На правах рукописи

Новосадова
Александра Викторовна

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ ОСЕТРОВЫХ РЫБ У ПОТОМСТВА КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

03.02.06 – ихтиология

28 НОЯ 2013

Автореферат
диссертации на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

005540070

Москва – 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном унитарном предприятии «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГУП «ВНИРО»), г. Москва

Научный руководитель:	доктор биологических наук, профессор **Микодина Екатерина Викторовна** ФГУП «ВНИРО», главный научный сотрудник
Официальные оппоненты:	доктор биологических наук, профессор **Панов Валерий Петрович** ФГОУ ВПО «Российский государственный аграрный университет – Московская сельскохозяйственная академия им. К.А. Тимирязева» (РГАУ-МСХА), профессор кафедры
	доктор сельскохозяйственных наук **Жигин Алексей Васильевич** ФГУП «ВНИРО», главный научный сотрудник
Ведущая организация:	ФГБУН «Институт проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова» (ИПЭЭ) РАН

Защита состоится 20 декабря 2013 г. в 11^{00} на заседании диссертационного совета Д 307.004.01 при Всероссийском научно-исследовательском институте рыбного хозяйства и океанографии (ФГУП «ВНИРО») по адресу: 107140, г. Москва, ул. Верхняя Красносельская, д. 17.

Факс 8 (499) 264-91-76, электронный адрес: sedova@vniro.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИРО.

Автореферат разослан 19 ноября 2013 г.

Учёный секретарь
диссертационного Совета,
кандидат биологических наук Седова Марина Александровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. К началу XXI века сокращение площади нерестилищ, доступных для осетровых рыб, ухудшение среды обитания вследствие хозяйственной деятельности человека, нерациональный промысел, незаконный, неучтённый и нерегулируемый (ННН) вылов привели к сокращению численности всех популяций настолько, что прекращён промышленный лов (Ласкорин, Лукьяненко, 1990; Ходоревская, Романов, 2006; Ходоревская и др., 2007). Снижение численности представителей сем. Acipenseridae, сбой биологических ритмов размножения и антропогенное загрязнение привели к сокращению количества и ухудшению качества производителей и их потомства (Лагунова, 1989; Романов и др., 1990, 1996; Соколова и др., 1995; Рубан, 1999; Лепилина, 1997, 2004; Акимова и др., 2004).

Начиная с середины XX века, искусственное воспроизводство осетровых в нашей стране является основным источником пополнения естественных популяций (Баранникова и др., 2001; Ходоревская, Романов, 2006). В последние 30 лет оно также используется для производства товарной рыбы.

Однако созданный в России в середине XX века воспроизводственный комплекс осетровых, изначально базировавшийся на использовании природных популяций, в настоящее время в связи с острым дефицитом диких особей уже переходит на качественно новый источник получения потомства – производителей из специально формируемых маточных стад (Баранникова, Белоусов, 2002; Бурлаченко и др., 2011). Одна из основных задач оптимизации искусственного воспроизводства осетровых рыб с использованием маточных стад – получение морфологически и функционально полноценной молоди.

В отличие от диких самок и самцов осетровых, использовавшихся ранее в искусственном воспроизводстве, производители из маточных стад подвержены колебаниям абиотических факторов бóльшей амплитуды, что может снижать качество половых продуктов, отражаясь на полноценности потомства, однако подтверждений этому недостаточно (Лабенец, 2008). Морфологические нарушения в строении молоди осетровых, определяемые визуально,

используются в качестве тест-признаков эффективности разведения с использованием диких производителей (Подушка, Лёвин, 1988; Акимова и др., 2004), однако в отношении потомства осетровых рыб из маточных стад этот вопрос практически не исследован.

В настоящее время искусственное воспроизводство ценных видов рыб стало неотъемлемым, а в ряде случаев единственным источником пополнения запасов их природных популяций. В связи с этим, оценка качества получаемой на полноцикличных осетровых хозяйствах молоди является необходимой составляющей процесса воспроизводства, выступающей показателем качества производимой продукции.

Цель: качественная и количественная оценка морфологических аномалий в строении икры и молоди осетровых видов рыб, полученных от производителей из маточных стад.

Для её достижения решали следующие **задачи**:

1. исследовать аномалии микропиле ооцитов осетровых рыб, полученных от одомашненных и заводских самок и разработать их классификацию;

2. изучить распределение морфологических аномалий по типам на разных этапах развития потомства производителей осетровых рыб из маточных стад;

3. выявить частоту встречаемости особей с морфологическими нарушениями на разных этапах онтогенеза;

4. провести сравнительный анализ собственных и литературных данных о встречаемости аномалий морфологического строения молоди осетровых рыб, полученной от диких производителей.

Научная новизна. Впервые изучены патологии и определена частота их встречаемости в раннем онтогенезе осетровых рыб, полученных от производителей из маточных стад. В ооцитах русского *Acipenser gueldenstaedtii* и сахалинского *A. mikadoi* осетров впервые описана ультраструктура и аномалии микропиле, дана морфометрическая характеристика микропилярных

полей, в т.ч. на вегетативном полюсе у русского осетра. Создана первая классификация аномалий в строении микропиле осетровых рыб. Впервые выявлены нарушения развития и определена частота их встречаемости у шипа *A. nudiventris* на этапе вылупления.

Практическое значение. Морфология молоди осетровых рыб выступает одним из критериев оценки эффективности искусственного воспроизводства. Результаты работы могут служить основой для оптимизации условий эмбрионального и постэмбрионального развития, т.е. совершенствования технологии получения качественной молоди осетровых при выращивании в индустриальных условиях.

Результаты исследования вошли в изданные методические рекомендации по товарному воспроизводству и выращиванию осетровых от производителей из маточных стад: «Технология получения и выращивания гибрида сибирского осетра (*Acipenser baerii*) и белуги (*Huso huso*)», «Технология выращивания севрюги (*Acipenser stellatus*) в индустриальных условиях: научно-производственное издание» и «Технология полноцикличного культивирования русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) для сохранения генофонда и товарного выращивания».

Апробация работы. Основные результаты диссертации доложены на отечественных и международных конференциях и симпозиумах: «Состояние и перспективы развития фермерского рыбоводства аридной зоны» (Азов, 2006), «Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоёмов аридного климата» (Астрахань, 2007), «Современное состояние водных биоресурсов», посвящённой 70-летию С.М. Коновалова (Владивосток, 2008), Международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой выдающимся педагогам Петровской академии (Москва, 2008), «Инновационные подходы в ветеринарии, биологии и экологии» (Троицк, 2009), «Инновационные технологии аквакультуры» (Ростов-на-Дону, 2009), «Актуальные проблемы современной науки и образования» (Сибай, 2010), «VIII Международной конференции по раннему онтогенезу рыб и

промысловых беспозвоночных» (Светлогорск, 2010), «Second NACEE conference of young researchers» (Hungary, Szarvas, 2010), «Аквакультура Европы и Азии: реалии и перспективы развития и сотрудничества» (Улан-Удэ, 2011).

Положения, выносимые на защиту.

1. Нарушения морфологического строения молоди осетровых рыб, получаемой от культивируемых вне природных ареалов производителей из маточных стад, являются не видоспецифическими.
2. У молоди осетровых рыб от диких и культивируемых производителей нарушения морфологического строения качественно не отличаются, однако в регулируемых условиях частота встречаемости аномалий снижается.

Личный вклад автора. Сбор материала, изучение морфологии и гистологического строения ооцитов, предличинок, личинок и мальков, электронная микроскопия и анализ данных выполнены лично автором.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 работ, из которых 3 в журналах, рекомендованных ВАК.

Структура и объём работы. Диссертация изложена на 171 странице и состоит из введения, 4 глав, выводов и списка литературы, включающего 252 источника, из которых 31 на иностранных языках. Работа содержит 15 таблиц и 74 рисунка.

Благодарности. Считаю своим долгом принести благодарность научному руководителю д.б.н., профессору Е.В. Микодиной за всестороннюю помощь и советы при работе над диссертацией. Особую благодарность приношу к.с.-х.н. Э.В. Бубунцу за ценные советы и рекомендации в процессе работы. Искренняя благодарность к.с.-х.н., чл.-корр. РАЕН А.В. Лабенцу, к.б.н. Е.И. Шишановой, к.с.-х.н. А.И. Никифорову за помощь в освоении методов исследований. Приношу глубокую благодарность к.с.-х.н. Е.В. Липпо, Н.А. Козовковой, А.Г. Романову и В.А. Литвинову за предоставленную возможность сбора материала. Выражаю благодарность к.б.н. В.Д. Крыловой за поддержку на всех этапах выполнения диссертационной работы. Глубокая признательность

Г.Н. Давидовичу и А.Г. Богданову за помощь в освоении методов электронной микроскопии.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

Приведены сведения о развитии промысла и товарного осетроводства в мире и в России. Описано современное состояние отечественных естественных популяций и товарной аквакультуры. Показано, что единственным используемым методом оценки деятельности осетровых рыбоводных заводов является размерно-массовая характеристика выпускаемой молоди, однако, данный метод недостаточно отражает её состояние. Особое внимание уделено описанию известных методов оценки физиологического состояния рыб. Приведены данные литературы об особенностях строения ооцитов осетровых рыб, дано описание известных аномалий у осетровых рыб, обобщены и систематизированы имеющиеся данные.

Глава 2. Материал и методы

Материал собран в период с 2005 по 2011 гг. от производителей из маточных стад 4 осетровых хозяйств Московской и Тверской областей: Электрогорском рыбоводном хозяйстве при ГРЭС-3 им. Р.Э. Классона, Можайском производственно-экспериментальном рыбоводном заводе (МПЭРЗ), Шатурской производственно-экспериментальной садковой линии ФГУ «Мосрыбвод» (ШПЭСЛ), Конаковском заводе товарного осетроводства (КЗТО), а также Экспериментальном рыбоводном модуле ФГУП «ВНИРО» (г. Дзержинский).

Объектами исследования послужили 6 видов осетровых рыб, а также их гибриды и породы: русский *A. gueldenstaedtii*, сибирский *A. baerii*, сахалинский *A. mikadoi* осетры, стерлядь *A. ruthenus*, севрюга *A. stellatus*, шип *A. nudiventris*, три гибрида поколения F_1 – «стерлядь × белуга», «сибирский осётр × белуга», «сибирский осётр × русский осётр», а также две породы бестера: Бурцевская (белуга × стерлядь) и Аксайская ([белуга × стерлядь] × стерлядь). Объём исследованного материала представлен в таблице 1.

Таблица 1. Объём исследованного материала, шт.

Вид, гибрид, порода	Ооциты, икринки	Пред-личинки	Личинки	Мальки	Сеголетки	Всего
A. gueldenstaedtii	295	879	384	1432	174	3164
A. baerii	-	2970	282	2246	280	5778
A. mikadoi	130	-	-	-	-	130
A. ruthenus	-	524	393	1286	456	2659
A. stellatus	-	2036	363	987	1140	4526
A. nudiventris	-	2231	-	-	-	2231
A. ruthenus × *H. huso*	-	883	733	50	-	1666
A. baerii × *H. huso*	-	150	50	50	-	250
A. baerii × *A. gueldenstaedtii*	-	150	50	50	-	250
порода бестера «Бурцевская»	-	193	109	-	-	302
порода бестера «Аксайская»	-	72	84	-	-	156
Итого	425	10088	2448	6101	2050	21112

Примечание. Предличинки – молодь в период массового вылупления (36 стадия развития); личинки – молодь при переходе на экзогенное питание (45 стадия развития); мальки – молодь в возрасте 1,5-2,5 мес.; сеголетки – молодь в конце первого вегетационного периода выращивания (возраст 5,5-7 мес.).

В главе изложена краткая характеристика базовых рыбоводных хозяйств с описанием условий содержания производителей, методов получения икры, режимов инкубации и выращивания молоди осетровых рыб.

Для измерения длины и ширины ооцитов использовали бинокуляр МБС-10, для взвешивания – аналитические весы Sartorius Research R 160 P. Подсчёт числа каналов микропиле проводили в световом микроскопе LEICA DMLS при ув. 200× и 400×. Часть ооцитов обрабатывали на установке Hitachi HCP-2 методом высушивания в критической точке (Микодина и др., 2009) и после напыления золотом ультраструктуру их поверхности исследовали в сканирующих электронных микроскопах JSM-6380 LA и Hitachi S-405A при ускоряющем напряжении от 15 до 25 кВт, используя разные увеличения.

Ооциты и образцы от молоди для гистологического исследования фиксировали в 4%-ном формальдегиде. Препараты изготовлены по стандартным, а также модифицированным методикам (Ромейс, 1954; Роскин, Левинсон, 1957; Микодина и др., 2009). Всего получено и проанализировано

более 15000 срезов. Электронные и гистологические микрофотографии анализировали с помощью компьютерной программы Image-J.

Классификация эмбрионально-личиночного развития дана по Детлаф, Гинзбург, Шмальгаузен (1981). Морфологические отклонения исследуемой молоди осетровых рыб выявляли путём сравнения их с опубликованными материалами, используемыми в качестве нормы (Дислер, 1949; Драгомиров, 1953а, 1953б, 1961; Бабурина, 1957; Детлаф и др., 1981; Шмальгаузен, 1962, 1968; Гуляев, 1978), а также по атласу нарушений в гаметогенезе и строении молоди осетровых (Акимова и др., 2004). Статистическую обработку данных проводили по стандартным методикам (Плохинский, 1961), используя компьютерные программы MS Office Excel 2007 и STATISTICA 8.

Глава 3. Репродуктивные качества культивируемых производителей осетровых рыб и строение ооцитов

3.1. Оценка репродуктивных качеств культивируемых самок русского осетра *Acipenser gueldenstaedtii*, строение и аномалии овулировавшей икры

Репродуктивные показатели культивируемых самок русского осетра изучали в условиях Электрогорского рыбоводного хозяйства, маточное стадо которого сформировано из завезённой в 1996 г. с Адыгейского ОРЗ оплодотворённой икры (азовская популяция). Эти самки (табл. 2) уступают по массе диким рыбам азовской (18-23 кг) и каспийской (16-19 кг) популяций (Григорьев, 2007; Горбачёва и др., 2011).

Таблица 2. Биологические и репродуктивные показатели культивируемых самок русского осетра, $n=5$

Показатель	min – max	M±m	Cv±m_{Cv}
Длина TL, см	108,0-133,0	123,2±4,69	8,5±2,69
Масса, кг	13,1-16,6	14,7±0,67	10,2±3,23
Масса овулировавшей икры, кг	2,7-4,7	3,5±0,44	25,1±8,87
Оосоматический индекс (ОСИ), %	20,4-28,4	24,0±2,00	16,7±5,89
Рабочая плодовитость, тыс. шт.	201,3-369,3	255,5±39,45	30,9±10,92
Относительная рабочая плодовитость, тыс. шт./кг массы	13,7-28,9	18, 8±3,48	37,0±13,10

У исследованных самок ОСИ (отношение массы витально полученной икры к массе рыбы, %) составлял около 24 %, характеризуя их высокий рыбоводный потенциал. В отличие от этого, самки русского осетра в ОАО РТФ «Диана» имеют значительно меньший ОСИ – 10,5% (Сафронов, 2001), а в ЮФ ФСГЦР он составлял 12-25% (Чебанов, 2008).

По абсолютной рабочей плодовитости изученные самки соответствуют примерно середине диапазона, характерного для осетров из естественных азовских популяций (Chebanov, 2005), а также использовавшихся на ОРЗ Дона (Горбачёва и др., 2000).

Рыбоводное качество продуцируемой икры рассматривается как важный показатель общебиологической и селекционно-племенной ценности, являющейся одновременно характеристикой самих самок их потомства.

Относительно редкой аномалией у осетровых является наличие яиц без микропиле. По нашим данным, в ооцитах русского осетра, выросшего от икры до половой зрелости в условиях аквакультуры, количество таких аномальных ооцитов составило 1,7%. Очевидно, что такие икринки неспособны к оплодотворению, однако оплодотворяемость икры в целом была высокой (80-92% в различных партиях), соответствуя нормативам (Приказ ..., 2011).

Установлено, что в ооцитах русского осетра, в отличие от других видов осетровых (Воробьёва и др., 1986), микропиле располагаются не только на анимальном полюсе, но у некоторых самок и на вегетативном, образуя два микропилярных поля. Число микропиле на анимальном полюсе у разных самок этого вида варьирует от 0 до 38 (12,0±0,30), и если имеются на вегетативном – от 1 до 9, составляя в среднем 3,4±0,62 (рис. 1).

Диаметр каналов микропиле у русского осетра различаются на анимальном и вегетативном полюсах: на анимальном полюсе в среднем составляет 8,6±0,09 мкм, а на вегетативном он достоверно крупнее – 10,2±0,24 мкм ($\beta > 0,999$). Средние диаметры воронок микропиле на анимальном и вегетативном полюсах достоверно не различаются.

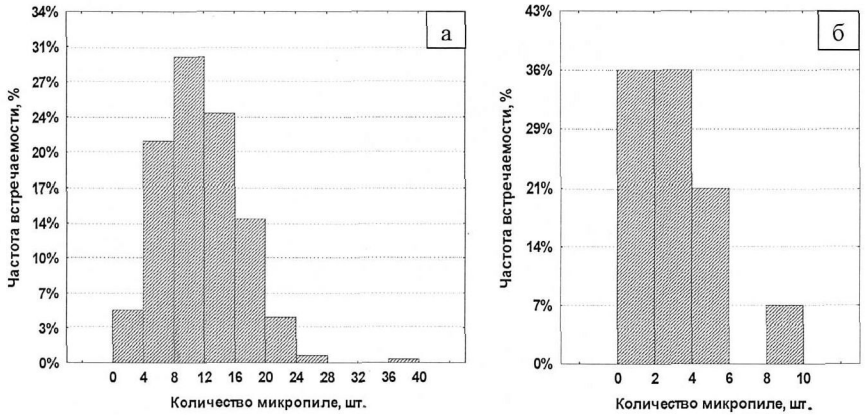

Рис. 1. Вариабельность числа микропиле в ооцитах русского осетра из аквакультуры: а – на анимальном полюсе (n = 293); б – на вегетативном полюсе (n = 14).

Помимо каналов микропиле, имеющих нормальное строение воронок (82,7%), встречается 2,5% аномально узких воронок, а также 14,5% воронок, объединяющих в себе два канала микропиле.

3.2. Строение и аномалии ооцитов заводских и диких самок сахалинского осетра *Acipenser mikadoi*

Сахалинский осётр – малоизученный вид, занесённый в Красные книги РФ и МСОП. В настоящее время активно ведутся работы по изучению его биологии (Васильев и др., 2009) и искусственного воспроизводства (Хрисанфов и др., 2009), в связи с чем новые сведения о структурных особенностях его гамет приобретают существенное фундаментальное и практическое значение.

Нами показано, что средняя ширина ооцитов у самок естественных популяций варьирует от 3,2 до 4,4 мм, длина – от 3,4 до 4,6 мм, масса колеблется от 19,17 до 29,33 мг, составляя в среднем 23,39 мг. Таким образом, ооциты сахалинского осетра являются наиболее крупными среди видов р. *Acipenser* (Артюхин, 2008).

В ооцитах сахалинского осетра многочисленные микропиле расположены только на анимальном полюсе группой. Число микропиле у разных самок варьирует от 4 до 17, в среднем на икринку приходится 7,8±0,27 микропиле, что

больше, чем у большинства евроазиатских осетровых (Подушка, 1992а, 1997, 1999а), за исключением русского осетра каспийской популяции (Подушка, 1993), с которым по данному показателю сходен, и русского осетра азовской популяции, которому уступает (Воробьёва, Подушка, 1999). Диаметр канала микропиле у сахалинского осетра в среднем составляет 7,7±0,10 мкм, диаметр воронки микропиле – 16,4±0,11 мкм.

В ооцитах этого вида выявлены следующие аномалии микропиле: полное или частичное закупоривание канала, сближение двух каналов, как без слияния их воронок, так и с их слиянием, а также сочетание нескольких нарушений.

3.3. Классификация аномалий строения микропиле в ооцитах осетровых рыб

Наличие морфологических аномалий у рыб считают проявлением неблагополучного состояния популяций и связывают с неблагоприятными изменениями условий среды обитания. Среди данных по строению микропиле российских видов осетровых рыб сведений о нарушениях в их строении нет (Садов, 1956, 1958; Гинзбург, 1968), за исключением упоминания об отсутствии каналов микропиле (Подушка, 1992а, 1993). В икринках диких самок белого осетра *A. transmontanus*, выловленных в р. Сакраменто и заливе Сан-Франциско (Калифорния), упомянут ещё один вид аномалий микропиле – соединительная борозда между двумя воронками микропиле (Cherr, Clark-jr., 1982).

Упомянутые в литературе и выявленные нами аномалии микропиле у исследованных видов осетровых мы впервые классифицировали на пять типов.

1. Отсутствие микропиле. Как указано выше, в ооцитах русского осетра количество аномальных яиц без каналов микропиле, составило 1,7%. Несмотря на то, что в литературе описаны случаи выявления ооцитов осетровых рыб без микропиле, причины возникновения таких ооцитов остались неосвещёнными.

Как известно, каждый канал микропиле, как и микроворсинки – трофические пути, через которые осуществляется снабжение икринки питательными веществами в процессе её роста (Садов, 1956, 1958), а после

овуляции происходит проникновение спермиев. Поэтому отсутствие каналов микропиле однозначно свидетельствует о невозможности оплодотворения. В то же время имеются сообщения о партеногенетическом развитии некоторых ооцитов после их активации ещё в теле самки (Детлаф, Гинзбург, 1954; Гинзбург, 1968; Детлаф и др., 1981). Следовательно, можно предположить, что в период роста и развития ооцита микропилярные каналы присутствовали, однако некоторые ооциты были активированы до овуляции.

2. Аномалии топографии микропиле впервые выявлены нами у двух исследованных видов осетров: наличие микропиле анимальном и вегетативном полюсах икринки, а также сближение двух или более каналов микропиле, которое может быть выражено от сближения соседних каналов до слияния дистальных отверстий соседних каналов в одной воронке микропиле (рис. 2).

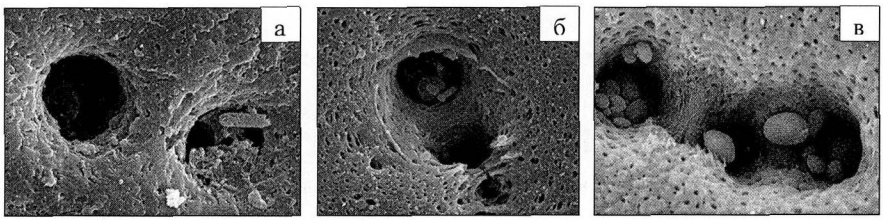

Рис. 2. Нарушения топографии микропиле: а – сближение двух каналов микропиле без слияния воронок; б – сближение двух каналов микропиле с объединением их дистальных отверстий в одной воронке; в – сближение трёх каналов микропиле.

3. Аномалии структуры и формы микропиле включают: борозду, соединяющую две соседние воронки микропиле, раздвоение канала микропиле в проксимальном направлении и уменьшение диаметра канала (рис. 3).

4. Закупоривание канала микропиле также имеется в ооцитах двух исследованных видов осетров. Наиболее частой причиной закупоривания микропилярного канала являются не отделившиеся фолликулярные клетки или их фрагменты. Обнаружены как полное, так и частичное закупоривание канала микропиле на дистальном или проксимальном участках канала.

5. *Комбинированные аномалии* сочетают в себе две и более патологии, так нами обнаружены: сближение двух каналов микропиле без слияния воронок

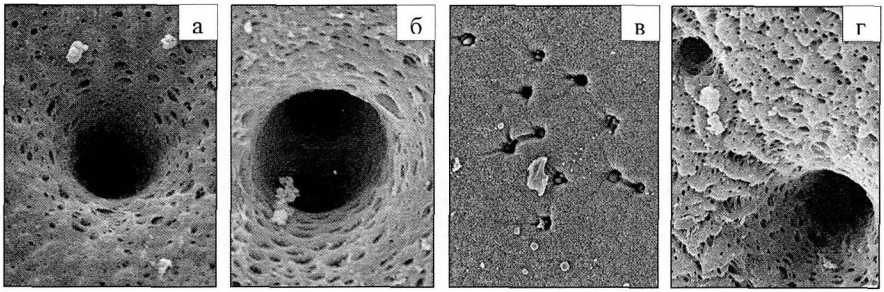

Рис. 3. Нарушения структуры и формы микропиле: а – нормальное строение канала; б – раздвоение канала микропиле в проксимальном направлении; в – борозда, соединяющая две соседние воронки микропиле; г – уменьшение диаметра канала.

и частичное закупоривание канала микропиле фолликулярной клеткой; сближение двух каналов микропиле без слияния воронок и полное закупоривание одного из каналов фолликулярной клеткой; сближение двух каналов микропиле и уменьшение размеров одного из них, сближение двух каналов микропиле и закупоривание канала в проксимальной части.

В заключение отметим, что признаки икры рыб сложились в процессе эволюции и являются источником информации как о систематической принадлежности, так и специфике размножения (Воробьёва, Марков, 1999). Одним из таких признаков считают наличие множественного числа микропиле у осетровых. Этот феномен традиционно связывают с явлением полиспермии, снижающей процент оплодотворения (Гинзбург, 1968; Детлаф и др., 1981), однако его адаптивное значение в литературе до сих пор не обсуждено. Полагаем, что большое число микропиле является адаптацией, обеспечивающей эффективное оплодотворение, ввиду опасности закупоривания каналов микропиле мелкодисперсной взвесью, присутствующей в воде во время весеннего половодья в реках с быстрым течением. Также, множественное число микропиле, по-видимому, компенсирует недостаток открытых каналов в случаях их закупорки фолликулярными клетками. При исследовании ооцитов русского и сахалинского осетров нами выявлен широкий ряд аномалий микропиле и именно наличие множественного их числа обеспечивает достаточно высокий процент оплодотворения.

Глава 4. Морфологические аномалии осетровых рыб в потомстве производителей из маточных стад

4.1. Этап вылупления

Морфогенез рыб в начале их постэмбрионального развития представляет особый интерес в связи с тем, что именно в этот период происходит смена зародышевых функций на дефинитивные.

У предличинок осетровых рыб из различных рыбоводных хозяйств нами выявлены 45 разновидностей нарушений строения, которые для сопоставимого сравнения даны в соответствии с классификацией, подразделяющей их на 7 типов (Акимова и др., 2004; Горюнова, 2006).

Из ***аномалий формы тела*** (рис. 4 а, б) у потомства культивируемых производителей осетровых нами выявлены: уменьшение объёма и изменения формы желточного мешка, искривления тела во фронтальной (сколиоз) и сагиттальной плоскостях (кифоз и лордоз), множественные изгибы хорды на всем её протяжении (плекоспондилия), а также нарушения в строении плавниковой каймы.

Здесь необходимо отметить, что изменения формы желточного мешка чаще всего связано с затруднением выхода предличинок из яйцевых оболочек и к последующим стадиям развития форма желточного мешка восстанавливается, следовательно, данная аномалия уже не встречается. Особи, имеющие уменьшенный объём желточного мешка и искривления тела, как правило, элиминируют.

Среди нарушений ***в развитии наружных органов*** на этапе вылупления у исследованных предличинок отмечали: недоразвитие или гипертрофию железы вылупления, недоразвитие зачатков глаз или полное их отсутствие.

Из ***пороков внутренних органов*** выявлены: уменьшение размера зачатка печени (гепатопанкреаса), отсутствие изгиба или левосторонний изгиб сердечной трубки, её узость, недоразвитие желудочка сердца, у единичных особей оно имело вид прямой слегка изогнутой тонкой трубки без выраженного желудочка. Такие особи, как правило, быстро элиминируют.

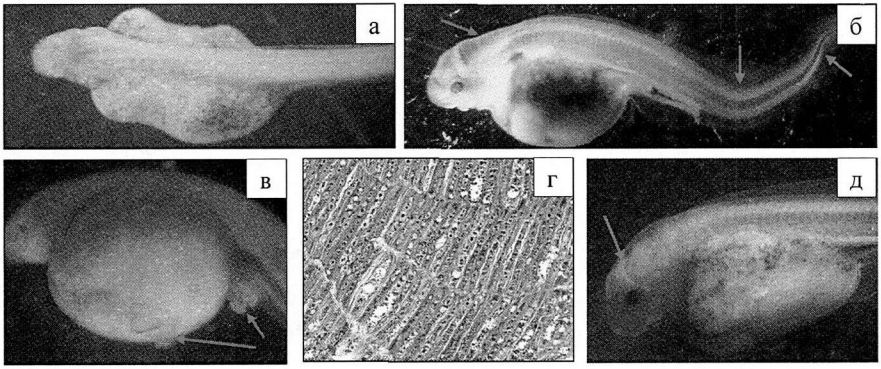

Рис. 4. Нарушения на этапе вылупления: а – изменение формы желточного мешка; б – плекоспондилия; в – эпителиальные наросты; г – нарушение сегментации миомеров; д – кровоизлияние головного мозга.

У предличинок осетровых нами также отмечены ***патологии в строении тканей*** (рис. 4 в, г): эпителиальной (опухолевидные разрастания или выросты эпителия) и мышечной (вакуолизация и локальные расслоения мышечной ткани с образованием полостей между волокнами, нарушение сегментации).

Функциональные аномалии проявлялись в виде кровоизлияний перикардиальной и брюшной полостей, плавниковой каймы, головного мозга (рис. 4 д) и мезонефроса. Отмечены нарушения водно-солевого (гидроцефалия, водянка перикарда и брюшной полости), а также липидного обмена.

Установлена частота встречаемости нарушений каждого типа: формы тела – 6,4%; в строении наружных органов – 0,6%; в строении внутренних органов – 0,2%; в строении тканей – 0,3%; функциональные – 0,5%; механические – 0,2%; комбинированные – 4,9%.

Таким образом, если на этом этапе качественных отличий с данными литературы по потомству диких рыб не выявлено, то количественные различия обнаружены. Так, ранее у 100% потомства диких особей наблюдали гидроцефалию и нарушения в строении мускулатуры (Шагаева и др., 1993; Акимова и др., 2004; Горюнова, 2006), но при выявлении аномалий поименованные авторы исследовали фиксированный в 4%-ном формальдегиде

материал с последующей перефиксацией в жидкости Буэна. Авторы и сами отмечали факт, что при данной фиксации происходит уплотнение тканей, поэтому, вполне вероятно, что выявленные нарушения у 100% особей являются артефактом. Мы же большинство исследований проводили прижизненно и лишь для гистологического исследования проводили фиксацию образцов в 4%-ном формальдегиде, предварительно проведя его нейтрализацию.

Частота встречаемости аномалий морфологии у предличинок осетровых в период массового вылупления на различных полноцикличных хозяйствах колебалась от 3,1 до 25,4%, составляя в среднем 13,1%.

Наибольший процент аномалий (около 25%) отмечен у предличинок бестера Бурцевской породы. Однако следует указать, что это потомство было получено от впервые нерестующих самок, использование которых для рыбоводных целей не рекомендовано (Смольянов, 1987) из-за низкого качества икры, отражающегося на качестве потомства.

4.2. Этап перехода на активное питание

Переход молоди осетровых рыб на активное питание – один из критических периодов раннего онтогенеза, когда отмечается наибольшая гибель личинок в связи с врождёнными аномалиями (Богданова, 1965).

В дополнение к описанным нами ранее у предличинок аномалий морфологического строения, у личинок были выявлены и другие нарушения. Так из ***нарушений в строении наружных органов*** отмечены: помутнение хрусталика глаза (катаракта), уменьшение или отсутствие полости стекловидного тела глаза, нарушение нормального растяжения слоёв сетчатки (рис. 5 а); атипичное строение обонятельного органа, проявляющееся в несращении, узости (рис. 5 б) или полном отсутствии носовой перегородки, наличии единой щели, соединяющей обонятельные органы, уменьшении размеров обонятельной капсулы или розетки; отмечено также укорочение или отсутствие жаберных крышек (рис. 5 в), недоразвитие жаберных дуг или лепестков, задержка формирования респираторных ламелл, гиперплазия респираторного эпителия жабр.

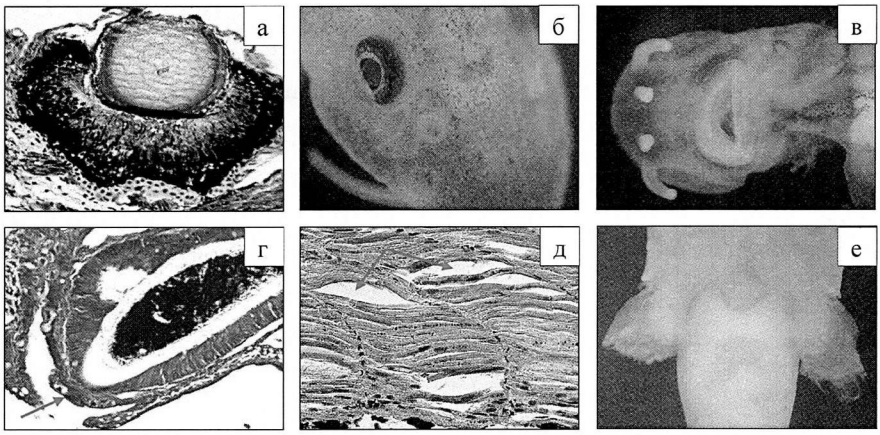

Рис. 5. Нарушения на этапе перехода на экзогенное питание: а – сжатие слоёв сетчатки и отсутствие полости стекловидного тела; б – узость носовой перегородки; в – отсутствие жаберной крышки и недоразвитие всех жаберных дуг; г – отсутствие анального отверстия; д – образование пустот в мышцах; е – травмы грудных плавников.

Аномалии внутренних органов на этом этапе развития личинок были выявлены только в строении органов пищеварительной системы: наличие первичной перегородки пищевода, отсутствие сообщения между задней кишкой и внешней средой (рис. 5 г), задержка развития желудочных складок и кишечных ворсинок, недоразвитие камер спиральной кишки, анатомическое недоразвитие печени, задержка дифференциации гепатоцитов. Чаще всего нарушения этого типа являются врождёнными и для личинок летальны.

Из ***патологий в строении тканей*** у личинок, полученных от культивируемых производителей, кроме отмеченных на этапе вылупления, нами был также выявлен локальный лизис миофибрилл туловищной мускулатуры с образованием в ней полостей (рис. 5 д).

Механические повреждения являются следствием несовершенства технологии перевода предличинок на экзогенное питание и проявляются в травмах плавников трёх степеней тяжести (Краснодембская, 1994) от незначительной травмы края лопасти до полного отсутствия. Нами также выявлены повреждения парных и непарных плавников всех степеней (рис. 5 е).

Комбинированные аномалии обычно сочетают две аномалии, однако порой их количество может достигать пяти или шести у одной особи.

Доля личинок с патологиями колебалась от 27,2 до 88,2%, составляя в среднем 53,0%. При этом, в среднем частота встречаемости нарушений формы тела составила 1,8%, строения наружных органов – 4,1%, внутренних органов – 0,3%, тканей – 0,7%, функциональных – 1,4%, механических – 39,3%, комбинированных – 5,5%.

Таким образом, в сравнении с этапом вылупления, на данном этапе онтогенеза увеличивается встречаемость изменений в строении наружных органов. Кроме того, из-за несовершенства перевода личинок осетровых на экзогенное питание и наличия травм плавников у значительного количества особей резко увеличивается встречаемость механических повреждений.

В то же время, количество нарушений формы тела снизилось вследствие восстановления у предличинок формы желточного мешка и элиминации особей с малым объёмом желтка и искривлениями тела.

Нами установлено, что частота встречаемости патологий у личинок, полученных от культивируемых производителей, существенно меньше, чем у личинок, полученных от диких. Так известно, что у потомства диких особей при искусственном воспроизводстве, частота встречаемости механических повреждений плавников была вдвое больше, достигая 60-90 % (Краснодембская, 1994); аномалии жаберного аппарата встречались у 30-40% особей (Садов, 1951), а дефекты в структуре мышечной ткани у личинок, полученных на рыбоводных заводах в 1993-1996 гг., отмечали в 100 % случаев (Горюнова и др., 2000; Горюнова 2006).

4.3. Мальковый период

Для пополнения природных запасов осетровых рыб заводскую молодь выпускают в естественные водоёмы в мальковый период, поэтому оценка у неё морфологических изменений имеет несомненное практическое значение.

В целом у мальков в возрасте 1,5–2,5 месяцев виды выявленных нарушений, сходны с таковыми у личинок на этапе перехода на экзогенное

питание. Однако имеются и некоторые различия. Так, помимо описанных у личинок нарушений, нами также выявлены:

а) из ***нарушений формы тела*** укорочение хвостового стебля и искривление рыла мальков;

б) из ***аномалий наружных органов*** разрушение хрусталика и нарушение внутренних слоёв глаза, укорочение или срастание отдельных жаберных филаментов (рис. 6 а), гиперемия дистальных участков филаментов, недоразвитие жаберных ламелл, а также укорочение и срастание усиков;

в) из ***патологий в строении внутренних органов*** истощение депо гликогена и накопление липидов в паренхиме печени, вакуолизация цитоплазмы гепатоцитов, очаги некроза, анемия и гиперемия печени, замена железистого слоя желудка соединительной тканью, увеличение количества слизистых бокаловидных желёз в промежуточной и спиральной кишках,

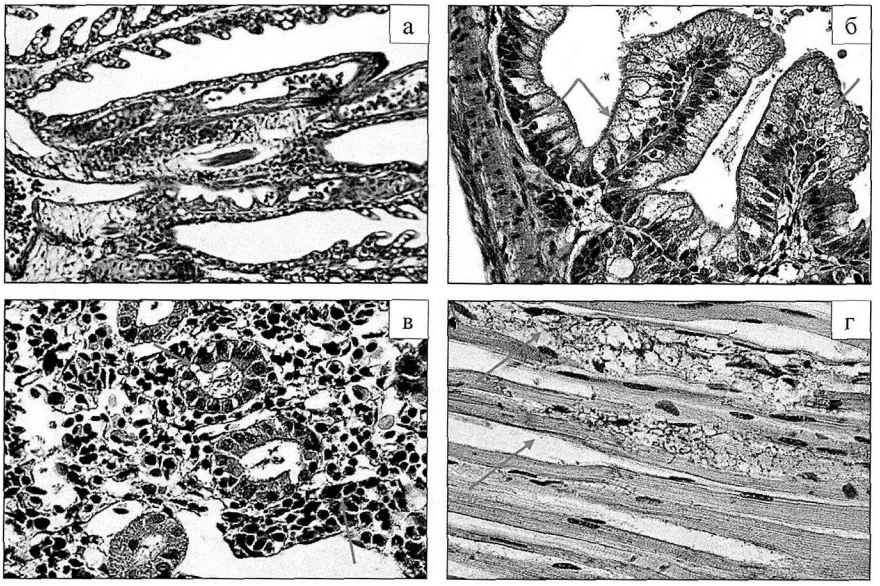

Рис. 6. Нарушения морфологии в мальковый период: а – срастание жаберных филаментов (ув. 10×20); б – увеличение числа слизистых бокаловидных клеток, вакуолизация эпителия средней кишки (ув. 10×40); в – разрастание гемопоэтической ткани и разрыхление эпителия извитых канальцев почек (ув. 10×40); г – образование полостей и замещение мышечного волокна соединительной тканью (ув. 10×100).

вакуолизация их эпителиальных клеток (рис. 6 б), на верхушках кишечных ворсинок наблюдались некротические изменения каёмчатых клеток эпителия, разрастания гемопоэтической ткани почек, неоднородность в структуре почечных телец и разрыхление эпителия почечных канальцев (рис. 6 в);

г) из ***патологий в строении тканей*** истончение брюшной стенки, расщепление мышечных волокон на отдельные фибриллы, замещение мышечного волокна соединительной тканью (рис. 6 г), лизис отдельных фибрилл и небольших участков волокон с разрушением сарколеммы и образованием на их месте полостей.

Проявление ***функциональных, механических и комбинированных нарушений*** у мальков существенно не отличается от такового на этапе перехода личинок на экзогенное питание.

Встречаемость нарушений у молоди на данном этапе онтогенеза в среднем составила 19,2%, в т.ч. формы тела – 1,5%, строения наружных органов – 9,6%, внутренних органов – 0,3%, тканей – 1,2%, функциональных – 0,8%, механических – 5,7%, комбинированных – 2,5%.

Из приведённых данных видно, что количество механических повреждений на данном этапе резко сократилось в основном по причине быстрой регенерации плавников с повреждениями I и II степени, а также элиминации доли личинок с повреждениями III степени; также уменьшилась встречаемость множественных нарушений. Кроме того, если у личинок количество комбинированных нарушений достигало пяти или шести видов у одной особи, то у мальков одновременное присутствие даже трёх-четырёх патологий выявлялось единично.

Наиболее распространённый тип аномалий у мальков – нарушения в строении наружных органов, причём у 8,4% особей это были нарушения строения органа обоняния. В литературе описано, что молодь, полученная от диких производителей, имела в условиях искусственного воспроизводства на порядок больше (около 80%) данных нарушений (Садов, 1941; Державин, 1947; Емельянов, 1951; Зарянова, 1956). Таким образом, сравнение результатов

собственных исследований с данными литературы показывает, что у молоди, получаемой в настоящее время от производителей из маточных стад, частота встречаемости нарушений обонятельного органа значительно меньше. Так как основной причиной их возникновения являются недостатки применяемой технологии воспроизводства (Шмальгаузен, 1957, 1962, 1973; Детлаф и др., 1981), можно сделать вывод, что в последние годы факторов, вызывающих эту аномалию, стало существенно меньше.

4.4. Аномалии молоди в конце первого вегетационного периода

Большинство полноцикличных осетровых хозяйств в нашей стране в зимний период переводит молодь на зимовку. В этот период наблюдается гибель ослабленных особей, поэтому оценка морфофизиологического состояния молоди в конце первого вегетационного периода также имеет большое значение для прогнозной оценки её выживаемости за зимовку.

У молоди в конце первого вегетационного периода в основном выявлены те же виды нарушений, что были зафиксированы на более ранних этапах.

Из патологий, которые были выявлены только в этот период раннего онтогенеза осетровых, необходимо подчеркнуть, что у некоторых сеголеток, имеющих укороченные жаберные крышки, обнаружены некротические и бактериальные изменения жабр (рис. 7 а).

В конце вегетационного периода, по сравнению предыдущими этапами онтогенеза, у молоди печень имела более глубокие дегенеративные нарушения, так нами отмечено, что очаги некроза гепатоцитов стали более обширными (рис. 7 б). Из группы нарушений кровообращения печени, кроме выявляемых ранее анемии и гиперемии органа, на данном этапе нами выявлены скопления форменных элементов крови у очагов некроза (рис. 7 в), а также увеличение толщины стенок кровеносных сосудов.

Нарушения в строении мышечной ткани, также стали более тяжёлыми, дегенеративные изменения затрагивают уже не только сократительные элементы, но и мембранные системы. Так на данном этапе онтогенеза выявлен лизис не только отдельных фибрилл, но и участков волокон с разрушением их

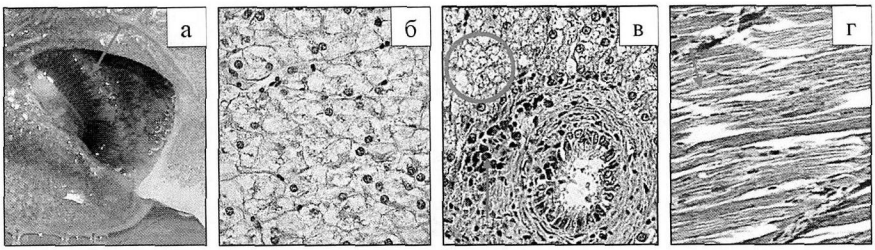

Рис. 7. Нарушения морфологии сеголеток: а – некроз жабр вследствие укорочения жаберной крышки; б – жировая дистрофия и некроз гепатоцитов (ув. 10×40); в – скопления эозинофилов возле очагов некроза (ув. 10×40); г – лизис миофибрилл с разрушением их сарколеммы (ув. 10×40).

сарколеммы и мембранных компонентов, в результате которых происходит распад и дезорганизация сократительных элементов (рис. 7 г).

Механические повреждения сеголеток в конце первого вегетационного периода в основном являлись следствием перенесённых на предыдущих этапах развития травм: это были зауженные, укороченные и искривлённые плавники.

Встречаемость нарушений у сеголеток варьировала от 24,6 до 55,4 % на разных хозяйствах, составляя в среднем 45,1 %, в т.ч.: формы тела – 1,9%, строения наружных органов – 10,4%, внутренних органов – 2,1%, тканей – 19,9%, функциональных – 1,3%, механических – 3,9%, комбинированных – 5,5%.

Представленные данные показывают, что встречаемость патологий формы тела и наружных органов, а также функциональных нарушений, в сравнении с таковой у мальков в возрасте 1,5–2,5 мес., практически не изменилась. Однако за счёт увеличения дегенеративных процессов в печени и особенно туловищной мускулатуры увеличились частоты нарушений в строении внутренних органов и тканей.

В связи с тем, что на различных осетровых хозяйствах у молоди наблюдается значительный разброс частоты встречаемости морфологических нарушений, нами в качестве примера приведён анализ распределения всех выявленных нарушений по типам в мальковом периоде (рис. 8).

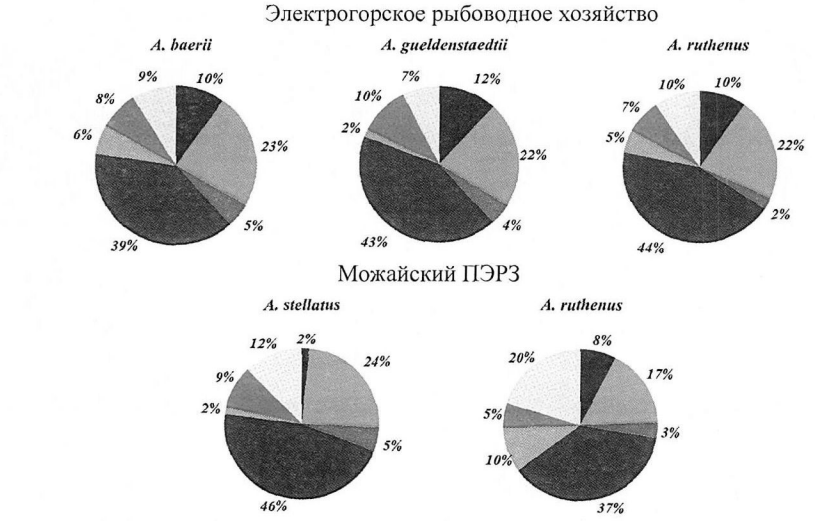

Рис. 8. Распределение выявленных нарушений строения по типам на различных хозяйствах у сеголеток осетровых рыб.

Судя по диаграммам можно заключить, что, несмотря на столь различную частоту встречаемости аномалий у разных видов осетровых, их распределение по типам на различных хозяйствах сходно, что свидетельствует об отсутствии их видоспецифичности.

ВЫВОДЫ

1. В строении микропиле ооцитов осетровых рыб, полученных от одомашненных и заводских самок, выявлены аномалии и разработана их классификация, согласно которой они разделены на 5 типов: 1. отсутствие; 2. аномалии топографии; 3. аномалии структуры и формы; 4. закупоривание канала; 5. комбинированные аномалии.

2. Морфологические аномалии молоди осетровых рыб, полученной от выращенных «от икры» производителей, не видоспецифичны. Аномалии строения потомства осетровых рыб от производителей из маточных стад качественно незначительно отличаются от таковых в потомстве диких рыб.

3. Выявлена смена преобладающего типа морфологических нарушений в различные периоды раннего онтогенеза осетровых рыб. На этапе вылупления преобладают аномалии формы тела, при переходе на экзогенное питание – механические повреждения, у мальков – в строении наружных органов, у сеголеток превалируют нарушения в строении тканей.

4. Частота встречаемости аномалий раннего онтогенеза у потомства осетровых, полученных от культивируемых производителей, на разных этапах различается: на этапе вылупления она составляет около 13 %, на этапе перехода на экзогенное питание – 53 %, в мальковый период – 19 %, у сеголеток в конце первого вегетационного периода – 45 %.

5. У молоди осетровых рыб, полученной в современный период в искусственных условиях от производителей из маточных стад, частота встречаемости практически всех видов аномалий существенно меньше, чем в потомстве диких производителей.

Список основных работ, опубликованных по теме диссертации

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК:

Шишанова Е.И., Новосадов А.Г., **Маилкова А.В.** Осетровые рыбы как объект разведения в искусственных условиях с зимней паузой роста (на примере Электрогорской ГРЭС-3 им. Р.Э. Классона) // Изв. Оренбургского государственного аграрного университета, 2008. № 4 (20). С. 176–179.

Микодина Е.В., **Новосадова А.В.** Строение зрелых ооцитов сахалинского осетра *Acipenser mikadoi* // Доклады академии наук, 2011. Т. 440. №4. С. 557–560.

Лабенец А.В., Бубунец Э.В., **Новосадова А.В.** Репродуктивные показатели самок русского осетра и особенности продуцируемой ими икры в условиях культивирования // Рыбное хозяйство, 2013. № 1. С. 83–90.

Методические рекомендации:

Новосадов А.Г., Лабенец А.В., Шишанова Е.И., **Маилкова А.В.**, Баранов А.А. Технология получения и выращивания гибрида сибирского осетра (*Acipenser baerii*) и белуги (*Huso huso*). М.: Россельхозакадемия, 2008. 38 с.

Бубунец Э.В., Шишанова Е.И., Лабенец А.В., Кавтаров Д.А., **Новосадова А.В.**, Стародворская И.В. Технология выращивания севрюги (*Acipenser stellatus*) в индустриальных условиях: научно-производственное издание. М.: Изд-во РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2010. 62 с.

Лабенец А.В., Бубунец Э.В., Шишанова Е.И., Липпо Е.В., **Новосадова А.В.**, Баранов А.А., Никифоров А.И., Стародворская И.В., Новосадов А.Г. Технология полноцикличного культивирования русского осетра (*Acipenser gueldenstaedtii*) для сохранения генофонда и товарного выращивания. М.: Изд-во РГАУ-МСХА им. К.А. Тимирязева, 2012. 84 с.

Публикации в других изданиях:

Манлкова А.В., Новосадов А.Г. Рост молоди некоторых гибридов осетровых при выращивании в бассейнах // Пресноводная аквакультура: состояние, тенденция и перспективы развития. Молдова, 2005. С. 50–53.

Манлкова А.В., Никифоров А.И. Морфологические особенности и гистопатологический анализ скелетной мускулатуры гибридов ленский осетр × белуга и стерлядь × белуга // Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоёмов аридного климата. Астрахань, 2007. С. 330–333.

Никифоров А.И., **Манлкова А.В.** Рост и развитие сеголетков гибрида стерлядь × белуга в условиях тепловодной аквакультуры // Сб. материалов международной научной конференции молодых учёных и специалистов, посвящённой выдающимся педагогам Петровской академии. М.: Изд-во РГАУ-МСХА, 2008. С. 181–187.

Никифоров А.И., **Манлкова А.В.** Морфология скелетной мускулатуры некоторых гибридных форм осетровых // Инновационные подходы в ветеринарии, биологии и экологии. Троицк, 2009. С. 107–109.

Лабенец А.В., **Новосадова А.В.** Морфометрические и некоторые ультраструктурные особенности икры русского осетра, продуцируемой при полноцикличном выращивании // Актуальные проблемы современной науки и образования. Биол. науки. УФА, 2010. С. 368–372.

Микодина Е.В., **Новосадова А.В.** Морфологические нарушения в строении предличинок шипа *Acipenser nudiventris* // Тез. докл. «VIII Межд. конф. по раннему онтогенезу рыб и промысловых беспозвоночных». Калининград, 2010. С. 68–69.

Novosadova A.V., Mikodina E.V., Presnyakov A.V., Khrisanfov V.E. Morphometric characteristics of oocytes and ultrastructure of their envelops in Sakhalin sturgeon *Acipenser mikadoi* // Second NACEE conference of young researchers. Proceedings. Szarvas, Hungary, 2010. P. 24–25.

Бубунец Э.В., Шишанова Е.И., **Новосадова А.В.**, Стародворская И.В. Влияние условий выращивания и состава кормов на выживаемость личинок севрюги в индустриальных условиях // Научные основы сельскохозяйственного рыбоводства: состояние и перспективы развития. М., 2010. С. 154–161.

Подписано к печати:
14.11.2013

Формат: 60×84 $^{1}/_{16}$
Объём: 1,5 п. л.

ФГУП «ВНИРО»
Участок оперативной печати
107140, г. Москва, ул.
В.Красносельская, 17

Заказ №1252
Тираж: 100