимостью исследуемого фактора от массы икринок, которая уменьшается в том же порядке (см. Материал и методика). Кривые зависимости трех выбранных уровней выживаемости икры от скорости центрифугирования вышли на плато синхронно у каждого из видов при биологическом возрасте чира 136 τ_n/τ_o , муксуна — 153 τ_n/τ_o и пеляди 185 τ_n/τ_o . Приведенные значения биологического возраста приходятся на этап появления системы кровообращения и соответствуют стадиям начала сокращения сердечной трубки, появления кровеносных сосудов на желточном мешке и отделения головы зародыша от желтка соответственно. На этапе подвижного состояния жаберно-челюстного аппарата, завершающего эмбриогенез, в преддверии вылупления зародышей, выявлено снижение устойчивости оболочки желтка к воздействию центробежного ускорения. У зародышей чира

это снижение зарегистрировано с биологического возраста 271 τ_n/τ_0 , тогда как у пеляди и муксуна — в возрасте 320 τ_n/τ_0 . В преддверии вылупления зародышей значения скорости вращения икры в центрифуге, приводящие

к повреждению желточного мешка, во всех заданных уровнях выживаемости снизились в основном на 2–4 % (100–200 об/мин) (см. рис. 3). Как исключение можно рассматривать падение скорости вращения перед вылу-

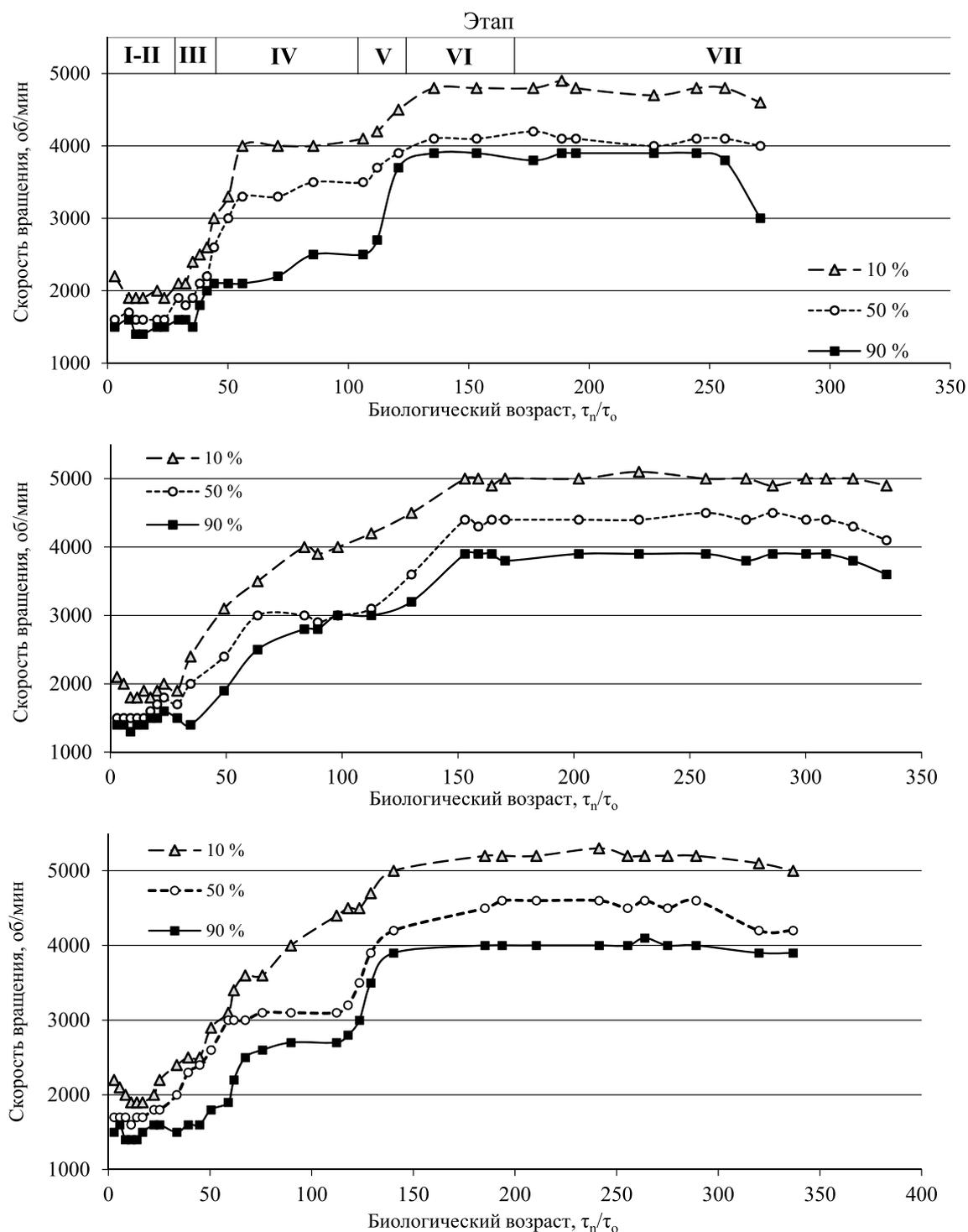


Рисунок 3 — Динамика в эмбриогенезе скорости вращения ротора центрифуги, соответствующей выживаемости 90, 50 и 10 % икринок сиговых рыб в опыте:

А — чир; Б — муксун; В — пелядь озерная.

Этапы эмбрионального развития приведены по Ж. А. Черняеву [1]

плением на 21 % у чира при 10 %-м уровне выживаемости зародышей, а также у пеляди — на 9 % при 50 %-м уровне. Данное снижение устойчивости икры к механическому воздействию в конце инкубации, вероятно, связано с началом функционирования механизма вылупления зародышей. Необходимо отметить, что обсуждаемый эффект не был зарегистрирован методом «падения».

Поскольку данное исследование носит прежде всего прикладной характер, результаты опытов по оценке устойчивости икры сиговых в эмбриогенезе, выполненных двумя методами, обобщены в упрощенном виде

(табл. 1). После завершения оводнения икры динамика прочности внутренней оболочки представлена как последовательная смена пяти фаз: начального снижения — экстремально низких значений — возрастания — стабилизации на высоком уровне — конечного снижения. Исходя из «предосторожного подхода», границы фаз 2 и 5, условно «критичных» с позиций повышенного риска гибели икры, определены максимально широко по крайним значениям результатов опытов по совокупности исследованных видов и выбранных уровней выживаемости зародышей.

Таблица 1 — Фазы динамики прочности внутренней оболочки икры сиговых рыб

Фаза		Эмбриогенез			
		Начало фазы			
№	Название	Этап	Стадия	Возраст	
				биологический, τ_n/τ_0	абсолютный, сут*
I	Начального снижения	Оводнение икринки	Образование бластодиска	1	1
II	Экстремально низких значений	Дробление бластодиска	Мелкоклеточная морула	16	8
III	Возрастания	Органогенез	Обрастание 3/4 желтка	45	21
IV	Стабилизации на высоком уровне	Формирование системы кровообращения	Появление гуанина в глазах	180	97
V	Конечного снижения	Подвижное состояние жаберно-челюстного аппарата	Начало движения жаберно-челюстного аппарата	260	139

* Абсолютный возраст рассчитан для температуры инкубации 0,5 °C как среднее значение для трех исследованных видов с относительным отклонением ± 3 %.

При анализе результатов опытов обращает на себя внимание в общих чертах «зеркальное» соответствие графиков интенсивности элиминации зародышей при инкубации и кривых, отражающих динамику прочности внутренней оболочки икры в эмбриогенезе. Корреляционный анализ данных подтвердил наличие статистически достоверной обратной зависимости интенсивности элиминации от устойчивости к механическим воздействиям ($r = -0,588 \dots -0,787$ при $P > 0,99$), оцениваемым как методом «падения», так и методом «вращения», при одинаковом биологическом возрасте (табл. 2). Границы выделенных фаз

динамики прочности в значительной степени совпадают с аналогичными фазами интенсивности гибели икры при инкубации.

Обнаруженная взаимосвязь позволяет предположить, что результаты инкубации икры сиговых рыб при действующей биотехнике в существенной степени определяются повреждающим воздействием потока воды в аппарате Вейса в период повышенной чувствительности зародышей к механическим воздействиям. В отличие от условий развития на нерестилищах, технология инкубации икры сиговых рыб основана на ее постоянной циркуляции в аппарате. Учитывая выявлен-

Таблица 2 — Результаты анализа взаимосвязи интенсивности элиминации зародышей сиговых рыб в эмбриогенезе с их устойчивостью к механическим воздействиям

Вид, форма	Характер механического воздействия на икру	Коэффициент линейной корреляции (r)	Количество пар значений (n)	Фактическое значение критерия Стьюдента (t_{ϕ})	Критическое значение коэффициента Стьюдента (t_{st}) при $P = 0,99$
Чир	Падение	-0,637	14	4,00	3,05
	Вращение	-0,787	28	10,93	2,78
Муксун	Падение	-0,652	13	4,09	3,11
	Вращение	-0,646	25	5,54	2,81
Пелядь озерная	Падение				
	Вращение	-0,588	29	4,85	2,77

ную зависимость чувствительности зародышей к механическим воздействиям от массы икринок, наиболее заметное воздействие поток должен оказывать на относительно крупную икру таких видов, как чир и нельма. Такое предположение подтверждается полученными ранее данными по экспериментальной инкубации икры чира в неподвижном состоянии, в соответствии с которыми удалось достичь выживаемости икры за весь период эмбриогенеза до 98,5 %. В контрольной партии икры, инкубируемой в аппарате Вейса с минимальным расходом, обеспечивающим ее циркуляцию, выжило всего 63 % икры [7]. Безусловно, высказанное предположение требует дополнительного экспериментального подтверждения. Однако снижение механического воздействия на икру сиговых рыб следует рассматривать как перспективное направление совершенствования биотехники ее инкубации с целью повышения выживаемости. В частности, для минимизации негативного воздействия потока на зародыши чира предложен способ инкубации его икры с временной остановкой циркуляции в аппарате Вейса в период максимальной чувствительности к механическим воздействиям [7; 19].

Выполненное исследование позволяет дать обоснованные практические рекомендации. В частности, учитывая быстрое повышение чувствительности икры к механическим воздействиям в начале эмбриогенеза, оптимальными сроками ее перевозки и загрузки в инкубационные аппараты следует считать интервал от момента завершения оводнения и упрочнения внешней оболочки до начала

дробления, что соответствует вторым суткам развития при температуре 0,2–3,0 °С. Распространенная практика хранения икры на базах сбора до 10–20 сут биологически не оправдана, так как в этом случае транспортировка смещается на фазу экстремально низких значений прочности внутренней оболочки икры. Перевозку икры сиговых рыб для ее доинкубации в другом цехе наиболее целесообразно производить начиная со стадии появления гуанина в глазах зародыша, а не на стадии начала пигментации глаз, как это рекомендуется в методических наставлениях [9]. При температуре инкубации менее 1 °С период, максимально благоприятный для перевозок икры, наступает ориентировочно через 30 сут после появления пигмента в глазах зародыша и продолжается в течение последующего месяца. В период эмбриогенеза между стадиями средноклеточной морулы и замыкания желточной пробки перемещения икры в технологическом процессе неприемлемы, а расход воды в инкубационных аппаратах должен быть минимизирован. При температурах инкубации, соответствующих технологической норме (0,3–2,0 °С), этот период соответствует возрасту икры 4–30 сут.

Выводы

1. Вне зависимости от видовой принадлежности прочность внутренней оболочки икры сиговых рыб изменяется в эмбриогенезе в соответствии с общими закономерностями. После завершения оводнения икры, начиная с первых дроблений бластодиска до завершения гастрюляции, происходит сниже-

ние прочности внутренней оболочки. С органогенеза до середины этапа начала формирования системы кровообращения ее прочность возрастает с последующей стабилизацией на высоком уровне. Перед выклевом зародышей прочность оболочки желточного мешка несколько снижается.

2. Максимальная интенсивность гибели икры сиговых рыб в условиях инкубационного цеха выявлена при завершении этапа дробления бластодиска. Последующее быстрое снижение смертности зародышей сменяется стабилизацией на низком уровне, наступающей в интервале от начала органогенеза до образования хрусталика глаза.

3. Выявлена статистически достоверная обратная взаимосвязь интенсивности элиминации зародышей при инкубации и устойчивости внутренней оболочки икры к механическим воздействиям в эмбриогенезе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Черняев Ж. А. Воспроизводство байкальского омуля. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1982. 128 с.
2. Семенченко С. М., Неронов Ю. В. Динамика элиминации эмбрионов омуля при инкубации на рыбоводных заводах Байкала // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1992. Вып. 320. С. 154–156.
3. Зотин А. И. Физиология водного обмена у зародышей рыб и круглоротых. М.: Изд-во АН СССР, 1961. 320 с.
4. Кугаевская Л. В. Некоторые особенности биотехники разведения чира // Тез. докл. Второго Всесоюз. совещ. по биологии и биотехнике разведения сиговых рыб. Петрозаводск, 1981. С. 192–196.
5. Отработать биотехнику разведения чира и муксуна в водоемах Сибири // Заключительный отчет о НИР СибрыбНИИпроекта. Руководитель темы Л. В. Кугаевская. Тюмень, 1981. 162 с.
6. Кугаевская Л. В. Биологические аспекты совершенствования технологии промышленного сбора и инкубации икры сиговых рыб // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1985. Вып. 233. С. 85–97.
7. Смешливая Н. В., Семенченко С. М. Эколого-физиологические особенности биотехники сбора икры чира *Coregonus nasus* // Воспроизводство естественных популяций ценных видов рыб: материалы докл. 2-й Междунар. конф. 16–18 апреля 2013 г. СПб., 2013. С. 375–378.
8. Смешливая Н. В., Семенченко С. М. Динамика прочности оболочек овулировавших яиц сиговых рыб (*Coregonidae*) Обь-Иртышского бассейна после активации водой // Вопр. рыболовства. 2015. Т. 16, № 3. С. 359–366.
9. Методические указания по сбору и хранению икры сиговых рыб на временных рыбоводных пунктах, ее транспортировке и инкубации / Ж. А. Черняев, В. И. Коваленко, Е. И. Кружалина и др. М.: ИЭМЭЖ, 1987. 82 с.
10. Семенченко С. М. Модификация объемно-весового метода учета икры сиговых рыб в инкубационном цехе // Вестн. рыбохозяйственной науки. 2015. Т. 2, № 4 (8). С. 56–62.
11. Черняев Ж. А. Эмбриональное развитие байкальского омуля. М.: Наука, 1969. 91 с.
12. Черняев Ж. А. Метод бокового микрофотографирования с применением вертикальной камеры для прижизненного развития икры рыб // Исследования размножения и развития рыб. М.: Наука, 1981. С. 216–222.
13. Кугаевская Л. В., Сергиенко Л. Л. Определение вида развивающейся икры рыб рода *Coregonus* (Linnaeus) бассейна Нижней Оби // Сб. науч. тр. ГосНИОРХ. 1988. Вып. 284. С. 52–63.
14. Детлаф Т. А., Детлаф А. А. О безразмерных характеристиках продолжительности развития в эмбриологии // Докл. АН СССР. 1960. Т. 134, № 1. С. 199–202.
15. Игнатьева Г. М. Ранний эмбриогенез рыб и амфибий (Сравнительный анализ временных закономерностей развития). М.: Наука, 1979. 175 с.
16. Смешливая Н. В., Семенченко С. М. Зависимость скорости дробления бластодиска зародышей сига-пыжьяна, тугуна и муксуна от температуры // Биология, биотехника разведения и состояние запасов сиговых рыб. Седьмое Междунар. науч.-произв. совещ. (Тюмень, 16–18 февр. 2010 г.). Тюмень: Госрыбцентр, 2010. С. 274–281.
17. Смешливая Н. В. Эколого-физиологические аспекты репродуктивной функции сиговых рыб Обь-Иртышского бассейна: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Тюмень, 2015. 23 с.
18. Семенченко С. М., Смешливая Н. В. Инкубация икры сиговых рыб *Coregonidae* в

лабораторных условиях // Вестн. рыбохозяйственной науки. 2017. Т. 4, № 4 (16). С. 4–13.

19. Семенченко С. М., Тутулов И. А. Способ и устройство для инкубации икры рыб. Патент на изобретение РФ № 2495564. 2013. 5 с.

RELATIONSHIP BETWEEN DYNAMICS OF ELIMINATION AND RESISTANCE TO MECHANICAL INFLUENCES OF COREGONIDAE FISH EMBRYOS DURING INCUBATION

S.M. Semenchenko^{1,2}, N.V. Smeshlivaya¹, T.V. Beloslutskaya¹

¹Tyumen Branch of Federal State Budgetary Scientific Institution “Russian Research Institute of Fisheries and Oceanography” (“Gosrybtsentr”), 625023, Russia, Tyumen

²Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “State Agrarian University of the Northern Trans-Urals”, 625003, Russia, Tyumen

*The research covers dynamics of Ob-Irtysh Basin's whitefish embryos deaths under normal incubation processes at the Tobolsk Regional Fish Rearing Station. The resistance of whitefish egg's inner liner to mechanical impacts within embryogenesis under laboratory conditions has been studied using two methods. The objects of the study were the developing eggs of northern whitefish (*Coregonus peled*), round-nosed whitefish (*C. nasus*), muksun (*C. muksun*) and Siberian whitefish (*C. pidschian*). It has been demonstrated that irrespective of the species, resistance of whitefish egg's inner liner and the embryos death rates within embryogenesis change according to general patterns. After the eggs hydration is completed and until the completion of gastrulation, the stability of inner liner decreases. Starting from organogenesis and to the middle of the early stage of circulatory system formation, its resistance increases followed by stabilization at a high level. The stability of yolk sac shell reduces slightly before embryos hatching. The maximum eggs death rate at the incubation stage has been observed at the final stage of blastodisc breaking up. Subsequent rapid decrease of embryos deaths is replaced with a low-level stabilization which begins in between the organogenesis commencement and the eye lens formation. A statistically proven inverse relationship has been established between intensive embryos deaths and inner liner resistance to mechanic impact within embryogenesis. It has been suggested to treat minimization of mechanic impact on whitefish eggs as a promising line of incubation biotechnology improvement. The time frames for transporting eggs have been justified.*

Keywords: egg; embryogenesis; whitefish; incubation of eggs; elimination of embryos; survival of eggs, mechanical impact; shell of egg; biotechnology; artificial reproduction

REFERENCES

1. Chernyaev Z.A. [Reproduction of Baikal omul]. Moscow: Light and food industry, 1982. 128 p. [In Russ].
2. Semenchenko S.M., Neronov Y.V. [Dynamics of elimination of omul embryos during incubation at hatcheries of Baikal]. Collection of Scientific Works of State Research Institute of Lake and River Fisheries. 1992. Issue 320. P. 154–156. (In Russ.)
3. Zotin A.I. [Physiology of water metabolism in embryos of fish and cyclostomes]. Moscow: Publishing House of the Academy of Sciences of the USSR. 1961. 320 p. (In Russ.)
4. Kugaevskaya L.V. [Some features of breeding biotechnology of broad whitefish]. Abstracts of the Second All-Union Conference on Biology and Biotechnology of Whitefish Breeding. Petrozavodsk, 1981. P. 192–196. (In Russ.)
5. [To develop biotechnology for broad whitefish and muksun breeding in the reservoirs of Siberia]. Final report on the research work of the SibRybNIIProekt. Leader of the report L.V. Kugaevskaya. Tyumen, 1981. 162 p. (In Russ.)
6. Kugaevskaya L.V. [Biological aspects of improving the technology of industrial collection and incubation of whitefish eggs]. Collection of Scientific Works of State Research Institute

- of Lake and River Fisheries. 1985. Issue 233. P. 85–97. (In Russ.)
7. Smeshlivaya N.V., Semenchenko S.M. [Ecological and physiological features of the collecting biotechnology of *Coregonus nasus*]. Reproduction of Natural Populations of Commercially Valuable Fish: Paper presented at the 2nd International Conference. 16th to 18th April 2013. Saint Petersburg, 2013. P. 375–378. (In Russ.)
 8. Smeshlivaya N.V., Semenchenko S.M. [Dynamics of strength of mature eggs envelopes of Ob-Irtysh basin whitefish (*Coregonidae*) after exposure to water]. Problems of fisheries. 2015. Vol. 16, № 3. P. 359–366. (In Russ.)
 9. Chernyaev Z.A., Kovalenko V.I., Kruzhalina E.I., Ovchinnikova T.I., Dmitriev I.L. [Methodical guidelines on collection and storage of whitefish spawn at temporary hatcheries and its transportation and incubation]. Moscow: Institute of Evolutionary Morphology and Animal Ecology, 1987. 82 p. (In Russ.)
 10. Semenchenko S.M. [Modification of the volume-weight method of whitefish eggs estimation at an incubation workshop]. Bulletin of Fisheries Science. 2015. Vol. 2, № 4 (8). P. 56–62. (In Russ.)
 11. Chernyaev Z.A. [Embryotic development of the Baikal omul]. Moscow: Nauka, 1969. 91 p. (In Russ.)
 12. Chernyaev Z.A. [The method of lateral microscopy using a vertical chamber for the intravital development of fish eggs]. Studies of reproduction and development of fish. Moscow: Nauka, 1981. P. 216–222. (In Russ.)
 13. Kugaveskaya L.V., Sergienko L.L. [Determination of species of developing eggs of *Coregonus* (Linnaeus) fish in the basin of the lower course of the Ob basin]. Collection of Scientific Works of State Research Institute of Lake and River Fisheries. 1988. Issue 284. P. 52–63.
 14. Detlaf T.A., Detlaf A.A. About nonmetric characteristic of duration of development in Embryology]. Reports of the Academy of Sciences of the USSR. 1960. Vol. 134, № 1. P. 199–202. (In Russ.)
 15. Ignatiev G.M. [Early embryotic development of fish and amphibians (Comparative analysis of time-domain relationship in development)]. Moscow: Nauka, 1979. 175 p. (In Russ.)
 16. Smeshlivaya N.V., Semenchenko S.M. Relationship between embryonic disc fission of *C. pidschian*, *C. tugun* and *C. muksun* embryos and temperature]. Biology and Bioengineering of Breeding and State of Whitefish Reserves: Proceedings of the 7th International Scientific and Production Meeting (Tyumen: State Scientific-and-Production Center of Fishery, 2010. P. 274–281. (In Russ.)
 17. Smeshlivaya N.V. [Ecological and physiological aspect of the reproductive function of whitefish in the Ob-Irtysh basin]. Abstract of a thesis ... Ph. D. of Biological Sciences. Tyumen, 2015. 23 p. (In Russ.)
 18. Semenchenko S.M., Smeshlivaya N.V. [Incubation of *Coregonidae* eggs under laboratory conditions]. Bulletin of Fisheries Science. 2017. Vol. 4, № 4 (16). P. 4–13. (In Russ.)
 19. Semenchenko S.M., Tutulov I.A. [Method and device for incubation of fish eggs]. Patent for Invention. № 2495564 issued by the Russian Federation. 8 p. (In Russ.)

Об авторах

Семенченко Сергей Михайлович,
кандидат биологических наук,
руководитель группы
инновационных технологий
Тюменский филиал ФГБНУ «ВНИРО»
(«Госрыбцентр»)
625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 33
(3452) 41-69-13; semsm07@yandex.ru
доцент кафедры водных биоресурсов
и аквакультуры
ФГБОУ ВО «Государственный аграрный
университет Северного Зуралья»
625003, г. Тюмень, ул. Республики, 7

About authors

Semenchenko Sergey Mikhailovich,
Ph. D. of Biological Sciences,
Head of Innovation Technology Team
Tyumen branch of Federal State Budgetary
Scientific Institution “Russian Research Institute
of Fisheries and Oceanography”
33, Odesskaya st., Tyumen 625023
+7 3452 41-69-13; semsm07@yandex.ru
Associate Prof. at the Department of Aquatic
Bioresources and Aquaculture,
Federal State Budgetary Educational Institution
of Higher Education “State Agrarian University
of Northern Zauralye”
7, Respubliki st., Tyumen 625003

Смешливая Наталья Владимировна,
кандидат биологических наук,
ведущий научный сотрудник
Тюменский филиал ФГБНУ «ВНИРО»
(«Госрыбцентр»)
625023, г. Тюмень, ул. Одесская, 33
(3452) 41-69-13; nsmeshlivaya@mail.ru

Smeshlivaya Natalya Vladimirovna,
Ph. D. of Biological Sciences
Leading Research Fellow
Tyumen branch of Federal State Budgetary
Scientific Institution “Russian Research Institute
of Fisheries and Oceanography”
33, Odesskaya st., Tyumen 625023
+7 3452 41-69-13; nsmeshlivaya@mail.ru

Белослущая Татьяна Владимировна,
ведущий специалист
Региональный рыбопитомник «Тобольский»
Тюменского филиала ФГБНУ «ВНИРО»
626157, Тюменская область, г. Тобольск,
7-й микрорайон, д. 34, офис 55
(3456) 24-77-51; aerez@mail.ru

Beloslutskaya Tatyana Vladimirovna,
Leading Specialist
Regional hatchery “Tobolsky”
Tyumen branch of Federal State Budgetary
Scientific Institution “Russian Research Institute
of Fisheries and Oceanography”
Office 55, 34, 7th microdistrict str., Tobolsk 626157
+7 3456 24-77-51; aerez@mail.ru