

01 92
МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РСФСР
Владивостокский государственный медицинский институт

На правах рукописи

ЕВДОКИМОВ
Владимир Васильевич

УДК 639.53:639.64

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ОЦЕНКА ГАМЕТ
И ПРОДУКЦИОННЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ГИДРОБИОНТОВ
ПРИ РАЗМНОЖЕНИИ ИХ В МОНО- И ПОЛИКУЛЬТУРЕ

03.00.11 - эмбриология, гистология и цитология

03.00.08 - зоология

Автореферат
диссертации на соискание учёной
степени доктора биологических наук

Владивосток - 1991

Работа выполнена в Тихоокеанском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук	А.А. Максимович
доктор биологических наук, профессор	В.Н. Иванов
доктор биологических наук	А.А. Березин

Ведущее учреждение: Институт биологии развития им.
Н.К.Кольцова РАН

Защита состоится " " _____ 1992 г. в " " час
на заседании Специализированного совета по эмбриологии и
гистологии Д 084.24.01 при Владивостокском государственном
медицинском институте по адресу: 690600, Владивосток,
Проект Острякова, 2, Владивостокский государственный
медицинский институт.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке
Владивостокского государственного медицинского института
Автореферат разослан "15" Май 1992 г.

Ученый секретарь
Специализированного совета,
кандидат биологических наук



Г.М.Холоденко

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Интенсивная хозяйственная деятельность на шельфе морей и океанов ориентирует исследования на решение неотложных проблем рационального ведения промысла морских организмов и марикультуры. В значительной степени решение этих проблем зависит от изучения биологии размножения морских организмов, определяющих структуру донных сообществ. В их числе одно из первых мест занимает двусторчатые моллюски, иглокожие и водоросли. Особое внимание промыслу и развитию этих гидробионтов в последнее время уделяется на Дальнем Востоке СССР. Однако сведения о потенциальных возможностях воспроизводства хозяйственно важных гидробионтов в сообществах пока ещё недостаточны для научного обоснования репродуктивных возможностей этих организмов в поликультурных хозяйствах марикультуры. Необходимость получения таких фундаментальных данных определяет актуальность нашей работы.

Диссертация посвящена разработке нового направления — управлению онтогенезом гидробионтов — и предусматривает решение двух взаимосвязанных проблем. Первая, фундаментальная проблема состоит в познании значения биотических, абиотических факторов и экзометаболических взаимодействий гидробионтов на потенции гамет, формирующихся у организмов в период соответствующих адаптаций в моно- и поликультуре. Вторая, преимущественно прикладная проблема, связана с разработкой биологических основ развития поликультуры в морских хозяйствах (в контролируемых условиях) — с целью управления продуктивностью гидробионтов.

В настоящее время актуальной проблемой аквакультуры становится переход к методам активного управления онтогенезом — это необходимое условие и основа для разработки методов управления

продуктивности в естественных и искусственных экосистемах, одно из главнейших направлений фундаментальных исследований в марикультуре (Зайцев, 1975, 1987; Соин и др., 1985; Золотарев, 1986; Золотарев, Щурова, 1987; Шунтов, 1988). В мировой литературе описаны различные стороны биологии размножения отдельных видов морских гидробионтов, включая двусторчатых моллюсков, иглокожих и водорослей при воздействии на них различных биотических и абиотических факторов (Торсон (Thorson), 1950; Имамото, 1951, 1964; Шлейковский, 1961, 1970, 1973; Кауфман, 1977; Перестенко, 1980; Скарлато, 1981; Касьянов с соавт., 1985, 1983; Мотавкин и Вараксин, 1983; Моисеев с соавт., 1985; Моисеев, 1986; Мотавкин, 1986; Кузнецов, Соколова, 1987; Motavkin et Varaksin, 1989; Фретвел (Fretwel), 1987; Абрамс (Abrams), 1987; Лесчке (Lewyckke), 1987; Ботсторд (Botstord), 1987). Однако до сих пор отсутствуют работы с анализом закономерностей функционирования репродуктивной системы гидробионтов в сообществе. Выделяемые в среду обитания продукты обмена веществ организмов действуют в качестве регуляторов скорости их роста, развития и важнейших морфогенетических реакций (Шварц и др., 1986; Хочачка, Сомеро, 1988). Это позволяет предполагать наличие воздействия экзометаболитов на потенции формирующихся гамет у гидробионтов сообщества. В связи с этим возникают вопросы: какие изменения происходят в репродуктивной системе гидробионтов? за счет чего осуществляется предполагаемая регуляция репродуктивного процесса? какие посредники вовлечены в этот процесс? как это сказывается на потенции формирующихся гамет у организмов? Ответы на эти вопросы являются актуальными в связи с открытием донервной регуляции эмбриогенеза с участием ацетилхолина и биогенных моноаминов. У иглокожих и моллюсков установлено наличие рецедторов

к известным нейротрансмиттерам на мембране ооцитов, а также определенное функциональное значение моноаминергических и холинергических рецепторных структур ооцита (Бузников, 1967, 1987; Motavkine et Varaksine, 1989; Хотимченко, 1989), что проливает свет на проблему метаболической регуляции репродуктивного процесса у гидробионтов сообщества. Искусственное сообщество из моллюсков, иглокожих и водорослей представляет удобную модель для изучения закономерностей размножения организмов и определения потенциалов гамет, формирующихся в период собственных адаптаций при экзометаболическом взаимодействии гидробионтов.

По оценкам специалистов, к 2000 г. мировая продукция марикультуры должна достигнуть 25 млн. т. Объективной предпосылкой этого является продуктивность хозяйств марикультуры, которая основывается на рациональной эксплуатации биологических ресурсов в прибрежных районах шельфа. Основной задачей марикультуры является разведение гидробионтов: рыб, моллюсков, иглокожих, водорослей и пр. Интенсивное развитие морских хозяйств возможно на строго научной основе и требует решения комплекса проблем, таких как определение воздействия биотических и абиотических факторов на репродуктивный процесс, ранний онтогенез гидробионтов в естественных и искусственных условиях. Знание состояния репродуктивных органов в конкретных условиях моно- и поликультуры, а также воздействие экзометаболитов гидробионтов на потенции гамет открывает большие возможности для управления воспроизводством хозяйственно важных организмов.

В настоящее время в нашей стране и за рубежом используются основные закономерности гаметогенеза для управления репродуктивной активностью морских беспозвоночных. Зависимость гаметогенеза гидробионтов от температуры среды и других экологических

факторов позволили сделать предположение, что репродукция гамет у организмов возможна в значительно более короткое время, чем это наблюдается в природе. Проверка этого предположения в лабораторных условиях показала, что с помощью метода температурной стимуляции половые клетки в экспериментальных условиях созревают за 20-80 суток и способны давать полноценное потомство вне сезона размножения (Мотавкин, Евдокимов, 1975, 1976; Викторовская, Евдокимов, Мотавкин, 1983). Наша рабочая гипотеза о том, что потенции гамет могут повышаться в сообществе за счет экзосметаболического взаимодействия гидробионтов, была проверена с помощью метода температурной стимуляции. В результате проведенных опытов было доказано, что потенции гамет у гидробионтов более полно реализуются от тех, что содержатся в сообществе. Это позволяет морским хозяйствам решить проблему получения жизнестойкой молоди для морских плантаций.

Цель и задачи работы. Цель работы - установить закономерности размножения у гидробионтов - представителей различных трофических уровней: морских двустворчатых моллюсков, иглокожих и водорослей в поликультуре. В соответствии с целью работы ее задачи были следующие:

1. Изучить репродукцию гамет под воздействием температурной стимуляции у представителя двустворчатых моллюсков - приморского гребешка; представителя иглокожих - черного морского ежа; представителя багрянок - грацилярии бородавчатой.

2. Исследовать морфологическое состояние гамет в органах размножения гидробионтов в искусственных условиях моно- и поликультуры. Изучить закономерности экспериментальной регуляции гаметогенеза и функционирования половой системы у организмов в экспериментальном сообществе и монокультуре.

3. Проанализировать цитохимические изменения в половых

клетках морского ежа, приморского гребешка и биохимическую характеристику галломов грацилярии бородавчатой, содержащихся в моно- и поликультуре.

4. Провести морфологическое сравнение раннего онтогенеза черного морского ежа, приморского гребешка и грацилярии бородавчатой из гамет, полученных от организмов, содержащихся в моно- и поликультуре. Выяснить общие закономерности их развития в ходе онтогенеза.

5. Проследить онтогенез организмов, полученных из половых клеток от гидробионтов, содержащихся в моно- и поликультуре, в садках на морской плантации.

Научная новизна и теоретическое значение работы. Впервые проведено комплексное изучение количественных морфологических параметров половой железы, ацинусов и половых клеток, концентрации и общего содержания химических компонентов. Показано, что в течение репродуктивного цикла последовательно сменяются стадии развития гонады, которые характеризуются определенными значениями ее биомассы, размеров ацинусов и гамет, количеством половых клеток. На стадиях пролиферации и дифференциации соотношение между процессами накопления и распределения белков, липидов и гликогена у морского ежа и приморского гребешка различно. В процессе созревания гонады соотношение между белками, фосфолипидами и углеводами изменится. Сравнительный анализ полученных результатов с литературными данными позволит предположить, что гонады иглокожих и двустворчатых моллюсков по органическому составу в большей степени зависят от условий обитания гидробионтов, чем от их систематического положения.

Эксперименты, выполненные при помощи разработанного нами метода температурной стимуляции гаметогенеза, с использованием биохимических анализов среды обитания гидробионтов сообщества,

позволили получить доказательства участия экзометаболитов в регуляции роста и созревания ооцитов.

Исследования циклических изменений в репродуктивном процессе позволили выявить закономерности формирования гамет у изучаемых гидробионтов от основного экологического фактора внешней среды — температуры. Обнаруженные закономерности свидетельствуют о существовании у двустворчатых моллюсков и иглокожих функциональной связи экзометаболитов с половой системой.

Прослежен онтогенез организмов из гамет, полученных от гидробионтов, содержащихся в моно- и поликультуре, в лабораторных условиях и в садках на морской плантации.

Установлены биологические основы поликультуры в контролируемых условиях. Доказана необходимость присутствия в поликультуре определенных гидробионтов различных трофических уровней. Показана возможность управления продуктивностью гидробионтов в поликультуре.

Установленные закономерности функционирования репродуктивной системы гидробионтов в сообществе могут быть использованы при анализе биологии размножения различных групп морских беспозвоночных и водорослей.

Предложена гипотеза, согласно которой потенции гамет в сообществе повышаются за счет экзометаболического взаимодействия гидробионтов.

Сформулирована концепция функционирования репродуктивных органов при экзометаболическом взаимодействии гидробионтов, из которой следует, что в условиях метаболической стимуляции проявляется повышенная реализация потенций гамет организмов в искусственно созданном сообществе.

Теоретическое значение выполненной работы заключается в установлении у беспозвоночных и водорослей новых, неиз-

вестных ранее экзометаболических взаимодействий.

Основные положения, вносимые на защиту:

1. Морфофункциональная оценка гамет гидробионтов, формирующихся под воздействием различных биотических и абиотических факторов в естественных и искусственных условиях.

2. Повышение продукционных возможностей у промысловых гидробионтов при воспроизводстве в сообществе за счет различия в их трофических уровнях.

3. Управление онтогенезом гидробионтов в поликультуре на примере искусственного сообщества, состоящего из черного морского ежа, приморского гребешка и грацилярии бородавчатой.

Практическое значение работы. В диссертации исследована эффективность размножения гидробионтов в моно- и поликультуре при воспроизводстве в контролируемых условиях. Полученные данные о потенциальных возможностях исследованных гидробионтов являются необходимой и существенной частью биологического обоснования для развития поликультурных хозяйств в контролируемых заводских условиях и получения жизнестойкого посадочного материала для выращивания на морских плантациях.

На основе экспериментальной регуляции гаметогенеза температурным фактором и экспериментами с холиноблокаторами, нами совместно с соавторами разработаны "Способ получения половых продуктов двустворчатых моллюсков" и "Способ задержки нереста морского гребешка". Это позволяет практически в любое время года иметь зрелых производителей для получения полноценных гамет. Примеры использования данных способов приведены в авторских свидетельствах № 1223865 и № 1083991. Авторское свидетельство № 1083991 внедрено в практику научных исследований.

Агробация работы. Основные результаты работы были представлены на VIII Всесоюзном съезде анатомов, гистологов и эмбри-

ологов (Ташкент, 1974); I, II и III съездах советских океанологов (Москва, 1977, Севастополь, 1982, Ленинград, 1987); XIV Тихоокеанском научном конгрессе (Хабаровск, 1979); III, IV Всесоюзных коллоквиумах по иглокожим (Ленинград, 1976, Тбилиси, 1979); V Всесоюзном симпозиуме по иглокожим (Львов, 1983); Симпозиуме по экспериментальной экологии морских беспозвоночных (Владивосток, 1976); I Всесоюзном симпозиуме "Фотобиология живой клетки" (Ленинград, 1977); Всесоюзном совещании "Проблемы рационального использования промысловых беспозвоночных" (Калининград, 1982); Всесоюзном совещании "Состояние и перспективы развития морфологии" (Москва, 1979); VI Всесоюзном совещании эмбриологов (Москва, 1981); IV Всесоюзном совещании по научно-техническим проблемам марикультуры (Владивосток, 1983); IV Всесоюзной конференции по промысловым двустворчатым моллюскам (Ленинград, 1987); Международном симпозиуме по современным проблемам марикультуры в социалистических странах (Москва, 1989); V Всесоюзной конференции по промысловым беспозвоночным (Москва, 1990).

Основные данные работы отражены в 36 публикациях.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 9 глав и выводов. Работа изложена на 240 страницах машинописного текста, 18 листах светооптических монтажей микрофотографий, рисунков, графиков и схем, которые помещены в соответствующих частях текста диссертации. Список литературы включает 353 работы отечественных и зарубежных авторов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на гидробионтах - представителях различных трофических уровней: иглокожих, двустворчатых моллюсках и водорослях, обитающих в заливах Уссурийском и Амурском,

бухтах Витязь, Алексеева и в проливе Старка (зал. Петра Великого, Японское море). Морские ежи - *Strongylocentrotus nudus* и *S. intermedius*; двустворчатые моллюски: приморский гребешок - *Mezuchoroston yessoensis*, мидия обыкновенная - *Mytilus edulis*, креномия Грея - *Crenomytilus grayanus*; водоросли: грацилярия бородавчатая - *Gracilaria verrucosa*, анфельция тубучинская - *Anfelta tobuchiensis*, тихокарпус косматый - *Tichocarpus crinitus*, ульва продырявленная - *Ulva fenestrata*, ламинария цикориеподобная - *Laminaria sichorioides*. Гидробионтов собирали с помощью легководолазной техники, доставляли в лабораторный корпус и помещали в емкости с аэрируемой проточной морской водой.

Для гистологических исследований материал фиксировали 10% - ным нейтральным формалином, жидкостью Буэна, Чиаччио, спиртуксусной кислотой, осмиевым методом по Шампи. Материал по общепринятой методике заливали в парафин. Для морфологических и цитохимических наблюдений приготавливали срезы на санном микротоме толщиной 7 мкм, которые после депарафинирования окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну, гематоксилином Эрлиха, азаном по Гейденгайну и по Маллери. Размеры социтов, яйцеклеток, ядер и ядрышек определяли с помощью окулярмикрометра. Объемы ацинусов и гамет определяли по формуле объема эллипсоида вращения (Лажин, 1980).

Гистохимическими методами изучали нуклеиновые кислоты, белки, жиры и углеводы. Нуклеиновые кислоты выявляли окраской метиловым зеленым с пиронином по Браше. Для определения дезоксирибонуклеиновой кислоты применяли реакцию Фельгена с горячим и холодным гидролизом. На суммарные белки препараты окрашивали прочным зеленым при pH 2,2. Основные белки определяли методом Ольферга и Гиввинада при pH 8,3. Перед окраской нуклеиновые

кислоты экстрагировали однонормальной соляной кислотой при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение трех часов. Для изучения полисахаридов материал фиксировали насыщенным спиртрикриновой кислотой, на целлюлозных срезах проводили реакцию по Шабдашу. Предварительной обработкой срезов амилазой слюны отдифференцировался гликоген от других ПАС-положительных соединений. Параллельно использовали метод Мак-Мануса. Кислые мукополисахариды определяли методом Хейла. Контрольные препараты обрабатывали тестикулярной гиалуронидазой. Для выявления фосфолипидов материал фиксировали в жидкости Чиаччио. Срезы окрашивали сушаном черным. Окислительные ферменты: сукцинатгидрогеназу и цитохромоксидазу изучали методами, описанными у Берстона (1965). Количественные данные об относительном содержании нуклеиновых кислот, белков, жиров и углеводов в оситах получены на модифицированном цитофотометре МФ-2, в котором фотоэлемент заменен фотосуммножителем. Общее содержание вещества на клетку определяли по формуле $O = C \cdot Y$, где O - общее содержание вещества в клетке, C - оптическая плотность клетки, Y - объем клетки.

Для определения биологически активных веществ, выделяемых водорослями в среду обитания, проводили анализ воды на аминокислотном анализаторе "Hitachi-835" после содержания в ней водоросли.

Стандартным методом (ГОСТ 17206-71) определяли содержание агара и гелевую прочность в талломах грациллирии бородавчатой в моно- и поликультуре.

Экспериментальные методы. Влияние экзометаболитов на потенции формирующихся гамет у организмов в сообществе в период собственных адаптаций изучали на гидробонтах, собранных вне сезона размножения и помещенных в аквариумы с проточной аэрируемой морской водой, имеющей рН 8,4-7,95; концентрацию кислорода

12,4-9,9 мг/л; соленость 33‰-30‰; температуру 0-20°C. Развитие гамет стимулировали методом температурной регуляции гаметогенеза (Мотавкин, Евдокимов, 1975; Викторовская, Евдокимов, Мотавкин, 1983; Евдокимов, 1986). С целью оценки взаимного влияния исследуемых организмов друг на друга их помещали в отдельные емкости в различных комбинациях. Опыты вели от 20 до 40 дней. В конце опытов часть гидробионтов после взвешивания вскрывали, определяли биомассу гонад и фиксировали для гистологической обработки. Талломы водоросли также фиксировали для их гистологического исследования, кроме этого водоросли брали на биохимический анализ для определения количества и качества агара. Другую часть гидробионтов использовали для проведения эмбриоэкспериментов. Для этого половые продукты от созревших морских ежей получали методом, описанным у Бузникова, Подмарева (1975). После оплодотворения гамет исследовали ранний онтогенез до сформировавшегося морского ежа (Евдокимов, 1979, 1989). У приморского гребешка вымет половых продуктов проводили методом стимуляции, описанным Ямамото (Yamamoto, 1964), после оплодотворения гамет, развитие эмбрионов прослеживали до осевшего гребешка (Викторовская, Евдокимов, 1987; Евдокимов, 1989). У грацилярной бородавчатой карпоспори и тетраспори получали следующим образом. Слоевище с созревшими цистокарпами и сорусами подсушивали в течение 4 часов, затем помещали в морскую воду с температурой +20°C. Карпоспори и тетраспори выходили из цистокарпов и тетраспорангиев и садели на предметные стекла, помещенные на дно емкости. В дальнейшем развитие карпоспор и тетраспор исследовали на этих предметных стеклах. Вели микросъемку раннего онтогенеза гидробионтов. Сформировавшиеся в лабораторных условиях гидробионты (из гамет, полученных от органоэмов, содержащихся в моче- и гонадактуре) помещались в

садки на морской плантации, где прослеживалось дальнейшее их развитие.

Данные обрабатывали методом вариационной статистики. Различия считали достоверными между средними величинами при $P < 0,05$. Исходя из анализа наших многолетних экспериментальных исследований, мы пришли к заключению о том, что черный морской еж, приморский гребешок и грацилярия бородавчатая являются наиболее характерными представителями своих типов, и в искусственно сформированном сообществе имеют общие закономерности размножения, поэтому в работе анализируется сообщество, представленное данными гидробионтами.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ, ЦИТОХИМИЧЕСКИЕ И ЭМБРИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗВИТИЯ РЕПРОДУКТИВНЫХ ОРГАНОВ И ПОКАЗАТЕЛЬСТВА ПОЛНОЦЕННОСТИ ГАМЕТ, ПОЛУЧЕННЫХ У ГИДРОБИОНТОВ В МОНО- И ПОЛИКУЛЬТУРЕ

В заливе Петра Великого репродуктивный цикл у гидробионтов: иглокожих (черный морской еж), двустворчатых моллюсков (приморский гребешок) и водоросли (грацилярия бородавчатая) полностью коррелируют с динамикой температуры воды в течение года. Определенным сезонным температурам соответствуют свои стадии зрелости половых органов. Исследование половых циклов у вышеуказанных гидробионтов позволило установить наличие в их органах размножения двух генераций гамет, развитие которых зависит, главным образом, от основного экологического фактора — температуры. Это позволяет использовать метод температурной стимуляции (Мотавкин, Едодкимов, 1975) для получения в контролируемых условиях зрелых продуктов у представителей различных трофических уровней: приморского гребешка, черного морского ежа и грацилярии бородавчатой в моно- и поликультуре.

Критерием оценки нормального развития репродуктивных органов исследуемых гидробионтов в моно- и поликультуре при температурной стимуляции могут быть следующие морфологические данные: биомасса гонады, размер ацинусов, количество в них клеточных элементов, объем гамет и др. Их удобно сопоставить с соответствующими параметрами репродуктивных органов гидробионтов, живущих в естественных условиях.

Биомасса гонад и таллома водоросли. Средняя биомасса зрелой гонады у черного морского ежа 26 г, у приморского гребешка в возрасте трех лет 10 г. После нереста биомасса гонад уменьшается в несколько раз, и у морского ежа, выловленного в октябре, она колеблется от 5 до 7 г, у приморского гребешка от 2 до 3 г. Биомасса фрагментов слоевищ грацилярии бородавчатой перед помещением в опыт была 10 г. При температурной стимуляции гаметогенеза в моно- и поликультуре происходит закономерное увеличение биомассы на статистически достоверную величину. Нарастание биомассы гонад у животных и талломов у водоросли зависит от длительности стимуляции и от их исходного состояния. Темп развития гонад и таллома, т.е. прирост биомассы в единицу времени в искусственных условиях, опережает соответствующее явление в природе.

Размеры ацинусов и цистокарпов. Вместе с биомассой гонад и талломов водоросли увеличиваются объемы ацинусов и цистокарпов, что также является показателем развития репродуктивных органов. Объемы ацинусов и цистокарпов в течение опытов в моно- и поликультуре возрастают по сравнению с исходными на статистически достоверную величину ($P < 0,001$).

Рост ооцитов и изменение клеточного состава гонад. Для того, чтобы судить о качественных сдвигах в гонаде самок, все половые клетки были разделены на пристеночные, свободные

и готовы к вымету. Пристеночные ооциты - это клетки, которые лежат на базальной мембране. Они преобладают в начале опыта как в моно-, так и в поликультуре. При повышении температуры воды число этих клеток уменьшается и резко сокращается в конце опытов.

Свободнолежащие ооциты - это клетки, которые потеряли связь с базальной мембраной, имеют округлое тело и крупное пузырько-видное ядро с одним ядрышком или без него. Часть свободнолежащих ооцитов в моно- и поликультуре подвергаются резорбции с образованием трофического субстрата, т.е. наблюдается то же, что происходит и в процессе естественного гаметогенеза. Разница заключается в том, что некробиоз выросших клеток при температурной стимуляции регистрируется на коротком отрезке времени, но зато носит более выраженный характер. Число свободнолежащих ооцитов заметно увеличивается на промежуточных этапах и сокращается к концу опытов.

Гаметы, готовые к вымету: у морского ежа - зрелые яйца, у приморского гребешка - ооциты с законченными процессами протоплазматического и трофоплазматического роста. Наглядным показателем прогрессирующего развития гонады следует считать закономерное увеличение средних объемов клеток, постоянство ядерно-плазменных, ядерно-ядрышковых отношений на протяжении роста ооцитов и уменьшение ядерно-плазменного коэффициента в зрелых яйцеклетках.

Изменение клеточного состава в актинусах самцов и коэффициент зрелости гонады. При сперматогенезе как у приморского гребешка, так и у черного морского ежа в моно- и поликультуре дифференцировка в актинусах идет от периферии к центру. На базальной мембране располагается сперматогонии, образуя зону размножения. За ней преимущественно располагается зона роста, которая

представлена сперматоцитами I и II порядка. Далее в центре ацинусов сперматиды и спермии образуют зону формирования. Зрелость желез определяется двумя показателями: величиной зоны формирования и плотностью распределения в них клеточных элементов. В процессе температурной стимуляции в моно- и поликультуруре происходит активация сперматогенеза. Прежде всего заметно расширяется зона роста и формирования, к концу опытов зрелость гонад увеличивается.

У грацилярии бородавчатой в ходе температурной стимуляции в моно- и поликультуре по мере нарастания биомассы таллома на нем образуются органы размножения, в которых происходит формирование зрелых половых элементов.

Таким образом, биомасса гонад беспозвоночных и талломов водоросли, рост и созревание гамет, свидетельствуют о том, что температура стимулирует развитие репродуктивных систем гидробионтов, при этом в поликультуре некоторые основные ее показатели, например, такие как количество гамет в ацинусах, карпоспор в цистокарпах, а также ряд других показателей выше, чем в монокультуре (рис. I-3).

Проведенные цитохимические исследования гамет, полученных у гидробионтов в моно- и поликультуре в результате температурной стимуляции, преследовали одну цель: доказать, что по содержанию определенных химических веществ они ничем не отличаются от гамет, сформировавшихся в обычных природных условиях. Для решения поставленной задачи выбор веществ ограничивался их значением в процессе дифференцировки ооцитов. В этой связи изучали ДНК, РНК, белки, т.е. вещества, характеризующие пластические функции клетки. Исследования полисахаридов и мукополисахаридов клетки должны были дать представление об образовании желтка, а оксипродукта - об уровне энергетических функций газ-

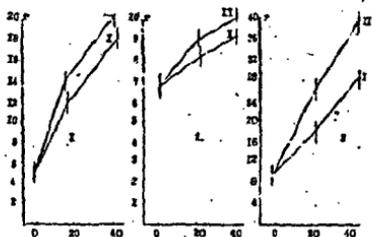


Рис.1. Изменение биомассы гонимки у чёрного морского ежа (I), у приморского гребешка (2) и биомасса галлома у грацилярии бородавчатой (3). I - в монокультуре, II - в поликультуре. По оси абсцисс - сутки, по оси ординат - биомасса в г.

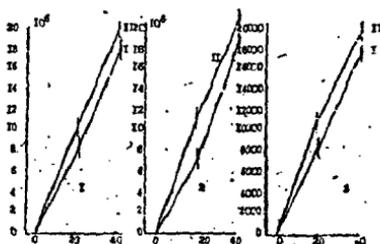


Рис.2. Плодовитость и споровая продукция у гидробионтов. I - плодовитость у чёрного морского ежа, 2 - плодовитость у приморского гребешка, 3 - споровая продукция у грацилярии бородавчатой. По оси абсцисс - сутки, по оси ординат - гаметы.

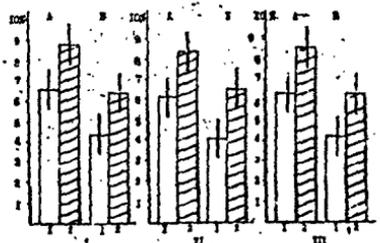


Рис.3. Развитие проростков грацилярии бородавчатой на морской плантации. I - развитие на глубине от поверхности моря 50 см, II - развитие на глубине от поверхности моря 100 см, III - развитие на глубине от поверхности моря 150 см. А - прирост биомассы в % в сут, Б - увеличение линейных размеров в % в сут. I - от монокультуры, 2 - от поликультуры.

вивающихся ооцитов и зрелых яйцеклеток в моно- и поликультуре.

Проведенные цитохимические исследования не оставляют сомнения в том, что химическая дифференцировка гамет у морских ежей и моллюсков в моно-, поликультуре и в природных условиях происходит однотипно. Этот вывод сделан на основании того, что по интенсивности окраски, распределению, времени накопления и наибольшей концентрации РНК, суммарных и основных белков, липидов, гликогена, нейтральных и кислых мукополисахаридов, а также по активности сукцинатоксидоредуктазы и цитохромоксидазы в изученных клетках различий не наблюдается.

Эмбриологические наблюдения в процессе экспериментальных исследований доказали окончательную полноценность гамет у гидробионтов, полученных в моно- и поликультуре методом температурной стимуляции. У приморского гребешка ранний онтогенез из гамет, полученных как из моно-, так и поликультуры протекал без видимых морфологических изменений по стадиям развития. Вместе с тем следует отметить, что выживаемость эмбрионов на последней стадии развития была в два раза больше из поликультуры (рис.4).

У черного морского ежа в процессе раннего эмбриогенеза видимых морфологических различий по стадиям развития не отмечалось между организмами, развивавшимися из гамет, полученных от производителей из моно- и поликультуры, тем не менее, в поликультуре ежей формировалось больше (рис.4).

Развитие проростков грацилярии бородавчатой из спор от слоевищ из моно- и поликультуры протекало без видимых морфологических изменений по стадиям онтогенеза. Проростков формировалось на 15% больше от тех спор, что были получены из слоевищ сообщества (рис.4).

На основании морфологических, морфометрических, цитохими-

ческих и эмбриологических исследований был сделан вывод о том, что гаметы, полученные у гидробионтов в моно- и поликультуре в результате температурной стимуляции гаметогенеза, являются вполне полноценными и в этом отношении они не отличаются от гамет, сформировавшихся в природе. У гидробионтов в поликультуре, по сравнению с монокультурой повышаются продукционные возможности, что выражается в нарастании биомассы гонад и талломов водоросли, увеличения числа ацинусов на единицу площади гонады, изменения клеточного состава в ацинусах самки и самца, повышением выживаемости эмбрионов в ходе раннего онтогенеза. Проведенные нами сравнительные исследования по развитию гидробионтов в садках на морской плантации (рис. 3, 5-6) показали, что темп роста молоди и ее выживаемость выше у тех, что развивались из гамет, полученных от организмов из сообщества. Все это свидетельствует о том, что потенции гамет гидробионтов, сформировавшиеся в процессе температурной стимуляции, наиболее полно реализуются у организмов от поликультуры.

МОРФО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСНОВЫ ХИМИЧЕСКИХ КОММУНИКАЦИЙ ГИДРОБИОНТОВ В ПРОЦЕССЕ ИХ ОНТОГЕНЕЗА

Проведенные нами экспериментальные исследования показали, что развивающиеся в искусственном сообществе организмы улавливают мельчайшие различия в химическом фоне водной среды, которые создаются их жизнедеятельностью. В связи с этим онтогенез гидробионтов в искусственном сообществе протекает, видимо, под воздействием метаболической регуляции. Постоянный обмен внутренней и внешней среды гидробионтов доказывается прямыми наблюдениями. Это создает предпосылки для развития системы коммуникации между организмами, основанной на изменении химизма среды, специфика которой определяется особенностями обмена ве-

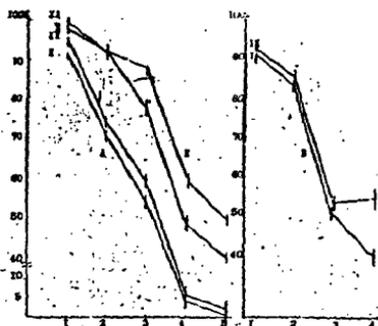


Рис.4. Выживаемость организмов по стадиям в ходе раннего онтогенеза. А - у приморского гребешка, Б - у черного морского ежа, В - у грацилярии бородавчатой. I - от монокультуры, II - от поликультуры. По оси абсцисс - стадии развития организмов, по оси ординат - выживаемость организмов в %. Для приморского гребешка: 1 - зигота, 2 - трохофора, 3 - велигер, 4 - великонка, 5 - спял. Для черного морского ежа: I - зигота, 2 - плутеус первой стадии, 3 - плутеус второй стадии, 4 - плутеус третьей стадии, 5 - еж. Для грацилярии бородавчатой: I - два бластомера, 2 - диск, 3 - купол, 4 - проросток.

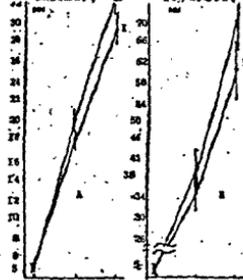


Рис.5. Линейный рост черного морского ежа (А) и приморского гребешка (Б) в садках на морской плантации. I - от монокультуры, II - от поликультуры. По оси абсцисс - время нахождения в садках: I - перед помещением, 2 - к концу первого года, 3 - к концу второго года. По оси ординат - линейный размер животных в мм.

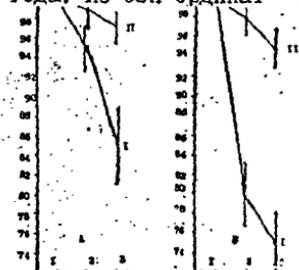


Рис.6. Выживаемость черного морского ежа (А) и приморского гребешка (Б) в садках на морской плантации. По оси абсцисс - период нахождения в садках: I - перед помещением в садки, 2 - к концу первого года, 3 - к концу второго года. По оси ординат - выживаемость беспозвоночных в %. I - от монокультуры, II - от поликультуры.

ществ гидробионтов, формирующего сообщество. Система связей между гидробионтами в сообществе, которую мы предлагаем назвать "метаболической", могла явиться основой для специализированных взаимодействий форм по типу феромонов.

Типичные гуморальные регуляторы процессов, протекающих внутри организма, - гормоны работают в сообществе и как "экзо-регуляторы". Так, внесение в воду хорионического гонадотропина стимулирует, а Д-тубокурарина блокатора Н-зависимых рецепторов задерживает репродукцию гамет (Евдокимов, Хотимченко, 1979; Хотимченко, 1980, 1989; Викторовская и др., 1985; Мотавкин, Хотимченко, 1990). Мы полагаем, что химические коммуникации между организмами осуществляются сигналами двух типов: 1) продуктами обмена веществ гидробионтов, которые создают химический фон, определяющий развитие отдельных видов и развитие сообщества в целом; 2) феромонами - специальными веществами строго определенного физиологического назначения. Между этими группами веществ нет резких границ. В качестве сигнала могут быть использованы любые продукты метаболизма организмов. При этом под "феромонами" понимаются вещества, работающие в качестве средств химической коммуникации между особями одного вида (Arthur, 1970; Sondheimer, Simeone, 1970). Метаболическая же регуляция - понятие менее специфическое и, следовательно, более широкое.

В изучаемом нами искусственном сообществе среди разнообразия биологически активных веществ и спектра аминокислот, в том числе выделяемых в водную среду водорослями, гамма-аминомасляная кислота является положительно действующим специфическим нейротрансмиттером на репродуктивные системы иглокожих и двусторчатых моллюсков. О специфическом положительном действии данного нейротрансмиттера на репродуктивный процесс беспозво-

точных свидетельствуют также экспериментальные исследования, проводимые на Черном море (Орленко, 1990). Более быстрое созревание ооцитов у гидробионтов в поликультуре, чем в монокультуре, доказывает воздействие экзометаболитов (в частности гамма-аминомасляной кислоты) на гаметогенез гидробионтов, возможно через их нейрогуморальную регуляцию. В литературе имеются сведения о наличии рецепторов к нейротрансмиттерам на поверхности ооцитов позвоночных (Miledi, 1980; Eusebi et al., 1984), предполагают, что ооциты беспозвоночных содержат рецепторы к внутриклеточным регуляторам. Наличие таковых к дофамину было показано в цитоплазме ооцитов приморского гребешка, морского ежа и звезд (Хотимченко, 1989). В течение гаметогенеза у иглокожих и моллюсков под воздействием сигналов (экзометаболитов) среды формируются внутриклеточно моноаминергическая, холинергическая, пептидергическая и стероидная регуляции, которые контролируют процесс созревания ооцитов, оплодотворения и раннего зародышевого развития (Бузников, 1977; Мотавкин, Вараксин, 1983; Хотимченко, 1989), этим можно объяснить увеличение плодовитости у гидробионтов в сообществе и повышение жизнестойкости от них эмбрионов.

В исследуемом нами сообществе помимо специфических нейротрансмиттеров типа гамма-аминомасляной кислоты водорослями выделяются другие биологически активные вещества, которые также являются нейротрансмиттерами, но выраженного воздействия в поликультуре на жизнедеятельность беспозвоночных не проявляют. В качестве примера могут служить исследованные нами помимо гамма-аминомасляной - глутаминовая, аспарагиновая кислоты и таурин (рис.7-9), которые также являются нейротрансмиттерами (Немечек, 1978). Согласно литературным данным, в зависимости от экологических условий, состава организмов, населяющих сообщество, вы-

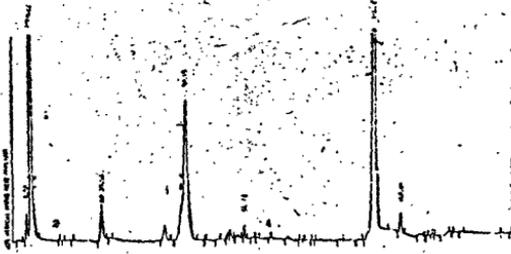


Рис.7. Выход свободных аминокислот из грацилярии бородавчатой, мг/г. 1. Таурин - 0,0013; 2. Аспарагиновая кислота - 0,00015; 3. Глутаминовая кислота - 0,0006; 4. Гамма-аминомасляная кислота - 0,00014.

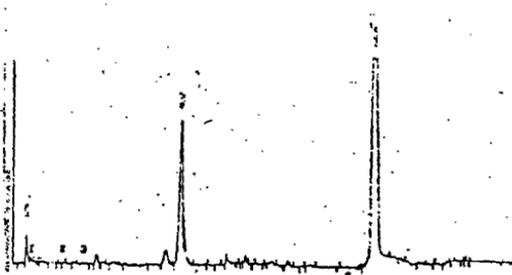


Рис.8. Выход свободных аминокислот из ламинарии цикоревидной, мг/г. 1. Таурин - 0,0029; 2. Аспарагиновая кислота - 0,00025; 3. Глутаминовая кислота - 0,0014.



Рис.9. Выход свободных аминокислот из тихокарпуса косматого, мг/г. 1. Таурин - 0,002.

деляемые водорослями биологически активные вещества могут обладать либо избирательной токсичностью и отрицательно влиять на развитие беспозвоночных (La Lond et al., 1979), либо положительно - активизировать развитие особей (Kanzo and Ina, 1985; Araki et al., 1986). Все это касается экзометаболитов водоросли по отношению к беспозвоночным.

Если рассматривать экзометаболиты, выделяемые беспозвоночными, с точки зрения их специфичности воздействия по отношению к водорослям, то необходимо отметить следующее. Выделяемые с экскретами беспозвоночных азот, фосфор, аммиак и другие вещества являются важными составными компонентами для жизнедеятельности водорослей. В итоге действия этих специфических метаболитов, в водоросли повышается количество и качество агара. О специфическом положительном воздействии экзометаболитов беспозвоночных на жизнедеятельность водоросли свидетельствуют проводимые рядом исследователей эксперименты в искусственных условиях (Полищук, Алисеевич, 1987), которые констатируют, что для выживания популяции грацилярии гетерогенное питание имеет решающее значение. Наблюдения, проводимые в естественной среде на плантациях марикультуры, показывают, что выделяемые из экскреции моллюсков соединения биогенных элементов меняют содержание фосфора и азота в воде и влияют на развитие водорослей в аквакультурах (Vincendian, Robert, 1987; Григорьева, Золотова, 1988).

Рассмотренные нами экзометаболиты, согласно нашей классификации, относятся к сигналам первого типа. Но они могут при определенных экологических условиях выступать и в качестве сигналов второго типа - феромонов. Примером может служить исследованная нами гамма-аминомасляная кислота. Помимо ее специфического воздействия на потенции гамет гидробионтов сообществ

ва, она способствует оселанию молодежи беспозвоночных на коллектора. Эти наши экспериментальные наблюдения подтверждаются литературными данными (Kunze and Ina, 1985; Araki et al., 1986), где отмечается, что экзометаболиты выступают одновременно и как феромоны, привлекающие молодежь определенных беспозвоночных. Действием феромонов, вероятно, можно объяснить скопление морских ежей, моллюсков и других гидробионтов в период нереста и синхронность вылета их половых продуктов, что обеспечивает успешное оплодотворение выпускаемых в воду гамет. Все это дает основание считать, что метаболические сигналы, регулирующие процесс онтогенеза у вида, объединяют сообщество в целесообразно реагирующее единое целое на изменение внешней среды, что является частью стратегии размножения у двусторчатых моллюсков и иглокожих (Касьянов, 1989).

Следует отметить, что несмотря на многосторонний эффект действия экзометаболитов, в его основе лежат простейшие закономерности: специфические метаболиты определяют уровень метаболизма и митотической активности отдельных клеток ткани. Справедливость данного вывода доказывают проведенные нами гистологические и биохимические исследования, подтвердившие действие метаболитов, в изучении воздействия метаболического фона в сообществе на репродуктивную активность гидробионтов. Становится очевидным, что у гидробионтов химическая сигнализация, осуществляемая на экзометаболической основе, определяет наиболее фундаментальные процессы, протекающие в живом организме: рост, развитие, метаморфоз. Причем, те самые механизмы, которые регулируют рост и дифференциацию клеток и тканей, регулируют и развитие особей в сообществе. Конкретное выражение этих механизмов может быть различным (Шварц, Пястолова, 1970).

Можно надеяться, что изученные представления о метаболичес-

кой регуляции процессов сообщества будет иметь принципиальное значение для развития хозяйств марикультуры. Практический выход тех закономерностей размножения гидробионтов, которые мы стремились обосновать, сводятся к рекомендациям, касающимся формирования оптимальных условий для жизнедеятельности гидробионтов в сообществе, под воздействием определенных биотических и абиотических факторов в контролируемых условиях. В искусственно сформированном сообществе, при создании оптимальных условий продукционные возможности организмов повышаются, что позволяет с определенной площади получать максимальную продукцию. Это принципиально новый путь регуляции природных процессов, "метаболити" по своей природе специфичны и поэтому абсолютно безопасны с экологической точки зрения. По мнению Шварца (1969) и Барбье (1978), вместо пассивной охраны природы следует работать по созданию оптимальной природной среды, продуктивных и стабильных биогеоценозов, способных к саморегулированию. Выполненная нами работа посвящена данному направлению.

Таким образом, у организмов в процессе эволюции выработалась совершенная система связи, основанная на метаболической сигнализации. Эта усовершенствованная система, с нашей точки зрения, работает и в искусственном сообществе. Становление многоклеточных, как принципиально нового типа организация жизни, оказалось возможным лишь на основе уже существующей системы между элементами целого: организм многоклеточных унаследовал популяционные механизмы регуляции роста и развития клеток. Можно предположить, что основные механизмы регуляции размножения у двусторчатых моллюсков и иглокожих одинаковы и, вероятно, они сформировались до разделения гермичноротых и вторичноротых на две эволюционные ветви.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ биологии размножения исследуемых гидробионтов в естественных условиях позволил выявить зависимость их половой активности от биотических и абиотических факторов среды. Они влияют прямо, путем повышения общей активности и косвенно - через эндогенные механизмы регуляции гонадогенеза (Мотавкин, Бараксин, 1983; Motavkine et Baraksine, 1989; Мотавкин, Хотимченко, 1990). Ведущим инициатором и синхронизатором развития гонады у беспозвоночных животных является температура (Giese, 1976). Этот фактор был использован нами для стимуляции созревания гамет у гидробионтов. В свою очередь циклические изменения в гонаде исследуемых организмов дают все основания считать, что репродукция гамет возможна в значительно более короткое время, чем это наблюдается в природе. Наличие в гонаде самок асинхронного созревания ооцитов, а в гонаде самцов - постоянно зрелых спермиев, дало основание надеяться, что в условиях оптимальной искусственной среды возможно полное или частичное созревание половых желез. Поскольку различные стадии гаметогенеза у гидробионтов требуют своей оптимальной температуры, смысл эксперимента заключался в том, чтобы в контролируемых условиях у морского ежа, приморского гребешка и грацилирии бородавчатой в моно- и поликультуре воспроизвести годовые колебания температуры воды в сжатые время, не изменяя по возможности остальные факторы внешней среды: концентрацию водородных ионов, смену дня и ночи, питание. Используя этот метод, в лабораторных условиях были определены для гаметогенеза гидробионтов оптимальные температурные режимы. Установлены особенности содержания исследуемых гидробионтов в контролируемых условиях с целью получения у них зрелых гамет.

С помощью метода температурной стимуляции изучены потенциальные возможности гидробионтов в моно- и поликультуре. Проанализировано, как формируются в искусственном сообществе гаметы в период собственных адаптаций под экзометаболическим воздействием и проявляют свои потенции в ходе индивидуального развития. Получение такой информации необходимо для выявления репродуктивных возможностей гидробионтов при их воспроизводстве в хозяйствах марикультуры с применением доуинтенсивной биотехнологии.

В результате температурной стимуляции получено ускоренное созревание гамет у гидробионтов в моно- и поликультуре в различные сезоны года. Наибольший интерес представляла попытка добиться созревания половых клеток у организмов вслед за естественным нерестом и тем самым доказать возможность ооцитов, формирующихся осенью, превращаться за короткое время в зрелые гаметы. В опытах было показано, что зрелые гаметы у этих гидробионтов появляются на 20 суток после температурной стимуляции, число клеток в дальнейшем увеличивается и заканчивается их выметом. Этот искусственный нерест следует за естественным в том же году, и поэтому с полным основанием может быть назван повторным.

Проще и успешнее температурной стимуляцией поддавались гидробионты в моно- и поликультуре, взятые в опыт весной. Это, вероятно, объясняется тем, что у организмов их репродуктивные системы уже вступили в фазу планомерного развития. Температурная стимуляция лишь приближает время нереста, который неминуемо наступил бы в естественной среде.

Анализируя собственные и литературные данные, мы установили, что формирование половых клеток у гидробионтов в контролируемых условиях моно- и поликультуры происходит аналогично как

и в природе, но за более короткий срок. В процессе температурной стимуляции гаметогенеза как в моно-, так и в поликультуре происходит достоверное увеличение биомассы гонады, размеров ацинусов, увеличивается коэффициент зрелости гонады, начинают преобладать зрелые половые клетки. В поликультуре данные показатели выше, чем в монокультуре, что связано с экзосметаблическим взаимодействием гидробионтов.

Доказано воздействие биологически активных веществ, выделяемых грацилярией, на репродуктивный процесс гидробионтов. Показано, что повышение качества агара у водоросли происходит за счет создания оптимального режима ее питания в результате выделения экзосметаболитов беспозвоночных.

Наглядным показателем нормального развития гамет у гидробионтов как в моно-, так и в поликультуре следует считать закономерное увеличение их средних объемов, постоянство ядерно-плазматических отношений на протяжении роста ооцитов. Качественными цитохимическими исследованиями установлено, что в монокультуре и сообществе у животных процессы химической дифференцировки в половых клетках не отличаются от тех явлений, происходящих в половых клетках, формирующихся в природе. На самом деле, высокая концентрация РНК в ооцитах падает в зрелых яйцеклетках, прогрессивно увеличивается содержание суммарных белков, фосфолипидов, меняется количество и качество гликогена, нарастает активность основных оксидоруктаз - цитохромоксидазы и сукцинатдегидрогеназы.

Для доказательства полноценности гамет, полученных опытным путем в моно- и поликультуре, большую роль играет эмбриологический метод. Было установлено, что развитие гидробионтов до сформировавшейся молодежи протекало согласно закономерностям, характерным для данных видов. При этом выживаемость гидробион-

ходимой и существенной частью биологического обоснования для развития поликультурного хозяйства в контролируемых условиях.

ВЫВОДЫ

1. Общая и репродуктивная активность исследуемых гидробионтов зависит от температуры среды. Каждая стадия полового цикла гидробионтов требует своей оптимальной температуры, поэтому для начала и полного завершения гаметогенеза необходим промежуток времени, на протяжении которого в контролируемых условиях следует создать все основные перепады года, аналогичные естественным.

При воспроизведении в контролируемых условиях части или всей годовой температуры в более сжатые сроки у гидробионтов происходит ускоренный гаметогенез, который может закончиться повторным или преждевременным нерестом. Метод температурной стимуляции может быть использован у исследуемых гидробионтов для получения зрелых половых клеток по потребности в течение всех сезонов года.

2. В ооцитах гидробионтов по мере их роста концентрация цитоплазматических белков и нейтральных липидов не изменяется, в то же время увеличивается количество фосфолипидов и гликогена. В целом на протяжении оогенеза общее содержание цитоплазматических белков, липидов и гликогена непрерывно повышается пропорционально объему клетки.

3. Половые клетки у исследуемых гидробионтов как в моно-, так и в поликультуре по содержанию химических веществ ничем не отличаются от гамет, сформировавшихся в природных условиях. Направленность изменений в дифференцировке гамет связана с видовыми особенностями организмов.

У водоросли в поликультуре повышается качество агара, о

тов в процессе индивидуального развития была выше у организмов, развивающихся из гамет, полученных от производителей, культивируемых в сообществе.

Содержание гидробионтов — морского ежа, приморского гребешка и грацилярии бородавчатой на морской плантации показало, что увеличивается темп роста гидробионтов из половых продуктов, полученных от организмов в поликультуре. Развитие гонады, цистокарпы, созревание половых клеток происходило в обычные для этих гидробионтов сроки без морфологических изменений.

Таким образом, проведенные исследования на морском еже, приморском гребешке и грацилярии бородавчатой в моно- и поликультуре показали, что в контролируемых условиях у организмов в сообществе увеличиваются продукционные возможности. Это выражается в повышении плодовитости производителей, увеличении относительного числа оплодотворенных яйцеклеток, жизнестойкости эмбрионов и молоди, повышенным темпом роста молоди в садках. Увеличение продукционных возможностей при воспроизводстве гидробионтов в поликультуре достигается за счет максимальной утилизации органического вещества всех форм. Основными преимуществами поликультуры по сравнению с монокультурой является возможность одновременного получения разнородных продуктов высокого качества.

В работе сформулирована концепция функционирования репродуктивных органов при экзометаболическом взаимодействии гидробионтов, из которой следует, что в условиях метаболической стимуляции проявляется повышенная реализация потенций гамет гидробионтов в искусственно созданном сообществе.

Полученная информация о потенциальных возможностях исследованных гидробионтов в искусственном сообществе является несом-

чем свидетельствует повышение его гелевой прочности почти вдвое.

4. Метаболиты как регуляторы жизненных процессов в сообществе воздействуют на рост и созревание ооцитов через поверхностные рецепторные структуры половой клетки, которые на протяжении оогенеза являются функционально активными. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что гаметы, полученные у гидробионтов из сообщества и монокультуры в процессе экспериментальной регуляции гаметогенеза, полноценны. Это доказано: а) морфологическими исследованиями гамет в гонаде на протяжении гаметогенеза; б) анализом сравнительной дифференцировки половых клеток; в) отсутствием отклонений в онтогенезе; г) закономерными темпами роста и развитием молоди гидробионтов в садках на морской плантации.

5. Выделяемые гидробионтами в среду продукты обмена веществ создают химический фон, который определяет ход роста и развития организмов. Из идентифицированных аминокислот, выделяемых грацилярией, стимулирующим эффектом на репродуктивную систему беспозвоночных обладает гамма-аминомасляная кислота. Экспериментальные данные доказывают, что выделяемый грацилярией ГАМК (на фоне температурной стимуляции) вовлечен в регуляцию роста и созревания ооцитов у гидробионтов и повышает потенции формирующихся гамет. В связи с этим в поликультуре, по сравнению с монокультурой, повышается плодовитость производителей, увеличивается относительное число оплодотворенных яйцеклеток, повышается жизнестойкость и выживаемость эмбрионов и молоди.

6. В основе действия метаболической активности на репродуктивный процесс гидробионтов в сообществе находятся специфические экзосметаболиты, которые определяют уровень метаболизма и

митотической активности отдельных тканей. Экспериментальными данными показано, что продукционные возможности гидробионтов в поликультуре увеличиваются: у грацилярии за счет экзосметаболитов беспозвоночных, создающих оптимальный режим ее питания; у беспозвоночных в результате стимулирующего воздействия биологически активных веществ, которые в среду обитания выделяют водоросли.

7. Основные механизмы метаболической регуляции размножения у двустворчатых моллюсков и иглокожих принципиально одинаковы и, вероятно, они сформировались до разделения первичноротых и вторичноротых на две эволюционные ветви. В связи с этим биологические основы поликультуры в контролируемых условиях определяются следующим: в поликультуру должны вводиться организмы разных трофических уровней, не конкурирующие за пищу; организмы должны составлять единую пищевую цепь, в которой происходит перенос и утилизация экзосметаболитов. Поликультура управляется путем изменения количества представителей определенных видов в сообществе и воздействия на них определенными абиотическими факторами.

СПИСОК ОСНОВНЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Вараксия Г.С., Гнездилова С.М., Евдокимов Е.В., Новикова Г.П. Сезонная характеристика и экспериментальная регуляция гаметогенеза у иглокожих // Биология морских моллюсков и иглокожих. - Владивосток, 1974. - С.26-29.

2. Мотавкин П.А., Вараксия А.А., Гнездилова С.М., Евдокимов Е.В. Экспериментальная регуляция гаметогенеза // VIII Всесоюзный съезд анатомов, гистологов и эмбриологов: Тезисы докладов. - Ташкент, 1974. - С.266.

3. Мотавкин П.А. и Евдокимов Е.В. Получение у морского гая

в искусственных условиях зрелых половых клеток и их функциональная характеристика // Биология моря.- 1975.- № 1.- С.58-67.

4. Мотавкин П.А. и Евдокимов В.В. Экспериментальная регуляция оогенеза у морских ежей // Цитология.- 1976.- Т.ХУШ.- № 1.- С.22-26.

5. Евдокимов В.В. Полуавтоматический аквариум // Экспериментальная экология морских беспозвоночных.- Владивосток, 1976.- С.64-66.

6. Евдокимов В.В. и Хотимченко Ю.С. Влияние температуры и некоторых других факторов на гаметогенез морских ежей // Экспериментальная экология морских беспозвоночных.- Владивосток, 1976.- С.67-69.

7. Евдокимов В.В. и Крещикова Г.А. Гибридные личинки морских ежей рода *Strongylocentrotus* // Систематика, эволюция и распространение современных и вымерших иглокожих.- Д., 1977.- С.23-24.

8. Мотавкин П.А., Евдокимов В.В. Экспериментальная регуляция гаметогенеза и получение зрелых половых клеток у иглокожих в искусственных условиях // I Съезд советских океанологов.- М.: Наука, 1977.- Вып.2.- С.145.

9. Мотавкин П.А., Евдокимов В.В. Гибридные морские ежи рода *Strongylocentrotus* // Доклады АН СССР.- 1978.- Т.241.- № 6.- С.1451-1453.

10. Евдокимов В.В., Хотимченко Ю.С. Регуляция репродуктивных процессов у морского ежа *Strongylocentrotus nudus* // Материалы IV Всесоюз.коллоквиума по иглокожим.- Тбилиси, 1979.- С.76-79.

11. Бараксин А.А., Евдокимов В.В., Мотавкин П.А., Хотимченко Ю.С. Эколого-физиологические аспекты регуляции гаметогенеза у иглокожих, малесков // XIV Тихоокеанский науч. конгресс.- 1979.-

1979.- С.111-112.

12. Евдокимов В.В. Морские ежи из половых клеток, полученных методом температурной стимуляции // Цитологические исследования морских организмов.- Владивосток, 1979.- С.55-56.

13. Евдокимов В.В. Гибридные морские ежи // Состояние и перспективы развития морфологии.- М.: Наука, 1979.- С.175-176.

14. Евдокимов В.В. Онтогенез морских ежей из половых клеток, полученных методом температурной стимуляции // VI Всесоюз. совещание эмбриологов.- М.: Наука, 1981.- С.57.

15. Евдокимов В.В., Викторовская Г.И. Экспериментальная регуляция гаметогенеза некоторых морских промысловых беспозвоночных // II Всесоюз. съезд океанологов: Тезисы докладов.- Ялта, 1982.- С.120-121.

16. Евдокимов В.В. Изучение формирования гонад и происхождение гоноцитов у мидий *Pecten* в связи с их воспроизводством // Проблемы рационального использования промысловых беспозвоночных.- Калининград: Атлант.НИИ рыб.хоз-ва и океанографии.- 1982.- С.95-97.

17. Евдокимов В.В. Гибридные морские ежи рода *Strongylocentrotus* из половых клеток, полученных в искусственных условиях // Сравнительная морфология, эволюция и распространение современных и вымерших иглокожих.- Львов: Гос.природоведческий музей АН СССР, 1983.- С.25-26.

18. Евдокимов В.В. Экспериментальное изучение онтогенеза некоторых объектов марикультуры в моно- и поликультуре в связи с их воспроизводством // IV Всесоюз.совещание по научно-техническим проблемам марикультуры: Тезисы докладов.- Владивосток, 1983.- С.22-23.

19. Викторовская Г.И., Евдокимов В.В. Получение у приморского гребешка в искусственных условиях зрелых половых клеток и

их функциональная характеристика // IV Всесоюз. совещание по научно-техническим проблемам марикультуры: Тезисы докладов.- Владивосток, 1983.- С.145-146.

20. Викторовская Г.И., Евдокимов В.В., Мотавкин П.А. Способ получения половых продуктов двусторчатых моллюсков.- Авторское свидетельство на изобретение, № 1083991.- 1983.

21. Викторовская Г.И., Евдокимов В.В., Мотавкин П.А. и др. Способ задержки нереста морского гребешка.- Авторское свидетельство на изобретение, № 1223865.- 1985.

22. Викторовская Г.И., Евдокимов В.В. Получение половых клеток у приморского гребешка в искусственных условиях и их функциональная характеристика // IV Всесоюз. конференция по промышленным беспозвоночным: Тезисы докладов.- Севастополь, 1986.- С.195-196.- Ч.П.

23. Евдокимов В.В. Перспектива воспроизводства морских организмов в поликультуре // IV Всесоюз. конференция по промышленным беспозвоночным: Тезисы докладов.- Севастополь, 1986.- С.10-11.- Ч.1.

24. Евдокимов В.В. Изучение онтогенеза некоторых хозяйственно ценных объектов марикультуры в моно- и поликультуре при их воспроизводстве // Марикультура на Дальнем Востоке.- Владивосток: ТИНРО, 1986.- С.106-114.

25. Евдокимов В.В. Поликультура - основа воспроизводства хозяйственно ценных морских организмов // III Съезд советских океанологов.- Л., 1987.- С.162-163.

26. Викторовская Г.И., Евдокимов В.В. Действие Е-куранина на гаметогенез приморского гребешка // УШ Всесоюз. совещание по изучению моллюсков.- Л., 1987.- С.361-362.

27. Евдокимов В.В. Сравнительное исследование эффективности моно- и поликультуры при воспроизводстве хозяйственно ценных

морских гидробионтов // Сырьевые ресурсы и биологические основы рационального использования промысловых беспозвоночных.- Владивосток, 1988.- С.88-89.

28. Евдокимов В.В. Онтогенез некоторых хозяйственно ценных морских гидробионтов в моно- и поликультуре // Симпозиум по онтогенезу морских беспозвоночных.- Владивосток, 1988.- С.31.

29. Викторовская Г.И., Евдокимов В.В. Экспериментальная регуляция гаметогенеза у приморского гребешка // Биология культивирования моллюсков.- М., 1989.- С.3-10.

30. Евдокимов В.В. Онтогенез приморского гребешка в моно- и поликультуре.- Депонирована.- № I(207), М., 1989.- С.148.- № 966 рх-88.- С.1-33.

31. Евдокимов В.В. Онтогенез морского ежа в моно- и поликультуре.- Депонирована.- № I(207), М., 1989.- С.149.- № 973 рх-88.- С.1-30.

32. Евдокимов В.В. Развитие гравлярии бородаччатой в моно- и поликультуре.- Депонирована.- № I(207), М., 1989.- С.148.- № 967 рх-88.- С.1-10.

33. Мотавкин П.А., Вераксин А.А., Вераксия Г.С. и др. Методы регуляции гаметогенеза и нереста двусторчатых моллюсков и иглокожих в практике мариккультуры // Тезисы докладов международного симпозиума по современным проблемам мариккультуры в социалистических странах.- М., 1989.- С.73-75.

34. Евдокимов В.В. Сравнительное исследование эффективности размножения гидробионтов в моно- и поликультуре при их воспроизводстве в контролируемых условиях // Тезисы докладов международного симпозиума по современным проблемам мариккультуры в социалистических странах.- М., 1989.- С.19-20.

35. Евдокимов В.В. Взаимодействие гидробионтов в сообществе при воспроизводстве в искусственных условиях.- Депонирова-

на. - № I (219), М., 1990. - С.90. - № 1064 рх-89. - С.1-15.

36. Евдокимов В.В. Взаимодействие гидробионтов в искусственном сообществе // У Всесоюз.конференция по промышленным беспозвоночным: Тезисы докладов. - М., 1990. - С.11-12.

