

Б 66

АКАДЕМИЯ НАУК СССР  
ИНСТИТУТ ЭВОЛЮЦИОННОЙ МОРФОЛОГИИ И  
ЭКОЛОГИИ ЖИВОТНЫХ им. А. Н. СЕВЕРЦОВА

1970.08.28

На правах рукописи

ПРОБ 2010

БИТЮКОВА Юлия Евгеньевна

УДК 597.587.9:591.4:639.3

МОРФО-ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ РАННЕГО ОНТОГЕНЕЗА  
ЧЕРНОМОРСКОЙ КАМБАЛЫ КАЛКАНА *REVETA MABOTICA (PALLAS)*  
В УСЛОВИЯХ ИСКУССТВЕННОГО ВЫРАЩИВАНИЯ

03.00.10 - икhtiология

Автореферат  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

Москва - 1986

Работа выполнена в отделе ихтиологии Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского АН УССР, г. Севастополь

Научный руководитель – доктор биологических наук Л.С. Овен

Научный консультант – кандидат биологических наук

А.В. Чепурнов

Официальные оппоненты: доктор биологических наук

Е.А. Бабурина

доктор биологических наук, профессор

Т.В. Дехник

Ведущее учреждение: Институт океанологии им. П.П. Ширшова  
АН СССР

Защита диссертации состоится "23" сентября 1986 г.  
в "10" часов на заседании специализированного совета  
К 002.48.01 по защите диссертаций на соискание учёной  
степени доктора биологических наук при Институте эволюцион-  
ной морфологии и экологии животных им. А.Н. Северцова АН СССР,  
г. Севастополь

деления

86 г.

Каприлова

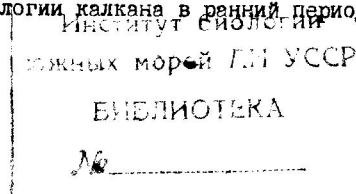
- I -

### Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. Снижение запасов промысловых рыб, загрязнение акваторий, а также введение новых международно-правовых норм рыболовства выдвигают, в качестве одной из мер по охране и увеличению продуктивности шельфовой зоны океанов и морей, искусственное культивирование морских видов.

В Чёрном море к перспективным объектам морского рыбоводства относится эндемичный вид – камбала калкан *Psetta maotica* (Pallas) (Аронович и др., 1977; Моисеев, 1979; Патин, 1983; Моисеев и др., 1985). Максимальные выловы калкана, составляющие 27–29 тыс.ц, зарегистрированы в начале 50-х годов (Попова, 1954, 1964). В последующие годы его запасы неуклонно снижались несмотря на принимаемые меры по регулированию промысла. В настоящее время введен долгосрочный 10-летний запрет на вылов этого ценного вида. Поэтому организация искусственного воспроизводства – актуальная мера, направленная на восстановление и увеличение численности промыслового стада калкана и возможности получения товарной продукции.

Опыты по искусственному культивированию калкана начаты в 70-е годы ВНИРО и АзЧерНИРО. Получены данные по эмбриогенезу, развитию и экологии питания личинок до 25-суточного возраста. Однако многие аспекты раннего онтогенеза калкана исследованы недостаточно: не описано морфологическое строение личинок и отдельных систем органов, не исследован метаморфоз, отсутствуют сведения о толерантности развивающейся икры и личинок к факторам среды. Поэтому в ИнБЮМ АН УССР в процессе разработки биотехнологии культивирования калкана, наряду с созданием технических средств для инкубации икры и выращивания личинок (Чепурнов и др., 1979, 1981), проведены исследования морфогенеза, биологии и экологии калкана в ранний период развития от вылупления до



завершения метаморфоза.

Цель и задачи исследования. Цель работы - изучить эколого-морфологические особенности раннего онтогенеза калкана при искусственном выращивании в замкнутых установках для разработки технологии получения жизнестойкой молодежи.

Задачи исследования:

1. Выделить и описать этапы развития калкана от вылупления до завершения метаморфоза.
2. Определить количественные показатели роста и выживаемость личинок при выращивании.
3. Изучить формирование пищеварительной системы и анатомо-гистологические изменения органов пищеварения при голодании.
4. Изучить развитие органов зрения и их морфо-функциональные особенности.
5. Исследовать поведение личинок калкана на последовательных этапах раннего онтогенеза, установить критерии нормального поведения личинок и мальков.
6. Изучить влияние температуры на развитие эмбрионов и личинок.

Научная новизна. Впервые исследована периодизация развития калкана в раннем онтогенезе, выявлена морфо-эколого-физиологическая специфика отдельных этапов, описан процесс метаморфоза, выделены этапы, характеризующиеся повышенной элиминацией при выращивании. Описано строение личиночных органов и их развитие до дефинитивного состояния в процессе метаморфоза. Выявлены особенности в строении, функциях и формировании органов восприятия, захвата и переваривания пищи, получены данные по влиянию голодания на развитие и поведение личинок. Разработаны критерии для оценки их состояния, исследована толерантность эмбрионов и личинок к ряду абиотических и биотических факторов.

Результаты проведенных исследований вносят вклад в решение актуальных вопросов раннего онтогенеза морских рыб, в определении причин их высокой смертности на личиночных стадиях, в разработку теории этапности развития рыб.

Практическое значение. Результаты эколого-морфологического и этологического анализа развития калкана от стадии вылупления до завершения метаморфоза легли в основу изобретения "Способ искусственного культивирования черноморской камбалы калкан" (Чепурнов, Битюкова, Ткаченко, Беляев. Авт. свид. СССР № 847961, 1981) и его последующих усовершенствований. Основные элементы разработанной методики выращивания калкана могут быть использованы при разведении морских рыб с пелагической икрой.

Апробации работы. Материалы диссертации докладывались на Всесоюзном совещании по морской аквакультуре (Керчь, 1976), I съезде советских океанологов (Москва, 1977), II Всесоюзной конференции по биологии шельфа (Севастополь, 1978), Всесоюзном совещании по температурным адаптациям водных животных (Москва, ИЭМЖ АН СССР, 1980), VI Всесоюзном совещании эмбриологов (Москва, 1981), II Всесоюзном съезде океанологов (Ялта, 1982), III Всесоюзной конференции по проблемам раннего онтогенеза рыб (Калининград, 1983).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 12 работ.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 140 стр. машинописного текста, содержит 14 таблиц, иллюстрирована 36 оригинальными рисунками и 32 микрофотографиями. Диссертация состоит из введения, 8 глав, заключения и выводов. Список литературы включает 268 наименований, в том числе 129 иностранных.

Материал и методы исследований

Материал собран в весенне-летние сезоны 1976-1985г.г. Половые продукты получали от выловленных в море производителей, икру

оплодотворяли сухим способом. Инкубацию проводили в 50-100-литровых снабжённых эрлифтами термостатированных инкубаторах, в которые икру помещали из расчёта 100-200 шт. л<sup>-1</sup>. Для характеристики термоллабильности эмбрионов и определения оптимального температурного режима икру инкубировали в диапазоне температур 3-23°C. Ежегодно на протяжении нерестового периода выполняли 8-10 экспериментов по инкубации икры.

Личинок выращивали в установках замкнутого типа, объёмом от 200 до 1000 л, при плотности посадки 10-15 экз. л<sup>-1</sup>. Они включали ряд устройств и приспособлений для кондиционирования и регуляции параметров среды: узлы УФ-стерилизации, аэрации, биологический, механический и химический фильтры, системы регулирования температуры и скорости протока (Чепурнов и др., 1978).

В качестве корма для личинок использовали коловратку *Brachionus plicatilis*, выращенную на водорослях *Platyonas viridis*, *Dunaliella tertiolecta* и артемию *Artemia salina*. Мальков кормили рыбным фаршем. Изучение особенностей питания и роли пищевого фактора в выживании личинок проводили в 5-10-литровых аквариумах. Корм предлагали на 4, 5, 6 сутки при 17-18°C. Контрольных личинок содержали без корма. По количеству коловраток в кишечнике определяли начало питания, его интенсивность и ритмику. Проанализировано 1580 личинок.

Изменение поведенческих реакций личинок оценивали по их двигательной активности, характеру и направлению движений, распределению по горизонтам. При стратификации личинок наблюдения проводили за выборками (n = 20-25 экз.) из поверхностных, средних и придонных слоёв. После вылупления на протяжении 10 суток ежедневно определяли размерно-весовые характеристики личинок, а также отмечали изменения в кровеносной, дыхательной и пищеварительной системах.

Пробы икры и личинок фиксировали в растворе Буэна и 4% формалине. До 10-суточного возраста личинок фиксировали ежедневно, а более старших - через 3-5 дней. Для морфологического анализа личинок измеряли по стандартной схеме (Ланге, Дмитриева, 1981). Исследовано 5 меристических и 20 пластических признаков у 1395 личинок и мальков. Структуру плавников, окостенения скелета выявляли при тотальном окрашивании личинок метиленовой синью и красным ализарином. Материал, фиксированный в растворе Буэна, использовали для приготовления 573 серий гистологических срезов, толщиной 5-6 мкм, в дорсовентральной, сагитальной и фронтальной плоскостях, окраску которых проводили азокармином по Гейденгайну (Роскин, Левинсон, 1957).

Анатомическое и гистологическое строение пищеварительной системы исследовали на живом и фиксированном материале. Личинок вскрывали, извлекали кишечники и зарисовывали общее строение, а также рельеф слизистой. Для оценки влияния голодания проводили сравнительный анализ структуры пищеварительной системы голодающих и питающихся рыб (n = 1100 экз.).

При изучении зрения использовали методы, описанные Дж. Блекстером (Blaxter, 1967, 1969, 1975) и Е.А. Бабуриной (1972). Исследовали изменение морфологии глаз в онтогенезе. Положение хрусталика характеризовали смещением его центра относительно разных участков сетчатки. На гистологических препаратах подсчитывали количество рецепторов в секторах глазного дна. Перемещение правого глаза при метаморфозе характеризовали расстоянием от центра хрусталика до вершины головы. Фотокинетическую реакцию определяли по методу Е.А. Бабуриной (1972). Микрофотографии изготовлены с помощью микроскопа AMPLIVAL. Полученные результаты обработаны статистически (Урбах, 1964).

Этапы развития в личиночный и мальковый периоды до завершения метаморфоза

На изучаемом отрезке онтогенеза у калкана выделено 9 этапов, 8 из них относятся к личиночному и I - к мальковому периодам развития. Основанием для их выделения послужили представления В.В. Васнецова (1948, 1953) о сущности этапов и система деления онтогенеза на периоды, принятая С.Г. Крыжановским с соавторами (1953). Нумерация этапов дана с момента вылупления. Описание заканчивается завершением метаморфоза, поскольку в условиях аквакультуры молодь, прошедшая метаморфоз, считается жизнестойкой (Шельбурн, 1971; Jones et al., 1974).

Личиночный период.

I этап. От вылупления зародыша до появления форменных элементов крови. Длина (1) предличинок при вылуплении 2,6-3,0 мм. Тело симметричное, голова прижата к желтку, рот закрыт, жаберные щели отсутствуют. Питание за счёт запасов желточного мешка. В течение этапа развиваются челюсти, открывается рот. Формируются жаберные дуги с одним обособившимся элементом *ceratobranchiale*. Оводняется головной синус и плавниковая складка. Обитание приурочено к поверхностным слоям. Длительность этапа 70-76 часов при температуре 17°C.

II этап. Развитие эритроцитарного кровообращения. На стенке плавательного пузыря развивается красное тело и газовая железа, начинается заполнение плавательного пузыря газом из кровеносной системы. Дифференцируются жаберные сосуды. Предличинки переходят к плаванию в нормально ориентированном положении. Питание эндогенное. Длительность этапа 14-18 часов при температуре 17-18°C.

III этап. Смешанное питание личинок. Длина тела 3,5-4,5 мм. При наличии желточного мешка личинки потребляют коловраток в средних горизонтах устаноек. Рот конечный, пищеварительная

трубка разделена на отделы. На двух жаберных дугах появляются лепестки. Значительно уменьшается головной синус и дорсальная плавниковая складка. Длительность этапа 3,5-4,0 суток, температура 17°C.

IV этап. Начало экзогенного питания. У личинок сохраняются недифференцированная плавниковая складка и прямая хорда. На всех жаберных дугах формируются лепестки. Удлиняются челюсти, положение рта становится косым и верхним. Объём плавательного пузыря увеличивается до 0,01-0,015 мм<sup>3</sup>. Появляются одиночные шипы на жаберной крышке, в ушной области, надглазничном гребне и нижней челюсти. Личинки переходят на питание более крупными объектами - науплиями артемий, размером 400-500 мкм. Длительность этапа около 4-5 суток, температура 17-18°C.

V этап. Формирование непарных плавников, глаза расположены симметрично. Непарная плавниковая складка разделена на лопасти, в которых развиваются птеригиофоры и лепидотрихии. Первым дифференцируется хвостовой плавник, в котором конец хорды изгибается дорсально. Число лучей в нём достигает 15-16, в анальном 34-40, дорсальном 50-56. Заложено 7 бранхиостегальных лучей, на второй и третьей дугах начинается ветвление лепестков. В желудке дифференцируются желудочные железы. Длительность этапа 3-4 суток, температура 17°C.

VI этап. Начало миграции правого глаза, завершение формирования непарных и парных плавников. В непарных плавниках дифференцируются все элементы, в лепидотрихиях хвостового плавника появляется членистость. Формируются зачатки брюшных плавников, в которых в течение этапа дифференцируется 6 лучей. При длине тела 6,5-7,0 мм правый глаз смещается в верхне-переднем направлении относительно левого. К концу этапа верхний край глаза достигает вершины головы. Высота тела увеличивается от

45% 1 в начале этапа (длина личинок 1 = 6,8-7,6 мм) до 50-60% 1 в конце (1 = 9,5-10,5 мм). Закладываются лучи в грудных плавниках. Личинки поднимаются в поверхностные слои. Длительность этапа 5-7 суток, температура 18-19°C.

VI этап. Перемещение правого глаза в центр профиля головы. Усиливается асимметрия костей, образующих глазницу правого глаза, который к концу этапа располагается перед спинным плавником; его зрительная ось поворачивается влево на 90°. Правое обонятельное отверстие смещается к вершине головы, развивается асимметрия парных плавников, значительно изгибается вперёд первый интергемальный луч, ограничивающий брюшную полость. Начинается редукция шипов на нижней челюсти и жаберной крышке. Личинки кратковременно опускаются на дно. Длительность этапа 10-14 суток, температура 19-22°C.

VII этап. Перемещение правого глаза из центра профиля головы на её левую сторону. На 33-35 сутки длина тела составляет 15-17 мм, высота 65-70% 1. Правый глаз, расположенный в центре профиля головы, глубоко погружен в ткани перед спинным плавником. В течение этапа, сохраняя это положение, он поворачивается ещё на 90° влево. Правая нижняя сторона тела оказывается слепой. Верхний контур головы выпрямляется благодаря значительному разрастанию передне-лобной кости. Полностью исчезают шипы на неврокраниуме и жаберной крышке. Редуцируется плавательный пузырь. Дорсальный плавник начинается на уровне хрусталика верхнего (правого) глаза. Асимметричны челюсти, парные плавники, пигментация верхней и нижней сторон тела. Личинки длительное время проводят на дне. Длительность этапа 10-15 суток, температура 22-23°C.

Мальковый период

VIII этап. Завершение метаморфоза, переход к постоянному обитанию на дне. Заканчивается формирование обоих глазниц, занимаю-

щих видоспецифичное положение на голове. Начало дорсального плавника перемещается роstralно на уровень переднего края глаза. Мальки в условиях выращивания могут питаться инертным кормом (мясом рыб). Метаморфоз завершается при длине 45-50 мм на 70-80 сутки с момента вылупления. Длительность этапа 25-30 суток при температуре 22-25°C.

На исследованных этапах происходят значительные изменения формы и пропорций тела в результате асинхронного развития отдельных его частей. Наиболее быстрым ростом характеризуется максимальная высота тела, которая в течение первых четырёх этапов увеличивается в 3 раза, скорость её изменений снижается лишь на седьмом этапе при достижении 65-70% 1.

Развитие плавников сопровождается их смещением относительно роstralного и каудального концов тела. Антеанальное расстояние уменьшается от 48-56% 1 в момент закладки плавников до 26-30% 1 у мальков. Антедорсальное расстояние, составляющее на пятом этапе 26-28% 1, на седьмом этапе уменьшается до 18-20% 1. Дальнейшее сокращение антедорсального расстояния происходит медленнее, так как в это время правый глаз расположен на месте презумптивного основания передней части спинного плавника. У мальков расстояние от вершины рыла до начала спинного плавника составляет 9-10% 1. Грудные и брюшные плавники характеризуются увеличением длины лучей, изменением расстояния от вершины рыла до начала плавников, развитием асимметрии.

Развитие пищеварительной системы личинок

У предличинок при эндогенном питании пищеварительный тракт представлен нерасчленённой трубкой с незначительным просветом. На первых двух этапах происходит первичная дифференцировка эпителиальной выстилки и деление пищеварительного тракта на переднюю, среднюю, заднюю кишку. Ротоглоточная область выстлана 1-2

слоями эпителиальных клеток. Эпителий пищевода 2-3-слойный, кубический. На втором этапе слизистая пищевода образует продольные складки. В среднем и заднем кишечнике эпителий представлен одним слоем высоких цилиндрических клеток. На границе средней и задней кишки образуется поперечная предректальная складка слизистой. Перед анусом эпителий становится многослойным.

При переходе на смешанное питание интенсифицируется процесс дифференцировки слизистой. Эпителий пищевода утолщается, увеличивается число клеточных слоёв, в которых у 8-суточных личинок появляются одиночные слизевые клетки. Снаружи дифференцируются слои мускулатуры. Среднюю кишку выстилает слой цилиндрических эпителиальных клеток с щёточной каймой, осуществляющих процессы переваривания и всасывания. В эпителии среднего кишечника к концу этапа смешанного питания появляются бокаловидные клетки, свидетельствующие об усложнении процессов переваривания. Для эпителия заднего отдела кишечника, обильно снабжаемого кровью, характерно наличие крупных ацидофильных гранул, отсутствующих у контрольных личинок, содержащихся без корма.

Наличие пищи - необходимое условие для нормального морфогенеза пищеварительной системы. На 6 сутки после вылупления пищеварительный тракт непитающихся личинок характеризуется меньшим диаметром, высотой эпителиального слоя, и отличается строением энтероцитов. В кишечнике исчезает складчатость, протоплазма клеток становится прозрачной, в 1,5-1,8 раза увеличивается ядерно-плазменное отношение, сокращается объём цитоплазмы в клетках печени и поджелудочной железы. На 8 сутки после вылупления изменения в строении пищеварительной системы у голодающих личинок становятся необратимыми. На этапе смешанного питания личинки чётко дифференцируются на три типа: питающихся с нормальным строением заполненного пищей кишечника; полуголод -

ных, кишечник которых не отличается от нормы, но не содержит пищи, и голодающих, у которых пища отсутствует, а кишечник имеет признаки деструкции. Соотношение перечисленных типов личинок отражает степень соответствия созданных в установках условий потребностям личинок.

В конце IV этапа в желудке под призматическим эпителием появляются клетки, из которых на последующих этапах формируются желудочные железы. Желудок пилорическим плапаном отделен от среднего кишечника. На дорсальной стенке глотки развиваются конические зубы. В начале VI этапа тонкие зубы появляются на нижней челюсти. Одновременно с образованием желудка усложняется строение пищевода, в котором увеличивается количество слизевых клеток. Протоплазма клеток эпителия среднего кишечника сильно вакуолизирована, среди них дифференцируются бокаловидные клетки. В энтероцитах заднего кишечника уменьшается количество и размер ацидофильных гранул, образующихся в результате всасывания нативных молекул белка. На последующих этапах пищеварительная система приобретает анатомическое строение с дефинитивным соотношением отделов. Короткий пищевод, составляющий 8-10% длины пищеварительного тракта (I<sub>1</sub>), переходит в длинный сифонообразный желудок (I7-I9% I<sub>1</sub>). Средний кишечник с двумя пилорическими придатками составляет 50-62% I<sub>1</sub>, относительная длина заднего кишечника уменьшается с 22-30% у ранних личинок до I4-I5% I<sub>1</sub> у мальков.

#### Развитие зрительной системы личинок

В сетчатке взрослых особей калкана присутствуют палочки и колбочки трёх типов: одиночные, равночленные и неравночленные двойные. Сетчатка личинок чисто колбочковая. При вылуплении сетчатка недифференцирована, в плоских клетках наружного глазного листка отсутствует пигмент. Предличинки индифферентны по

отношению к свету. В течение первых суток митотическая активность внутреннего глазного листка приводит к образованию слоёв сетчатки. На вторые сутки в глазном дне выделяется участок, где у рецепторов появляются конусные наружные сегменты, а в пигментном эпителии — зёрна меланина. С формированием этой области светочувствительности реакция личинок на свет становится отрицательной.

Пигментация глаз и развитие слоёв сетчатки в разных секторах происходят асинхронно. Наиболее дифференцированным оказывается темпоральный её участок, где формируется область острого зрения (area), которая отличается большей толщиной пигментного эпителия и фоторецепторных клеток. Колбочки в area длиннее и тоньше, чем в других секторах, поэтому плотность их распределения выше. Качество оптического изображения повышается также благодаря удлинённой форме наружных сегментов фоторецепторов, при которой отпадает необходимость в точной фокусировке, поскольку изображение воспринимается одинаково резко, если оно попадает в пределы зоны фоторецепторных отростков (Detwiler, 1943; Протасов, 1968). Область острого зрения при метаморфозе редуцируется.

При характерной для калкана овальной форме глаз наибольшая разница горизонтального и вертикального диаметров, составляющая 10–14%, отмечена на ранних этапах. Хрусталик у взрослых особей расположен симметрично, его центр совпадает с центром полусферы сетчатки. Центр хрусталика у личинок смещён к назальному краю глаза, в результате темпоральный сектор, где расположена область острого зрения, в 1,6–1,8 раза больше назального. Структурные особенности темпорального сектора позволяют чётко воспринимать объекты, находящиеся в переднем поле зрения. Дистантные характеристики глаз зависят от величины бинокулярного угла

зрения. По мере развития горизонтальные оси глаз сближаются в назальном направлении и бинокулярный угол от  $5-10^{\circ}$  при выдуплении достигает  $40-45^{\circ}$  при переходе на смешанное питание. Острота зрения возрастает по мере увеличения размеров глаз. У двухсуточных личинок минимально различимый угол составляет около 300 минут, на 9 сутки он уменьшается в 2 раза. Относительный размер глаз увеличивается на протяжении пелагической фазы, достигая максимальной величины (10–11% 1) в конце УП этапа. При переходе к обитанию на дне диаметр глаз составляет 8–8,5% 1, такое соотношение сохраняется у взрослых особей.

#### Поведение личинок и мальков

На каждом этапе в соответствии с изменениями в строении и функциях органов меняется поведение. После выдупления предличинки концентрируются под поверхностной плёнкой, плавая брюшной стороной вверх; их движения хаотичны и не координированы. Личинки имеют положительную плавучесть, которая создаётся за счёт высокого содержания воды, составляющей 94,6%, и жировой капли. По мере сокращения желточного мешка и уменьшения содержания воды плавучесть становится отрицательной. На вторые сутки личинки пассивно погружаются вниз, а при подъёме заглатывают в плавательный пузырь воздух, пробивая плёнку поверхностного натяжения. Скорость их погружения составляет  $0,09-0,12 \text{ см.с}^{-1}$ .

При заполнении плавательного пузыря газом из крови личинки на III этапе опускаются в средние горизонты, концентрируясь в наиболее освещённых участках. Периоды покоя составляют 1–2с, активное время 7–20 с. На этапе смешанного питания они распределяются в установках по горизонтам (рис. 1). Личинки из средних слоёв относятся к типу питающихся и жизнеспособны, из поверхностных и придонных — к полуголодному и голодному типам. Стратификация личинок определяется различной их плавучестью. В течение



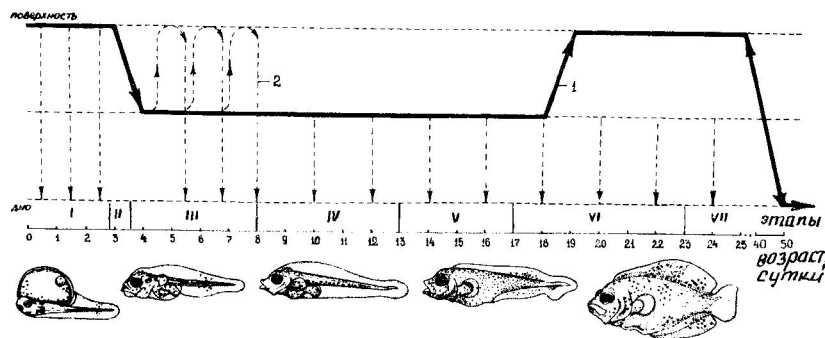


Рис. 1. Схема распределения нормально развивающихся (I) и аномальных (2) личинок в экспериментальных установках по горизонтам. Направления миграций указаны стрелками.

первых суток голодания при общем снижении массы тела плавучесть увеличивается в связи с возрастанием относительного содержания в теле жидкости, гипотоничной по отношению к морской воде. Дальнейшее голодание приводит к нарушению осморегуляции, удельный вес личинок понижается и они опускаются в придонные слои. На IV этапе нормально развивающиеся личинки обитают в средних горизонтах. Основную гидростатическую функцию выполняет плавательный пузырь. Вспомогательное значение сохраняет жировая капля. Коэф-фициент корреляции между их размерами составляет  $-0,88$

При адаптации камбал к донному образу жизни происходит поворот тела на  $90^\circ$  относительно его продольной оси. На VI этапе интенсивно заполняется плавательный пузырь, формируются непарные плавники, возрастает высота тела. Личинки поднимаются в верх- ностные слои, где плавают в отклонённом от вертикали положении. Угол наклона личинок, глаз которых не достиг вершины головы, по- степенно увеличивается от  $45-60$  до  $70-80^\circ$  для особей с перемес- тившимся глазом в центр профиля головы. Ориентацию плоскости те-

ла при плавании определяет положение глаз: ось между центрами хрусталиков образует прямой угол с вертикалью. Глаза оказываются при любом положении расположенными параллельно поверхно- сти воды. Личинки начинают мигрировать на дно на 23-25 сутки. Периоды покоя увеличиваются от 3-5 до 30-60 мин. Увеличение плавучести обеспечивается плавательным пузырём и возрастанием удельной поверхности за счёт высоты тела и удлинения лучей не- парных плавников. На VIII этапе, в возрасте 45-50 суток при дли- не тела 20-25 мм, личинки переходят к придонному образу жизни.

#### Рост и выживаемость личинок и мальков

Изменения длины и массы тела личинок и мальков при выращи- вании представлены на рис.2. Абсолютные среднесуточные прирост- ты во время питания коловратками составили 0,186 мм, при пере- ходе на науплий артемий они увеличились до 0,58 мм. Относитель- ные среднесуточные приросты длины росли до I4-суточного возраста, затем постепенно снизились до 2,9% в конце личиночного пе- риода. Суточный прирост массы тела увеличивался от 22,1% при пи- тании коловратками до 25,3% при переходе на питание науплиями артемий. К концу личиночного периода относительный прирост мас- сы не превышал 5,3%. Связь между длиной и сырой массой тела ап- проксимируется уравнением  $w = 0,014 l^{2,95}$ ,  $r = 0,987$ ,  $P = 0,001$ .

Мальки характеризуются быстрым ростом. Средняя сырая масса тела, в начале малькового периода равная 0,65г, за месяц увели- чилась в 4,4 раза и достигла 2,8г. В возрасте 4 мес. масса ма- льков 8-10г при длине 7,3-8,2 см. Относительные среднесуточные приросты массы тела составляли около 3%.

Выживаемость личинок на отдельных этапах различна. При соб- луждении оптимального режима выращивания при эндогенном питании выживаемость достигала 85-90%. Наибольшая смертность личинок, составляющая в разных партиях от 60 до 80%, отмечена на этапе

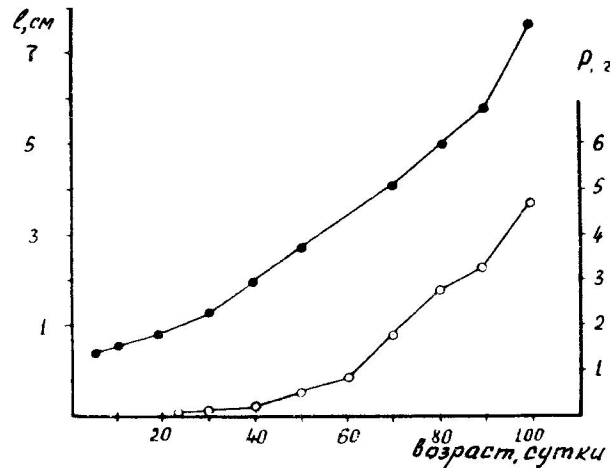


Рис. 2. Весовой и линейный рост калкана при выращивании.

смешанного питания. Элиминируют личинки, имеющие дефекты в развитии, которые возникают в период эмбриогенеза и препятствуют нормальному пищевому поведению. Некоторая часть личинок не имеет морфологических нарушений в строении. Их гибель происходит в результате кумулятивного эффекта незначительных отклонений в морфологии, обмене веществ или неадекватных нормальному развитию условий в системе выращивания. Следующим критическим этапом, на котором происходит значительная смертность, является начало метаморфоза; на поздних этапах личиночного и в мальковый периоды смертность невысокая.

Влияние температуры на эмбриональное и личиночное развитие

Развитие рыб, различные стороны их жизнедеятельности находятся в непосредственной зависимости от температуры и нормально протекает в определённом её диапазоне (Медников, 1977; Резниченко, Гулидов, 1978 и др.). Оптимальный для развития режим не остаётся постоянным и зависит от изменений в строении, уровня

метаболических процессов, экологии.

Калкан нерестится в весенне-летнее время, вымётывая икру на глубине 30-40 м при температуре 8-12°C (Марти, 1939). Развитие икры и личинок происходит в приповерхностном слое с динамическим температурным режимом. Термочувствительность эмбрионов в процессе развития изменяется. При температуре инкубации 7-8°C нормально протекают I-III этапы (от оплодотворения до завершения гастрюляции), но на этапе подвижного эмбриона начинается массовая смертность зародышей. Инкубация при 10°C приводит к вылуплению зародышей, однако большинство их оказываются аномальными. С повышением температуры до 13-18°C выживаемость нормально развивающихся эмбрионов достигает 80-90%. При 20-23°C повышается смертность на начальных этапах эмбриогенеза и сокращается число развивающихся особей. Таким образом, развитие от оплодотворения до завершения гастрюляции происходит в широком диапазоне от 7 до 20°C; на последних этапах диапазон сужается до 12-20°C. Как высокие, так и низкие температуры оказывают лимитирующее влияние на скорость развития эмбрионов.

Предличинки нормально развиваются при температуре 15-18°C, на последующих этапах - при 17-18°C. Однако, начиная с УI этапа, при такой температуре значительно замедляется рост и развитие личинок и на 29-30 сутки наблюдается массовая смертность. Для их успешного выращивания температуру с 17-18-суточного возраста необходимо повышать каждые 3 дня на 1° до 22-23°C.

Заключение

Для выращивания калкана необходимо знать специфические особенности его биологии, и в первую очередь, этапность развития, которая служит основой рыбоводного процесса. Этапность проявляется в характерных чертах морфологии, физиологии развивающейся рыбы, в её адапционных механизмах, в поведении, а также тре-

БИБЛИОТЕКА

26

бованиях к условиям среды.

Известно, что метаморфоз камбал специфичен по продолжительности, размерному диапазону, при котором происходит трансформация тела, типу миграции глаза и характеру других преобразований (Евсеев, 1979, 1982; Fahay, 1983 и др.). По особенностям раннего онтогенеза калкан наиболее близок к тюрбо *R. maximus*, являющемуся объектом эффективного искусственного культивирования (Jones, 1972; Al-Magazashi, Gibson, 1984). Это сходство проявляется в морфологии, длительности метаморфоза, в механизмах адаптаций к обитанию в пелагиали.

На выделенных этапах раннего онтогенеза калкана описано строение, поведение, питание, рост, выживаемость и отношение калкана к температуре. Подобно большинству пелагофильных рыб предличинки калкана вылупляются со слабо сформированными зачатками органов (рот отсутствует, кишечник в виде плотного тяжа с жаберными мешками в области формирующейся глотки, дыхание осуществляется путём диффузии кислорода через поверхность тела). Глаза не пигментированы, реакции на свет нет. Предличинки концентрируются у поверхности, плавучесть обеспечивается плавниковой складкой, желточным мешком, жировой каплей. Питание эндогенное. На II этапе уменьшается содержание воды в теле предличинки, плавучесть становится отрицательной. Происходит быстрая дифференцировка жаберного аппарата, органов захвата и переваривания пищи, обеспечивающая переход к потреблению кормовых организмов.

На III этапе устанавливается смешанное питание. Специфика этапа в чрезвычайно высокой чувствительности личинок к отсутствию пищи. Точка необратимого голодания соответствует возрасту 5,5-6,0 суток. Задержка начала активного питания на 36-48 часов вызывает 100% гибель личинок независимо от концентрации пищи.

При голодании нарушаются процессы морфогенеза, прекращается рост, происходит деструкция тканей, возрастает относительное содержание воды в теле, которое ведёт к увеличению плавучести личинок. Они теряют способность удерживаться в определённых горизонтах, принудительно поднимаются в верхние слои, что препятствует их нормальному поведению. Личинки, которые на этом этапе остаются у поверхности или около дна установок, могут изыматься как нежизнеспособные.

Основным рецептором, обеспечивающим пищевое поведение, является зрение. В сетчатке глаза формируется область острого зрения с высокой плотностью рецепторов. Расположение *area* в темпоральном секторе глаза обеспечивает более острое зрение в переднем направлении, что несомненно имеет значение при пищевом поведении. Область острого зрения сохраняется в течение первой половины личиночного периода развития, далее она редуцируется, поскольку положение глаз на голове начинает изменяться и *area* не может быть использована.

Наряду с адаптациями к обитанию в пелагиали, начиная с У этапа развития, протекают перестройки, связанные с метаморфозом, которые формируют организм, приспособленный к жизни на дне. На У этапе личинки переходят на более крупный корм (науплий артемий), что приводит к высоким приростам длины и массы тела. Усвоение пищи осуществляется слизистой кишечника. В течение У-VI этапов значительно усложняются все системы органов, изменяется форма тела, увеличивается его максимальная высота, совершенствуется локомоторный аппарат. Ключевым признаком для VI-IX этапов является миграция правого глаза. Этот процесс происходит одновременно с формированием асимметрии головы, парных плавников. Личинки кратковременно плавают в наклонном положении в поверхностных слоях воды, а затем переходят к придонному

образу жизни. В естественных условиях длительное пребывание в пелагиали позволяет личинкам завершить дрейф из открытой части моря в прибрежную, где они оседают на дно.

Приведенная схема этапов развития калкана подтверждена наблюдениями в течение многократных опытов по его выращиванию и может рассматриваться в качестве нормы развития личинок и мальков. Переход с этапа на этап при заданной температуре осуществляется в узком диапазоне размеров тела, при достижении соответствующего уровня развития и в определенном возрасте. Снижение темпов роста, отклонения в развитии, задержка сроков перехода с этапа на этап свидетельствуют о необходимости корректировки абиотических и биотических факторов в установках.

На всех этапах интегральной характеристикой нормального состояния личинок, зависящей от уровня развития и от условий выращивания, является поведение: отношение к свету, активность, приуроченность к определенным горизонтам.

Таким образом, выявленные эколого-морфологические особенности раннего онтогенеза калкана и их зависимость от факторов среды и условий питания позволили оптимизировать основные параметры условий культивирования этого вида, способствующие повышению выживания личинок и мальков.

#### В ы в о д ы

I. В результате эколого-морфологического исследования раннего онтогенеза калкана от вылупления до завершения метаморфоза выявлены восемь личиночных и один мальковый этапы развития. Каждому из них свойствен определенный уровень организации, функционирования органов, поведения.

а) Основное качество первых трёх этапов при эндогенном и смешанном питании определяют процессы дифференцировки жаберного

аппарата, кровеносной, пищеварительной систем, рецепции;

б) последующие этапы связаны с процессом метаморфоза, в течение которого формируются плавники, перемещается глаз, развивается асимметрия, личинки приобретают дефинитивную форму тела;

в) метаморфоз калкана заканчивается в мальковый период развития после перехода к донному образу жизни. Морфологическими показателями его служат: сокращение антедорсального расстояния до 9-10 % и дефинитивное положение верхнего мигрирующего глаза на левой стороне головы.

2. Наибольшая смертность личинок при выращивании происходит на этапе смешанного питания и в начале метаморфоза. Задержка начала питания на 36-48 часов на III этапе вызывает 100% гибель личинок. Точка необратимого голодания соответствует возрасту 5,5-6,0 суток.

3. Пищеварительная система при вылуплении характеризуется слабой морфологической и гистологической дифференцировкой и последующей асинхронностью развития. В течение III-IV этапов пищеварение происходит по безжелудочному типу, переваривание и всасывание осуществляется кишечным эпителием. На V этапе развиваются желудочные железы, что обеспечивает переход на желудочный тип пищеварения и приводит к изменению экологии питания личинок. При завершении метаморфоза с развитием пилорических придатков пищеварительная система приобретает дефинитивные черты анатомического строения.

4. В зрительной системе личинок при наличии в сетчатке только колбочек, функционирующих при дневном свете, выявлен ряд приспособлений, улучшающих функциональные свойства глаза: региональные различия в дифференциации сетчатки, формирование

области высокой светочувствительности и области острого зрения в темпоральном секторе глаза, увеличение бинокулярного угла зрения при переходе на смешанное питание и остроты зрения по мере роста личинок.

5. Установлены критерии нормального поведения личинок. В начале пигментации глаз реакция на свет отрицательная, затем она меняется на индифферентную, на этапе смешанного питания и последующих личинки реагируют на свет положительно. На этапах эндогенного питания и при метаморфозе личинки обитают у поверхности, их переход на смешанное и начальные этапы экзогенного питания происходит в средних слоях воды. Периодические опускания в придонные слои начинаются с УП этапа, к придонному образу жизни калкан переходит на I этапе малькового периода.

6. В период эмбриогенеза для всех этапов верхняя граница оптимального уровня составляет 18°C, нижняя, для начальных этапов соответствующая 9°C, на У-VI этапах сдвигается в сторону повышения до 14°C. Оптимальная температура для предличинок - 17-18°C. Выращивание личинок необходимо проводить при постепенном повышении температуры с 17 до 22-23°C.

7. Показателями соответствия условий выращивания потребностям личинок служат уровень их развития, своевременность прохождения этапов, рост, поведение.

8. Выявленные особенности режима инкубации икры и выращивания личинок калкана позволили впервые вырастить жизнестойких мальков калкана, завершивших процесс метаморфоза. Разработанный способ искусственного разведения калкана Комитетом по изобретениям и открытиям СССР признан изобретением (авт. свид. СССР № 847961, 1981).

Основные положения диссертации опубликованы в следующих работах.

1. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. К вопросу о морфо-физиологических показателях перевода личинок камбалы калкана Чёрного моря на внешнее питание при искусственном выращивании // П Всесоюз. конф. по биологии шельфа.- Киев, 1978.- Ч. I.- С. 22-23.

2. А.С. № 847961 СССР МКП<sup>3</sup> А ОI К 6I/00. Способ искусственного разведения черноморской камбалы калкана /А.В.Чепурнов, Ю.Е.Битюкова, Н.К.Ткаченко, Б.Н.Беляев; Ин-т биологии южных морей им. А.О.Ковалевского (СССР).- № 2836435/28-13; Заявл.25.10.79; Опубл. 23.07.81, Бул. № 27.- 6 с. УДК 639.3.041 (088.8).

3. Битюкова Ю.Е., Терещенко В.А., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. Температурные адаптации черноморской камбалы калкана в период эмбрионального развития // У Всесоюз. конф. по экологической физиологии и биохимии рыб: Тез. докл.- Киев, 1982.- Ч.3.- С. 14-15.

4. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. Изменение некоторых морфологических признаков в раннем онтогенезе калкана Чёрного моря при искусственном выращивании // Проблемы раннего онтогенеза рыб: Тез. докл.- Калининград, 1983.- С. 20-21.

5. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. Термочувствительность камбалы калкана *Psetta macroptera* (Pallas) в период эмбрионального развития при искусственном выращивании // Вопр. ихтиологии.- 1984.- Т. 24, вып. 3.- С. 459-463.

6. Битюкова Ю.Е. Развитие зрительной рецепции у личинок черноморской камбалы калкана *Psetta macroptera* (Pallas) // Сенсорная физиология рыб.- Апатиты, 1984.- С. 110-112.

7. Чепурнов А.В., Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К. Выращивание личинок морских рыб в установках с замкнутой циркуляцией воды // Биологические основы аквакультуры в морях Европейской части СССР.- М., 1985.- С. 97-109.

8. Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К., Чепурнов А.В. Аномальные эмбрионы черноморской камбалы калкана *Psetta maotica* (Pallas) // Гидробиол. журн.- 1986.- Т. 22, № 1.- С. 81.

9. Чепурнов А.В., Битюкова Ю.Е., Ткаченко Н.К. Пищевое поведение личинок камбалы калкана *Psetta maotica* (Pallas) на этапе смешанного питания и плотность кормовых организмов при культивировании // Биология моря.- 1986.- Вып. 24.- С. 38-87 (в печати).

Подписано к печати 14.08.86

БН 09540

Зак. 579р/86 Объем 1 л.л.

формат 60x90 1/16

---

Типографии СВВМУ