

И.В. Матросова

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЫБОВОДСТВА:
ЭКОЛОГО-ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД**



**Владивосток
Дальрыбвтуз
2020**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ



Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет

И.В. Матросова

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЫБОВОДСТВА:
ЭКОЛОГО-ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД**

Учебное пособие
для студентов направления 35.03.08
«Водные биоресурсы и аквакультура»

Владивосток
Дальрыбвтуз
2020

УДК 626:614 (075.8)

ББК 36.77

МЗЗ

Рецензенты:

доктор биол. наук, профессор, ведущий научный сотрудник
ФГБНУ «ТИНРО-Центр» В.В. Евдокимов;

доктор биол. наук, профессор, зав. лабораторией сравнитель-
ной цитологии Института биологии моря им. А.В. Жирмунского
И.Ю. Долматов

Матросова, Инга Владимировна.

МЗЗ Биологические основы рыбоводства: эколого-
гистофизиологический подход : учеб. пособие / И.В. Матросова. –
Владивосток : Дальрыбвтуз, 2020. – 79 с.

Приведена информация о различных аспектах эколого-
физиологического подхода к воспроизводству рыб. Продемон-
стрированы возможности и результаты использования эколого-
гистофизиологического подхода для исследования и решения тео-
ретических и практических проблем рыбохозяйственной науки.

Предназначено для студентов вузов, обучающихся по направ-
лениям, связанным с изучением особенностей биологии рыб и их
воспроизводством.

УДК 626:614 (075.8)

ББК 36.77

© Дальневосточный государственный
технический рыбохозяйственный
университет, 2020

ВВЕДЕНИЕ

Разведение и выращивание рыбы – древняя сфера деятельности человека. Однако рыбоводство развивалось довольно медленно и ещё не миновало стадию поиска. Это объясняется многими причинами, среди которых важнейшей является возможность удовлетворения спроса на рыбу за счёт естественных водоёмов. Рыбу проще ловить, чем разводить. Ещё в первые десятилетия XX в. существовала уверенность в том, что запасы рыбы неисчерпаемы и для бесконечного увеличения объёма промысла надо только совершенствовать орудия лова. Наконец, численность рыб в естественных водоёмах начала неуклонно падать. Этот процесс продолжается и поныне, что явилось причиной современного прогрессирующего развития рыбоводства, в частности прудового рыбоводства.

Рыбоводство – это естественное и искусственное разведение рыбы, селекционно-племенная работа, акклиматизация новых видов рыб, выращивание рыб по интенсивным технологиям, монокультура, поликультура и аквакультура.

Характеризуется рыбоводство высокой степенью использования всех компонентов кормовой базы водоемов – фитопланктона, зоопланктона, бентоса и водной растительности. В зависимости от характера водоема и наличия кормов тот или иной вид является при выращивании товарной рыбы главным, а остальные – добавочными, причем применяют определенные для каждого случая соотношения основных и добавочных видов рыб. Особенностью рыбоводства является также и то, что для основных выращиваемых, например, карповых видов звено рыборазведения в цепи рыбоводных процессов отсутствует. Оно заменено заготовкой их личинок в реках или покупкой в хозяйствах, занимающихся их воспроизводством. В связи с тем, что условия естественного воспроизводства основных объектов рыбоводства на реках нарушены гидростроительством, рыбоводами и учеными, ведущими работы по разработке и усовершенствованию биотехнологии искусственного разведения многих карповых, осетровых и других ценных видов рыб в прудовом рыбоводстве, достигнуты положительные результаты с применением гипофизов рыб для проведения

гипофизарных инъекций и получения икры и личинок от производителей рыб искусственным путем.

Технология производства рыбы предусматривает: устройство специальных водоемов, где создаются необходимые условия для существования, роста и развития рыбы; кормление рыбы. Рациональное ведение рыбоводного хозяйства основано на разведении видов и пород рыб, дающих в короткий срок высококачественную продукцию. Размещение прудовых хозяйств и ферм в непосредственной близости к населенным пунктам и промышленным центрам дает возможность обеспечить население рыбой в охлажденном и живом виде, при этом сократив «давление» человека на сырьевые запасы Мирового океана в результате интенсивного промысла в традиционных районах.

Выращивая рыбу в специально построенных рыбоводных прудах, человек управляет всем процессом производства от размножения рыбы до получения товарной продукции. Молодь рыб может выращиваться здесь или закупаться в других хозяйствах. Полносистемное прудовое хозяйство осуществляет разведение и выращивание рыбы от икринки до товарной продукции, где каждый этап контролируется и управляется обслуживающим персоналом. При таком методе применяют все новейшие достижения науки и техники, проводят генетические исследования.

Целью усвоения дисциплины (модуля) «Биологические основы рыбоводства» является изучение биологических особенностей рыб в связи с их искусственным воспроизводством, акклиматизацией, а также проектированием рыбоводных заводов и нерестово-выростных хозяйств и рыбохозяйственной мелиорацией.

Задачи дисциплины:

- изучение биологических особенностей рыб в связи с их воспроизводством;
- изучение основ искусственного воспроизводства рыб;
- изучение теоретических основ акклиматизации рыб и беспозвоночных.

При усвоении дисциплины используются знания и навыки, полученные при изучении дисциплин: «Гидрология», «Ихтиология», «Ихтиопатология». При преподавании дисциплины учитываются современные достижения науки и практики в областях управле-

ния половыми циклами рыб, биотехники искусственного воспроизводства ценных промысловых видов рыб, проектирования рыбоводных предприятий.

Дисциплина «Биологические основы рыбоводства» является базовой при изучении дисциплин «Товарное рыбоводство», «Искусственное воспроизводство рыб» и «Марикультура». Знания, полученные при изучении дисциплины, используются при выполнении курсового проекта по строительству рыбоводного завода или нерестово-выростного хозяйства по искусственному воспроизводству одного из ценных промысловых видов рыб.

Пособие по дисциплине «Биологические основы рыбоводства» содержит информацию о возможностях и результатах использования эколого-гистофизиологического подхода для исследования и решения теоретических и практических проблем рыбохозяйственной науки.

Тема 1. СТРОЕНИЕ ЯЙЦЕКЛЕТОК РЫБ

Отряд осетрообразные (*Acipenseriformes*)

Осеменение у осетрообразных наружное. Яйца с клейкими оболочками прикрепляются к подводным предметам. Плодовитость осетров велика. У стерляди бывает от 8 до 119 тыс. яйцеклеток, у севрюги – от 35 до 363 тыс., у русского осетра от 84 до 837 тыс. яйцеклеток, у белуги до 2,8 млн, а у калуги до 4,1 млн яйцеклеток.

Яйца округлой или яйцевидной формы. Диаметр яиц вместе с оболочками составляет от 1,9-2,5 мм у стерляди, до 3,6-4,0 мм у белуги и калуги. Яйца покрыты двуслойной желточной оболочкой, называемой *zona radiata*, и студенистой оболочкой (рис. 1). У неоплодотворенных яиц оболочки довольно нежные, на анимальном полюсе они несколько тоньше и имеют микропиле, через которые спермии входят в яйцо. Число микропилярных каналов обычно 5-10, но бывает и больше. Например, у черноморско-азовского осетра *Acipenser gildenstadtii colchicus* их может быть до 40.

В кортикальном слое цитоплазмы зрелых яиц лежат кортикальные гранулы, под ними – пигментные гранулы и митохондрии. Ядро находится на стадии метафазы вто-

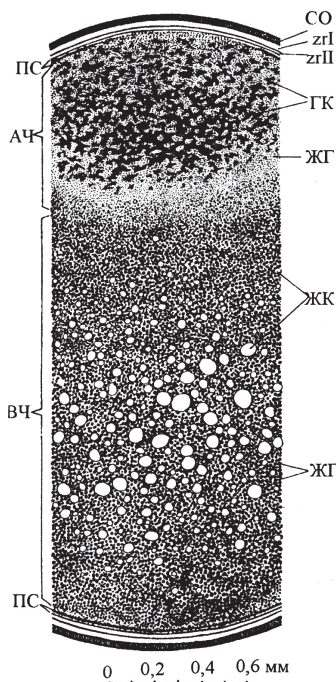


Рис. 1. Строение яйца осетровых рыб:
АЧ – анимальная, ВЧ – вегетативная части
яйца; ГК – лакуны, содержащие
гидрофильный коллоид; ЖГ – желточные
гранулы; ЖК – жировые капли;
zrl – наружный слой *zona radiata*;
zrll – внутренний слой *zona radiata*;
ПС – поверхностный слой цитоплазмы,
свободный от желтка;
СО – студенистая оболочка

рого деления созревания. Ниже слоя пигментных гранул имеются желточные гранулы белковой и липидной природы. В вегетативной части яйца обычны жировые капли. В лакунах анимальной области имеется гидрофильный коллоид.

Сперматозоиды осетровых классической формы. Цилиндрическая головка длиной около 7 мкм увенчана маленькой акросомой. В ядре имеется канал со стержнем. В короткой средней части расположены две центриоли и несколько митохондрий. От дистальной центриоли отходит один хвостовой жгут.

Настоящие костистые рыбы (Teleostei)

Как и у подавляющего большинства позвоночных, мейоз у костистых рыб блокируется на стадии метафазы второго мейотического деления.

У большинства костистых рыб осеменение наружное. Икра может быть двух типов: пелагическая и донная, или демерсальная. Пелагические яйца обычно встречаются у морских рыб. Каждая яйцеклетка может развиваться отдельно, или все они могут быть соединены студенистой массой. У пресноводных рыб пелагические яйцеклетки встречается редко, что связано с низкой удельной плотностью речной или озерной воды. Плавучесть пелагических яйцеклеток пресноводных рыб обеспечивается формированием в цитоплазме яиц крупных жировых капель, наличием широкого перивителлинового пространства и набуханием наружных оболочек.

Демерсальные яйцеклетки встречаются у прибрежных морских рыб, но преимущественно распространены среди пресноводных. Каждое яйцо развивается отдельно. Самки могут откладывать яйца на дно, как налимы, или закапывать в грунт, как лососи. Однако чаще всего донные яйца имеют клейкие оболочки и приклеиваются к субстрату: камням, растениям, донным предметам, песку и т.д. (карповые, щуки, вьюны и др.).

У рыб встречаются разнообразные способы заботы о потомстве. Яйцеклетки могут развиваться в специальных гнездах, под панцирем ракообразных, внутри раковин моллюсков, во рту родительских особей. Наибольшего развития забота о потомстве достигает у представителей семейства морских игл и морских коньков (*Syngnathidae*), у которых яйца развиваются в специальных выводковых камерах, расположенных на брюшке у самцов.

В ряде семейств, относящихся к отрядам карпозубообразных (*Cyprinodontiformes*), окунеобразных (*Perciformes*), скорпенообразных (*Scorpaeniformes*) и сарганообразных (*Belontiiformes*), встречается внутреннее осеменение и живорождение.

Яйца рыб с разной экологией размножения имеют соответствующие приспособления. В основном это касается яйцевых оболочек.

У большинства костистых рыб основной является первичная оболочка, имеющая радиальную исчерченность, называемая лучистой оболочкой, или *zona radiata*. Эта оболочка образована из плотного материала, непроницаемого для спермиев. Она может быть однослойной (у лососей, сельдей, окуня), двуслойной или многослойной, как у некоторых карпозубых. Ее толщина варьирует от 2-3 мкм у *Alosa volgensis* и *Syngnathus acusimilis* до 40-57 мкм у тихоокеанских лососей. Снаружи лучистая оболочка очень часто покрыта студенистой оболочкой, являющейся производной фолликулярных клеток. Эта оболочка при попадании в воду набухает и становится либо клейкой, либо очень прочной (рис. 2).

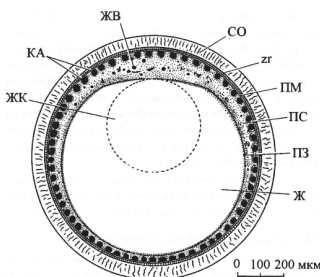


Рис. 2. Схематический рисунок разреза через зрелое неоплодотворенное яйцо окуня: Ж – желток; ЖВ – желточные включения в поверхностном слое цитоплазмы; ЖК – жировая капля; КА – кортикальные альвеолы; ПЗ – переходная зона на границе цитоплазма – желток; ПМ – плазматическая мембрана; ПС – поверхностный слой цитоплазмы; СО – студенистая оболочка; zr – *zona radiata*

Оболочки непроницаемы для сперматозоидов, поэтому имеет-ся одно микропиле, расположенное на анимальном полюсе. Оно начинается на поверхности воронкообразным углублением, переходящим в концевой канал, диаметр которого соответствует ширине головки спермия.

Яйца большинства костистых рыб правильной шарообразной формы с редкими отклонениями. Их диаметр обычно 1-3 мкм, но может варьировать от 0,3 до 20 мм. С размерами яиц коррелирует плодовитость. У трески размеры яйца 1,1-1,7 мм, а плодовитость до 10 млн, у налима диаметр яиц 1,0-1,1 мм, плодовитость – до 5 млн, у кеты диаметр яиц 7-8 мм, плодовитость – 2-3 тыс.

Поскольку в яйцах костистых рыб много желтка, вся свободная цитоплазма оттеснена на периферию и локализуется в основном в анимальной области, в центре которой образуется утолщение. После оплодотворения к нему оттягивается вся периферическая свободная цитоплазма, и формируется выпуклый бластодиск. Борозды дробления разделяют только его. Над зачатком бластодиска обычно располагается микропиле. В самом зачатке, недалеко от микропиле, находится ядерный материал, блокированный на стадии метафазы второго деления созревания. Этот блок снимается при оплодотворении.

В поверхностном, кортикальном, слое яйца лежат кортикальные гранулы. В яйцах костистых рыб они заполнены жидким веществом, легко меняют форму, поэтому их обычно называют кортикальными альвеолами. Они располагаются обычно в один ряд, но если их очень много, то может быть два-три ряда. Диаметр кортикальных альвеол варьирует от 2-3 мкм до 35-40 мкм.

Цитоплазма заполнена желточными гранулами белковой и липидной природы. Белковые гранулы варьируют в размерах от 0,3 до 50-80 мкм. Желточные гранулы снаружи ограничены мембраной, которая часто фрагментирована, а центральное тело желточной гранулы имеет кристаллическую природу. Кроме желточных гранул у большинства костистых рыб имеются обособленные липидные капли. Их размеры переменны. У лососевых рыб жировые включения рассеяны под слоем свободной цитоплазмы. У многих видов они сливаются в одну жировую каплю размером 0,12-1160 мкм.

Помимо желточных гранул и жировых капель в яйцах костистых рыб имеются гранулы гликогена, которые обнаруживаются с ранних стадий оогенеза.

При описании оогенеза Иванков (2000) предлагает использовать следующую схему развития ооцитов.

Схема развития ооцитов:

I. Период синаптенного пути.

II. Период малого роста:

1) ювенильная фаза (фаза В);

2) фаза однослойного фолликула (привителогенеза – фаза С).

III. Период большого роста (рис. 3-7):

1) период раннего вителлогенеза (фазы вакуолизации):

а) в ооците 1-2 ряда вакуолей – фаза D₁;

б) ооцит заполнен вакуолями наполовину или несколько более – фаза D₂;

в) полностью вакуолизированный ооцит – фаза D₃;

2) фазы накопления желтка (период позднего вителлогенеза);

а) начало отложения желтка – фаза E₁;

б) ооцит наполовину заполнен желтком – фаза E₂;

в) ооцит, наполненный желтком, – фаза E₃;

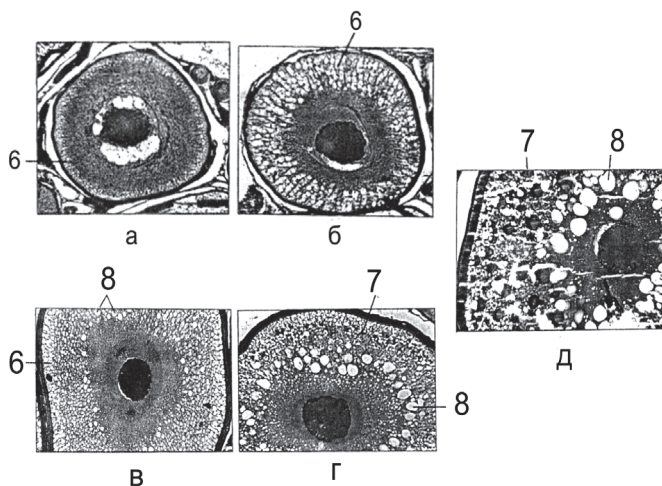


Рис. 3. Строение яйцеклеток кунджи на различных фазах трофоплазматического роста (Дроздов, 2000): а – фаза D, по периферии ооцита 3 ряда мелких вакуолей; б – фаза D₂, вакуоли занимают половину ооцита; в – фаза D₃, в приядерной зоне появляются крупные жировые вакуоли; г – отмечается появление глыбок желтка (темного цвета), ув. 7х10; д – фаза E₂, желток появляется в вакуолях (ув. 7 х 3,6)

IV. Период гомогенизации содержимого ооцита и завершения созревания:

а) гомогенизация содержимого ооцита (подфаза E- F) – сопровождается дальнейшим смещением ядра к периферии ооцита;

б) гидратация содержимого ооцита (подфаза E-F.); зрелая клетка (фаза F).

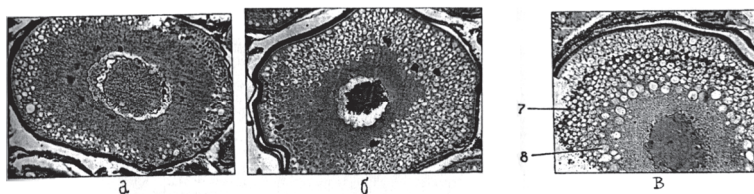


Рис. 4. Строение яйцеклеток мальмы на различных фазах трофоплазматического роста (Дроздов, 2000): а – фаза D, по периферии ооцита 3-4 ряда вакуолей. (ув. 7х16); б – фаза D₂, вакуоли занимают половину ооцита; в – фаза E₁, появляются желточные гранулы (темного цвета), вокруг ядра видны крупные жировые вакуоли (ув. 7 х 10)

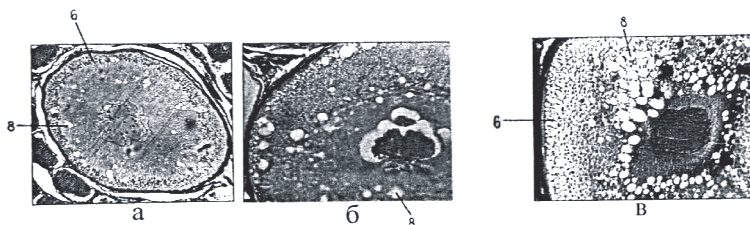


Рис. 5. Строение яйцеклеток сахалинского тайменя на различных фазах трофоплазматического роста (Дроздов, 2000): а – фаза D₁, по периферии ооцита располагаются 6-8 рядов вакуолей темно-голубого цвета; б – фаза D₂, пояснение в тексте; в – фаза D₃, вокруг ядра видны крупные жировые вакуоли (ув. 7 х 10)

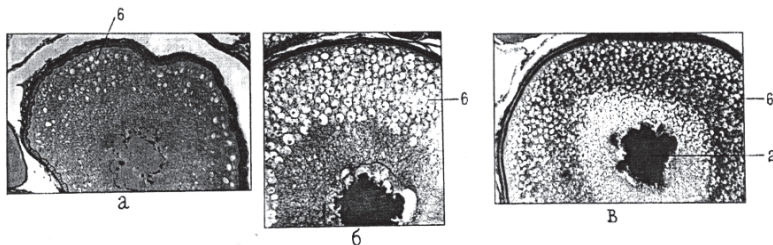


Рис. 6. Строение яйцеклеток ленка на различных фазах трофоплазматического роста (Дроздов, 2000): а – фаза D₂, 2-5 рядов вакуолей; б – подфаза D₂-D₃, вакуоли заполняют более половины ооцита; в – фаза D₃, отмечается полная вакуолизация цитоплазмы ооцита (ув. 10х10)

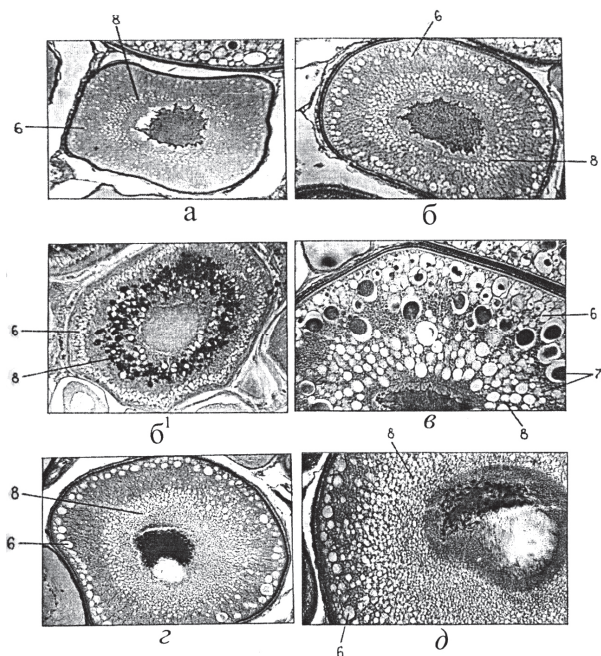


Рис. 7. Строение яйцеклеток сига-пыжьяна (а-е) и сибирской ряпушки (г, д) на различных фазах трофоплазматического роста (Дроздов, 2000): а – фаза D₁, появляются две зоны вакуолей – под оболочкой и вокруг ядра; б – фаза D₂, четко видны две зоны вакуолей; б¹ – фаза D₂, вакуоли внутренней зоны липидной природы; в – фаза E₁, гранулы желтка появляются между двумя зонами вакуолей, желток появляется также в вакуолях; г – фаза D₂, четко видны две зоны вакуолей; д – фаза D₃, полная вакуолизация цитоплазмы (ув. 10 x 10)

Ооциты карася серебряного и сазана, относящихся к подсемейству *Cyprininae*, характеризуются наличием в фазе D₁ одного-двух рядов вакуолей (рис. 8), средний диаметр которых составляет около 21 мкм. По мере вакуолизации цитоплазмы количество рядов возрастает до двух-трех, вакуоли окрашены в голубой цвет. В кортикальном слое отмечены мелкие вакуоли. В фазе E₁ первые гранулы желтка появляются на цитоплазматических мостиках между вакуолями практически по всему объему ооцита, но у карася они отсутствуют в приядерной зоне. Фаза E₃ характеризуется тем, что жел-

ток занимает почти весь ооцит; вакуоли, диаметр которых уменьшился до 9,0-20,0 мкм, располагаются в кортикальном слое.

Вторичная оболочка в ооцитах представителей этого подсемейства образуется уже в фазе D₁, в ооцитах, завершивших рост. Она тонкая, всего около 1 мкм, грубо исчерченная; толщина желточной оболочки увеличивается за это время примерно в 10 раз, достигая примерно 10 мкм у карася и 12,5 мкм у сазана.

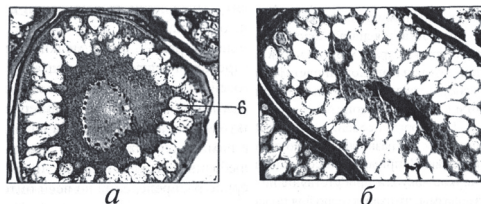


Рис. 8. Строение яйцеклеток серебряного карася на различных фазах трофоплазматического роста (Дроздов, 2000): а – фаза D₂, вакуоли расположены в 2-3 ряда; б – фаза D₃, практически вся цитоплазма занята крупными вакуолями (ув. 7 x 20)

Анализ морфологии ооцитов у различных видов семейства на разных фазах их роста позволил выяснить основные черты строения яйцеклеток. Прежде всего следует обратить внимание на особенности расположения вакуолей в период раннего вителлогенеза.

По мере роста ооцитов претерпевают изменения яйцевые оболочки. У амурского сома в фазе D₁ толщина желточной оболочки – 1,3 мкм, вторичная оболочка в это время еще не обнаруживается, фолликулярная оболочка нормального, как и у карповых, строения. Постепенно фолликулярная оболочка начинает трансформироваться во вторичную. Ядра фолликулярных клеток, вошедших в состав вторичной оболочки, располагаются в ее поверхностных слоях. Желточная оболочка толщиной 5,1 мкм приобретает радиальную исчерченность и окрашивается в серо-голубой цвет. В фазе E₁ ядра фолликулярных клеток лежат в средней части трансформирующейся вторичной оболочки, толщина ее равна 19,2 мкм. Толщина желточной оболочки – 4,2 мкм, по мере роста ооцита вторичная оболочка приобретает ячеистую структуру, ядра фолликулярных клеток внутри нее уже совершенно разрушены. Толщина хориона увеличилась до 32 мкм, толщина желточной оболочки – 3,8 мкм. К моменту завершения созревания ооцитов хорион достигает толщи-

ны 80-85 мкм, представлен пустыми сотами (рис. 9), число которых по радиусу достигает 12-13. Желточная оболочка становится тоньше, всего 1,5-2,0 мкм.

Следовательно, не существует универсальной схемы морфологии и цитохимии оогенеза; очевидно, она различна и специфична для каждой таксономической группы рыб. Общими являются только основные этапы развития ооцитов.

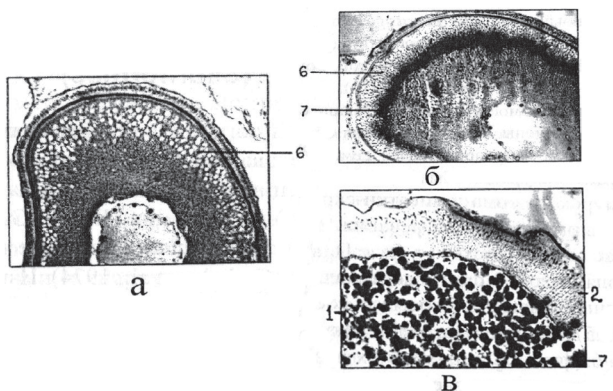


Рис. 9. Строение яйцеклеток сома амурского на различных фазах трофоплазматического роста (Дроздов, 2000): а – фаза D_2 ; б – фаза E , в зоне между вакуолями и невакуолизированной цитоплазмой появляются глыбки желтка (ув. 7х16); в – фаза E_3 , желток (1) заполняет весь ооцит, хорион (2) достигает толщины 80-85 мкм (ув. 7 х 20)

Вопросы для самоконтроля

1. Охарактеризуйте особенности строения яйцеклеток осетрообразных.
2. Охарактеризуйте особенности строения яйцеклеток большинства костистых рыб.
3. Опишите схему развития ооцитов (Иванков, 2000).
4. Существует ли универсальная схема морфологии и цитохимии оогенеза (ответ аргументируйте примерами)?

Тема 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ЗРЕЛОСТИ ГОНАД

В настоящее время в связи с изменением динамики хода производителей на нерест в результате зарегулирования рек возникли большие затруднения в отборе производителей, наиболее пригодных для рыбоводных целей. Это требует прижизненного определения не только состояния производителей, но и их гонад.

Экспресс-метод определения степени зрелости гонад у производителей осетровых

Метод щуповых проб. Для оценки зрелости гонад может быть использован метод щуповых проб, предложенный В.В. Трусовым (1964) и усовершенствованный Б.Н. Казанским с соавторами (1978). Исследования ученых показали, что при завершении преднерестовой IV стадии зрелости (СЗ) гонад в яйцеклетках старшей генерации усиливается поляризация, ядро выходит из зоны крупнозернистого желтка и приближается к оболочкам в районе микропиле. Только после того, как ядро займет определённое положение, возможен нормальный ответ на однократную гипофизарную инъекцию. Воздействуя малыми дозами суспензии гипофиза (градуальные или дробные инъекции), можно ускоренно завершить процесс поляризации и подготовить производителей к нормальному созреванию половых продуктов после обычной гипофизарной инъекции.

Для определения степени поляризации ооцитов у производителей осетровых берут щуповые пробы из каудальной части яичника. Щуп вводится в полость тела под углом 30°, чтобы не задеть жизненно важные органы.

Для определения степени завершения IV СЗ извлечённые щупом икринки разрезают острым лезвием безопасной бритвы точно по оси от анимального полюса к вегетативному и затем рассматривают и измеряют под лупой или бинокуляром. По положению ядра относительно анимального полюса определяют показатель поляризации I

$$I = \frac{A}{B},$$

где А – расстояние от ядра до оболочки анимального полюса ооцита; В – наибольшее расстояние по оси от анимального до вегетативного полюса.

Чем меньше значение I, тем больше поляризован ооцит и тем больше завершённость IV СЗ гонад.

Установлено, что нормальная реакция на гипофизарную инъекцию наступает в случае, если $I < 0,07$.

Наибольшая поляризация обычно характеризуется

$$I = \text{от } \frac{1}{30} \text{ до } \frac{1}{40} \text{ (от 0,025 до 0,033).}$$

Щуп позволяет брать пробы гонад и у самцов. Мазок семенника на предметном стекле рассматривается под микроскопом при среднем увеличении (объектив $20^{\times}$ или $40^{\times}$, окуляр $7^{\times}$) и косом освещении. Наличие множества сформированных сперматозоидов свидетельствует о возможности их нормального созревания.

Модифицированный щуповой метод В.Ф. Гончарова. В пределах группы самок с гонадами в завершённой IV СЗ можно отбраковывать самок, дающих икру низкого рыбоводного качества, с помощью модификации щупового метода определения зрелости гонад, предложенной В.Ф. Гончаровым (1976).

Взятые с помощью щупа фолликулы помещают в раствор Рингера с прогестероном 5 мкг/мл и через 18_т варят в воде, разрезают и определяют сохранность ядра (зародышевого пузырька). Самок, в ооцитах которых ядро сохраняется дольше 18_т, не следует использовать для рыбоводных целей.

Состав раствора Рингера для холоднокровных (модификация В.Ф. Гончарова):

Na – 6,5 г;

KCl – 250 мг;

CaCl₂ – 300 мг;

NaHCO₃ – 2,0 г;

вода дистиллированная – 1 л;

желательно, но не обязательно добавить антибиотики: пенициллин – 500000 ед. и стрептомицин – 0,25 г на 1 л раствора.

Методы стимулирования созревания половых клеток у различных биологических групп осетровых

Работа с озимыми группами осетровых. К озимым относятся: озимый осётр летнего и осеннего хода в реке Волге, озимая севрюга в реках Волга, Кура, Дон, Кубань и озимая белуга Волги и Ура-

ла. Естественный нерест у озимых групп происходит в конце апреля-мае. Они составляют значительную долю нерестовой популяции, поэтому рыбоводное освоение их имеет большое значение.

Существуют две модификации комбинированного способа получения зрелых половых клеток от озимых форм осетровых – экологический в сочетании с одной гипофизарной инъекцией и экологический с повторными градуальными инъекциями. Сначала воспроизводят нормальные условия зимовки, выдерживая производителей в зимовальных прудах или бассейнах с нерегулируемой температурой, где производители зимуют при той же температуре, что и в реке, или терморегулируемых бассейнах Б.Н. Казанского при температуре 2–3 °С. В этих условиях происходит значительный рост ооцитов, а через девять месяцев гонады достигают завершённой IV СЗ.

Стимулировать переход гонад из незавершённой в завершённую IV СЗ удаётся и за более короткий срок при помощи повторных градуальных инъекций суспензии гипофизов. Например, самкам озимых осетров инъектируют небольшую дозу в два-три приёма, а через 24 ч большую дозу.

Озимых осетровых можно использовать: после выдерживания – для обеспечения личинками первого тура, а при сдвиге полового цикла – второго тура.

Работа с яровыми группами осетровых. Естественный нерест у ранних яровых форм – середина мая – начало июня, поздних яровых – июль-август. Нерестовый ход яровых весенне-нерестующих белуги, осетра, севрюги и шипа в настоящее время в связи с гидростроительством нарушился, изменились их физиологическое состояние и структура нерестовых популяций. В результате, даже во время пика массового захода производителей в реки в мае в нерестовой части популяции присутствует значительная часть самок с гонадами в IV незавершённой СЗ. Встречаются самки с гонадами в III–IV СЗ даже в июне. В результате производители осетровых, которых отлавливают на промысловых тонях, для заводского разведения оказываются очень неоднородными, и от большинства из них нельзя получить зрелые половые клетки.

Первым этапом работы с яровыми осетровыми является отбор производителей с текучими половыми продуктами и с гонадами в IV завершённой СЗ. От первых можно сразу получить икру и молоки, пригодные для рыбоводных целей, от вторых – после кратко-

временного (1–3 сут) выдерживания в прудах, садках или бассейнах и однократной инъекции препарата гипофиза или сурфагона.

Для получения половых продуктов у производителей с ооцитами в IV незавершённой СЗ их выдерживают более длительное время (до 1,5 мес.) и применяют повторные «градуальные» инъекции (сначала вводят в несколько приёмов очень небольшие дозы препарата, которые ускоряют поляризацию ооцитов и переход их в завершённую IV СЗ, а спустя 24 ч инъецируют сразу большую дозу, принятую для данного вида, которая вызывает созревание и овуляцию ооцитов).

Работая с производителями, находящимися в угнетённом состоянии и не реагирующими на однократную инъекцию, применяют метод дробных инъекций – общую дозу препарата гипофиза не увеличивают, а делят её на две части: сначала вводят меньшую часть (например, при работе с севрюгой 1/7 часть общей дозы), а через 5–8 ч – большую (6/7 частей общей дозы).

Для повышения эффективности работы с яровыми весенне-нерестующими производителями и удлинения периода, в течение которого от них можно получить половые продукты, отловленных в начале нерестового хода при температурах ниже нерестовых производителей помещают в бассейны Б.Н. Казанского с проточной водой и регулируемой температурой и выдерживают при температуре 2–3 °С до 3 месяцев. К концу времени, когда надо получать половые продукты, в бассейнах постепенно повышают температуру до нерестовой и инъецируют производителей. Это позволяет обеспечить материалом второй цикл выращивания молоди осетровых.

При длительном выдерживании или транспортировке производителей при нерестовых температурах, а также при переохлаждении в бассейнах с терморегуляцией подавляется их способность реагировать на гипофизарную инъекцию созреванием ооцитов. Это происходит вследствие изменения реактивности клеток фолликулярного эпителия к действию гонадотропных гормонов. Восстановить реактивность клеток фолликулярного эпителия и потом после гипофизарных инъекций получить пригодную для рыбоводства икру можно, используя инъекцию самкам трийодтиронина. Для этого можно использовать аптечный препарат трийодтиронина (таблетки по 50 мг растирают в ступке, добавляют раствор Рингера с антибиотиками и инъецируют внутримышечно 600–800 мг в течение суток в три или четыре приёма по 200 мг в каждой инъекции) пере-

охлаждённым самкам. Самок, выдерживаемых или длительно транспортируемых при нерестовых температурах, инъецируют по 200-300 мг в сутки в течение 2–4 сут.

Если производители, после их доставки на завод, находятся в плохом состоянии – малоподвижны или переворачиваются вверх брюхом, – им делают однократные инъекции 300 мг трийодтиронина.

Ранние яровые формы осетровых используются при получении личинок для первого цикла (тура) или при задержке на IV СЗ гонад в терморегулируемых бассейнах для второго цикла. Поздние яровые формы выдерживают 1–3 месяца без регулирования температуры и получают от них личинок для второго цикла.

Влияние внешних условий на действие гипофизарных инъекций и на рыбоводное качество икры

Кроме исходного состояния самок, большое влияние на результаты гипофизарных инъекций и рыбоводное качество яйцеклеток оказывают внешние условия, в которых самки содержатся до инъекции и в период созревания половых клеток. К этим условиям относятся: температура, содержание в воде кислорода, проточность.

После инъекции ГТГ или его заменителя самкам ооциты созревают только при нерестовых температурах. При температурах воды ниже 12-13 или выше 25-26 °С самки себрюги, например, как правило, не реагируют на инъекцию созреванием ооцитов. С другой стороны, самки, исходно способные отвечать на инъекцию при кратковременном (двух-, четырёхдневном) выдерживании в садках при нерестовых температурах до инъекции, теряют способность отвечать на действие гонадотропных гормонов созреванием ооцитов, причём, чем выше температура, тем быстрее самки теряют эту способность.

Потеря самками способности созреть под влиянием гипофизарной инъекции в результате воздействия неблагоприятных температур или выдерживания при нерестовых температурах обусловлена подавлением способности клеток фолликулярного эпителия выделять прогестерон и тем самым вызывать созревание ооцитов. Способность фолликулярного эпителия реагировать на действие гонадотропного гормона может быть восстановлена при помощи инъекции гормона щитовидной железы – трийодтиронина. Однако

нужно иметь в виду, что трийодтиронин не оказывает действия на рыбоводное качество самих ооцитов и не снимает начавшихся явлений дегенерации ооцитов.

Ооциты особенно чувствительны к действию неблагоприятных условий в конце периода созревания. Поэтому особенно важно, чтобы температура воды при выдерживании самок не выходила за пределы нерестовых температур.

Температуры ниже нерестовых (4–7 °С) обратимо подавляют процесс овуляции, но не препятствуют созреванию ооцитов. При этом низкие температуры оказывают на созревшие ооциты активизирующее действие и побуждают их к партеногенетическому развитию внутри фолликулярных оболочек. Если ооциты, дозревшие при 4 °С, быстро перенести в условия нормальных нерестовых температур, то они дружно овулируют, но оплодотворяются только те из них, которые не успели активизироваться за время пребывания при низких температурах. Таким образом, ранняя активация яйцеклеток является одним из основных источников их неоплодотворяемости.

В интервале температур от 10 до 22 °С наибольшее число ооцитов у осетровых нормально дозревает, овулирует и оплодотворяется.

При температуре 24 °С и выше ооциты уже заметно повреждаются: резко снижается процент оплодотворения и увеличивается доля неоплодотворившихся яйцеклеток; среди оплодотворившихся – многие развиваются уродливо. Снижается процент овулировавших яйцеклеток.

Качество яйцеклеток зависит не только от исходного состояния самок и температур, при которых их выдерживают после инъекции, но и от своевременности получения яйцеклеток.

Период от инъекции самок до получения от них зрелых половых продуктов называется периодом созревания (t_c). Установлено, что этот период значительно короче периода эмбрионального развития и составляет от последнего от 0,17 до 0,23 %.

Необходимо иметь в виду, что у самок, имеющих половые клетки в завершённой IV СЗ, существует связь между сроком их выдерживания при нерестовых температурах в недостаточно благоприятных условиях и продолжительностью созревания после инъекции.

Свежевыловленные самки или резервированные менее двух суток созревают первыми. Чем дольше были резервированы самки, тем медленнее они созревают и тем хуже получают от них яйцеклетки.

Вопросы для самоконтроля

1. Опишите экспресс-метод определения степени зрелости гонад у производителей осетровых.
2. Как определяется степень зрелости ооцитов у самок?
3. Охарактеризуйте методы стимулирования созревания половых клеток у различных биологических групп осетровых.
4. Как влияют внешние условия на действие гипофизарных инъекций и на рыбоводное качество икры?

Тема 3. СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЗРЕЛЫХ ПОЛОВЫХ ПРОДУКТОВ, СПОСОБЫ ОСЕМЕНЕНИЯ ЯЙЦЕКЛЕТОК

Зрелые половые продукты берут у производителей тремя способами:

- 1) отцеживания;
- 2) вскрытия брюшной полости рыбы;
- 3) комбинированным способом.

При отборе половых продуктов у производителей следует избегать прямых солнечных лучей и яркого электрического освещения, температура воздуха должна быть близкой к температуре воды.

Способ отцеживания. Перед взятием яйцеклеток голову и хвостовой стебель обёртывают марлей. Если самка небольшая, яйцеклетки отцеживает один человек. Он прижимает голову рыбы локтем левой руки к телу, а кистью этой руки держит хвостовой стебель в таком положении, чтобы генитальное отверстие находилось над краем чистой и сухой посуды (эмалированный таз с ненарушенной эмалью или пластмассовый таз). Сдавив осторожно пальцами правой руки брюхо рыбы, проводят ими в направлении от головы к генитальному отверстию.

Зрелые яйцеклетки свободно вытекают струёй в подставленный таз. Рыбу нужно держать таким образом, чтобы яйцеклетки попадали на край подставленной посуды (нельзя допускать прямого падения яйцеклеток с высоты более 1 см, так как они легко повреждаются).

Отцеживают яйцеклетки до тех пор, пока не прекратится выделение свободных клеток. Нельзя брать яйцеклетки с кровью.

Если самка крупная, то яйцеклетки отцеживают два человека: один держит голову рыбы, другой держит над краем посуды хвостовой стебель и одновременно свободной рукой отцеживает яйцеклетки.

Таким же способом берут и сперму у самцов. Существует очень удобный способ взятия спермы с помощью шприца для переливания крови ёмкостью 200-250 мл (АзНИИРХ). Наконечник из пластмассы или толстой оплавленной стеклянной трубки, соединённый гибким шлангом со шприцем, вводят в генитальное отверстие самца. Движением поршня создаётся вакуум, и сперма всасывается в цилиндр. Такой способ получения спермы обеспечивает стерильность операции и позволяет отбирать необходимое в данный момент количество спермы.

Сперма часто созревает отдельными порциями, поэтому её можно брать от самцов несколько раз. Для этого самцов после каждого отцеживания сажают в специальные садки для выдерживания, при котором созревает очередная порция спермы.

Методом отцеживания получают яйцеклетки осенне-нерестующих рыб (за исключением тихоокеанских лососей) и весенне-нерестующих (карповых, рыбака). Отцеживание половых продуктов следует проводить в специально оборудованном помещении.

Для получения половых продуктов зрелых производителей переносят в помещение в носилках с водой. Сперму, если нужно, можно получить заранее. Для этого её отцеживают в сухую стеклянную посуду, лучше в пробирку, и сохраняют в термосе на льду при температуре около 1–2 °С в течение 1–2 сут.

Яйцеклетки отцеживают в сухие тазы. В один таз можно отцедить 3–4 кг яйцеклеток.

Способ вскрытия. Самку убивают ударом колотушки по голове и обескровливают, делая ножом глубокий надрез на затылке или надрезав жаберы, или перерезав хвостовую артерию. Для того чтобы вытекло больше крови, которая может попасть в полость тела и в яйцеклетки, рыбу подвешивают на блок.

Затем рыбу обмывают, обтирают полотенцем, надрезают брюшко ножом от генитального отверстия до передней его части на 7–12 см и собирают основную массу зрелых яйцеклеток. Попавшую в посуду воду быстро сливают, чтобы не дать возможности яйцеклеткам набухать. Таким методом вскрытия получали яйцеклетки у осетровых, когда не было дефицита производителей.

Важно своевременно взять яйцеклетки у гипофизированных самок. При преждевременном вскрытии, когда овуляция ооцитов ещё не произошла, яйцеклетки не очищаются с ястыков и с усилием снятые с ястыка, не оплодотворяются.

Запоздалое вскрытие – при передержке самки позднее срока полной овуляции яйцеклетки, оставаясь в полости тела самки, повреждаются. После оплодотворения таких яйцеклеток при развитии наблюдается большой процент уродов.

Своевременное вскрытие – большая часть яйцеклеток находится в полости тела, остальная часть яйцеклеток подготовлена к овуляции, легко сходит с ястыка. Процент оплодотворения высокий.

Признаки, которые указывают на зрелость и являются показателем вскрытия самок: брюхо мягкое, яйцеклетки выбиваются

струей, при подъёме самки за хвост значительно, но ещё не полно западает брюшная полость.

Комбинированный способ. При этом способе основную часть половых продуктов берут у рыбы способом отцеживания, а оставшуюся часть – путём вскрытия брюшной полости (у белорыбицы).

Способы прижизненного получения яйцеклеток

Многократное отцеживание. У самок осетровых обычным путём может быть отцежена только порция яйцеклеток, поступившая из полости тела в яйцеводы, которая составляет очень незначительную часть плодовитости самки. Следующее заполнение яйцеводов клетками происходит лишь через некоторое время. Методика многократного отцеживания предусматривает получение яйцеклеток из яйцеводов самок небольшими порциями в течение длительного периода времени. Интервалы между последовательными отцеживаниями составляют обычно от нескольких минут до двух часов. Процедура отцеживания всех яйцеклеток от одной самки растягивается на 6–12 и более часов. Впервые эту методику использовал на стерляди Э.Д. Пельцам (1886). Позднее её применяли многие другие исследователи на различных видах осетровых (Персов, 1957; Михеев, 1972 и др.).

Недостатками многократного отцеживания являются длительность, трудоёмкость, ухудшение качества яйцеклеток в последних порциях и неполное отцеживание. Эта технология непригодна для крупномасштабного производства и в настоящее время на рыбоводных хозяйствах России не используется.

Метод «кесарева сечения» (метод частичного вскрытия брюшной полости с последующим наложением хирургических швов) был разработан И.А. Бурцевым (1969) для получения яйцеклеток от выращенных в прудах гибридов осетровых. Впоследствии метод «кесарева сечения» был использован многими другими исследователями на различных видах осетровых и веслоносе.

Различные варианты этого метода сводятся к вариациям в размере и месте нанесения разреза и методике наложения хирургических швов. Хотя осетровые являются достаточно живучими и обычно быстро выздоравливают после «кесарева сечения», некоторые рыбы все же погибают, особенно при недостаточной опытности рыбоводов. Метод «кесарева сечения» довольно трудоёмок и не позволяет работать с большими партиями рыб.

Метод надрезания яйцевода, разработанный С.Б. Подушка (1986), к настоящему времени прошёл многолетние успешные испытания в ряде рыбоводных хозяйств и с каждым годом получает всё более широкое распространение и признание. Яичники осетровых не имеют собственной полости, и овулировавшие яйцеклетки попадают непосредственно в полость тела. Перед тем как попасть во внешнюю среду яйца должны пройти через яйцеводы, которые представляют собой две длинные трубки, расположенные в дорзолатеральных частях брюшной полости (рис. 10). Причём собственно яйцеводами являются лишь передние участки этих трубок, а остальные их части являются мочеточниками, однако в литературных источниках по рыбоводству обычно используется название «яйцеводы» для всей структуры. Воронки яйцеводов значительно удалены от генитального отверстия в краниальном направлении. Эти анатомические особенности половой системы самок объясняют, почему у осетровых нельзя отцедить все овулировавшие яйцеклетки сразу. Массаж брюха от головы к хвосту приводит к выдавливанию яйцеклеток только из яйцеводов, после чего их стенки спадаются, и дальнейшее отцеживание оказывается невозможным. После надреза каудального участка одного из яйцеводов овулировавшие яйцеклетки могут поступать к генитальному отверстию непосредственно из полости тела, минуя яйцеводы, и отцеживание яйцеклеток можно осуществлять обычным путём, как у костистых рыб.

Для практического осуществления операции необходим только скальпель, ширина лезвия которого должна быть меньше диаметра генитального отверстия оперируемой рыбы (лучше всего для этого подходит глазной скальпель). О начале созревания самок обычно судят по выделению из генитального отверстия отдельных овулировавших яйцеклеток

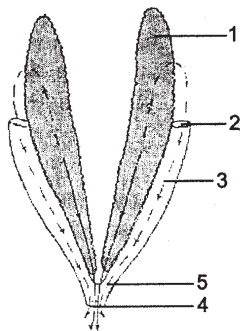


Рис. 10. Схема расположения яичников и яйцеводов в полости тела осетровых:
1 — яичник; 2 — воронка яйцевода;
3 — яйцевод; 4 — генитальное отверстие;
5 — место надреза. Штриховая линия показывает путь овулировавших яйцеклеток при естественном нересте; сплошная линия — при отцеживании после надрезания яйцевода

Самок с признаками созревания оставляют в бассейне на 40-60 мин для завершения овуляции. Это время используют для получения спермы от самцов. Готовую к операции самку извлекают из воды, оборачивают её голову влажным полотенцем и помещают на операционный стол или в специальный станок, представляющий собой брезентовый лоток, соответствующий размеру рыбы.

В отцеживании яйцеклеток у рыб небольшого и среднего размера (массой до 25 кг) обычно участвуют три человека. Один протирает брюхо самки сухим полотенцем и держит таз для сбора яйцеклеток. Второй держит хвостовой стебель рыбы, делает надрез яйцевода и, в случае необходимости, расширяет палочкой генитальное отверстие для облегчения выхода яйцеклеток. Третий человек держит голову и осуществляет массаж брюха рыбы. Можно таз для яйцеклеток устанавливать в специальное гнездо под операционным столом, в этом случае процедуру отцеживания могут проводить два человека. Рыбу размещают на операционном столе брюхом вверх, так, чтобы её хвостовой стебель свисал. Брюхо и хвостовой стебель протирают сухим полотенцем, чтобы предотвратить попадание воды и слизи в таз с икрой. Первоначально отцеживают икру из яйцеводов. После того как дальнейшее выделение яйцеклеток прекращается, в генитальное отверстие, которое находится каудальнее анального, вводят скальпель, но не по медиальной линии, а несколько латерально, направляя его в правый или левый яйцевод, которые сходятся у генитального отверстия. Глубина введения скальпеля в яйцевод зависит от размеров рыбы и составляет от одного до нескольких сантиметров. Прилагая некоторое усилие, делают небольшой надрез яйцевода. Режущий край скальпеля при этом должен быть направлен вверх (к брюху рыбы). У крупных и среднего размера рыб анатомия каудальных частей яйцеводов легко может быть изучена путём пальпации. После надреза яйцевода поступление яйцеклеток к генитальному отверстию возобновляется. Часто при сдавливании брюха яйцеклетки начинают выходить струёй. Для удобства отцеживания рыбу можно положить на бок. Отцеживание продолжают до тех пор, пока яйцеклетки свободно вытекают из полости тела. По окончании отцеживания рыбу полезно поднять головой вверх и согнать остатки яйцеклеток к генитальному отверстию. При первом отцеживании у самки извлекают основную часть овулировавших яйцеклеток (80–90 %). Хотя рыба выглядит сильно похудевшей, и кажется, что яйцеклеток в ней больше нет, через час после первого отцеживания целе-

сообразно провести второе. Второе отцеживание не требует нового надреза яйцевода и осуществляется очень быстро. У крупных и плодовитых рыб может возникнуть необходимость провести и третье отцеживание.

Длительность первого отцеживания обычно составляет от 2 до 20 мин в зависимости от размера и плодовитости самки. Осетровые рыбы хорошо переносят пребывание вне воды в течение этого времени. Применение анестезии целесообразно лишь для крупных экземпляров, которых трудно удержать. На осетровых анестезирующее действие оказывает само нахождение на воздухе. Обычно самка интенсивно бьётся лишь в первый момент после извлечения из воды, а при отцеживании яйцеклеток лежит спокойно.

Стенки яйцеводов осетровых представляют собой тонкие полупрозрачные плёнки, надрезание которых не приводит к значительному кровотечению. Во многих случаях крови вообще не бывает заметно. Столь незначительная рана вскоре полностью заживает. Поскольку описываемый метод используется в ряде рыбоводных хозяйств уже в течение нескольких лет, а межнерестовые интервалы у самок большинства культивируемых видов осетровых составляют один-два года, у многих рыб отцеживание яйцеклеток проводится неоднократно (Подушка, 1999).

Осеменение яйцеклеток

После получения половых продуктов, определения их качества, учёта – осеменяют яйцеклетки. От способа осеменения зависит эффективность оплодотворения яйцеклеток. Яйцеклетки осеменяют смесью спермы от 3-5 самцов, что обеспечивает высококачественное оплодотворение. Обычно осеменение производят не позднее чем через 10-20 мин после взятия яйцеклеток, так как задержка может привести к ухудшению их качества. В рыбоводстве применяют три способа искусственного осеменения: сухой, полусухой и мокрый.

Сухой способ. В эмалированный таз с яйцеклетками добавляют сперму и перемешивают. Затем в таз наливают воду и снова перемешивают половые продукты. Сухой способ применяется как для осенне-нерестующих рыб (лососевых, сиговых), так и для весенне-нерестующих (карповых, щуки).

В таз отцеживают 3–4 кг яйцеклеток, затем на них выливают из пробирки сперму от 3–5 самцов из расчёта 2–2,5 мл спермы на 1 кг яйцеклеток. Половые продукты осторожно и тщательно перемешивают.

вают рукой. Затем добавляют около 100 мл воды на 1 кг яйцеклеток, вновь перемешивают и оставляют на 3–5 минут.

Полусухой способ осеменения (В.П. Врасского) разбавленной спермой. В эмалированный таз с яйцеклетками приливают сперму, разведённую водой непосредственно перед осеменением, и сразу же приступают к перемешиванию половых продуктов.

Полусухой способ применяют для осетровых. Сперму отцеживают от каждого самца в отдельный сухой сосуд. Перед осеменением полученную от 3–5 самцов сперму смешивают, доводя её до требуемого объёма – 10 мл спермы на 1 кг яйцеклеток. В момент осеменения сперму разбавляют водой 1:200 и выливают в таз с яйцеклетками. Сперму и яйцеклетки тщательно перемешивают в течение 3–5 мин.

Мокрый способ. В эмалированный таз с яйцеклетками наливают воду, затем вносят сперму и тут же перемешивают половые продукты.

К этому способу относится и такое осеменение, когда яйцеклетки и сперму одновременно вносят в эмалированный таз с водой и содержимое перемешивают (модифицированный мокрый способ). Его применяют для осеменения яйцеклеток рыбака. В сухой эмалированный таз отцеживают яйцеклетки от 15 зрелых самок, а в сухую чашку отцеживают сперму от 5–8 самцов. В свободный таз, куда наливают 4–5 л воды, одновременно сливают яйцеклетки и сперму, и осторожно перемешивают птичьим пером, после чего яйцеклетки оплодотворяются.

Экологический метод получения оплодотворённых яйцеклеток сиговых. При его использовании для выдерживания производителей полупроходных сиговых рыб, их нереста и сбора оплодотворённых яйцеклеток применяются плавучие сетчатые садки, стационарные бассейны или переносные лотки длиной не менее 30 м. Садки устанавливаются в реке; в бассейнах и лотках создаётся проточность воды.

После нереста рыб яйцеклетки опускаются на дно устройства и там набухают. Для последующего смыва создаётся гидравлический толчок (сильное течение воды), и яйцеклетки попадают в контейнер, откуда выбираются сачком и доставляются в инкубационный цех.

Впервые этот метод был использован на Баргузинском рыбноводном заводе для сбора яйцеклеток омуля. Он обеспечивает максимальную рабочую плодовитость (в 2,5 раза больше в сравнении с

методом отцеживания). Оплодотворяемость яйцеклеток составляет 98 %, а вылупление предличинок 90 % (против 75 % при обычном способе получения яйцеклеток).

Оценка качества половых клеток рыб

В рыбоводстве необходимо использовать объективные критерии качества половых клеток и, в частности, яйцеклеток. Связано это с тем, что у самок, созревающих как в естественных, так и в искусственных условиях, яйцеклетки, как правило, биологически неравноценны. Морфологическая и физиолого-биохимическая разнокачественность яйцеклеток обусловлена многими факторами, среди которых важнейшими являются физиологическое состояние самок, их возраст, условия нагула в преднерестовый период онтогенеза, расположение ооцитов в яичнике и особенно степень физиологического созревания и перезревания в нерестовый сезон. Разнокачественность овулировавших яйцеклеток предопределяет их различную оплодотворяемость, жизнеспособность развивающихся из них эмбрионов и личинок, типичность роста личинок и физиологобиохимические характеристики.

В ястыках, наряду со зрелыми яйцеклетками, имеются недозрелые и перезрелые яйцеклетки. Иногда все яйцеклетки оказываются недозрелыми или перезрелыми. Поэтому при взятии яйцеклеток способом вскрытия есть опасность получить какую-то часть яйцеклеток непригодной к оплодотворению. По внешнему виду трудно отличить зрелые яйцеклетки от незрелых или перезрелых.

О качестве яйцеклеток можно судить по внешнему виду (зрелые яйцеклетки прозрачны, кроме осетровых, округлой формы, не дряблые и имеют свойственную данному виду окраску).

М.Ф. Вернидуб предложила простой метод определения качества яйцеклеток осетровых, основанный на различной способности яйцеклеток разной степени зрелости обесцвечивать раствор метиленовой сини:

1) готовят свежий раствор метиленовой сини (1 капля 0,05 % водного раствора метиленовой сини на 10 мл профильтрованной речной воды);

2) бюкс или пробирку наполняют доверху указанным раствором, помещают яйцеклетки из расчёта 1 мл яйцеклеток на 5 мл раствора, плотно закрывают и несколько раз встряхивают:

- незрелые яйцеклетки – раствор не обесцвечивается;
- зрелые доброкачественные яйцеклетки – полное обесцвечивание через 30-60 мин;
- перезрелые яйцеклетки – полное обесцвечивание через 10–15 мин;
- сильно перезрелые яйцеклетки – полное обесцвечивание через 1–2 мин.

Исследования по влиянию перезрелых яйцеклеток на потомство впервые провёл чешский исследователь Мрзич. Он установил, что в тех случаях, когда перезрелые яйцеклетки оплодотворяются, получается повышенный процент самцов.

Российские учёные (Привольнев и Харченко) установили, что перезревание яйцеклеток на срок до двух недель (у свирского лосося) приводит к снижению устойчивости развивающихся эмбрионов к воздействию факторов внешней среды. Отход личинок из перезрелых яйцеклеток превысил в 1,5 раза отход личинок из нормальных яйцеклеток. Наблюдения этих авторов подтвердили исследования чешского учёного об увеличении в потомстве от перезревших яйцеклеток процента самцов.

Необходимо отметить, что рыбоводные качества перезрелых яйцеклеток осенне-нерестующих рыб сохраняются несколько дней, даже недель, а весенне-нерестующих – несколько часов. Перезревание яйцеклеток осетровых рыб на 6–8 ч ухудшает их рыбоводные качества настолько, что делает их совершенно непригодными для рыбоводных целей. Перезревшие яйцеклетки становятся неспособными к оплодотворению и развитию в результате физиолого-биохимической и структурной деградации. Недозревшие яйцеклетки не могут быть оплодотворены и погибают.

Установлено, что выживание эмбрионов положительно коррелирует с интенсивностью дыхания овулировавших яйцеклеток ($r = 0,50-0,63$), – чем выше интенсивность дыхания яйцеклеток, тем выше выживание эмбрионов. Оплодотворяемость овулировавших яйцеклеток и выживание эмбрионов коррелируют с содержанием метаболитов гликолиза молочной кислоты и цикла Кребса (пирувата, малата, изоцитрата, щавелево-уксусной кислоты), – чем выше содержание метаболитов цикла Кребса в овулировавших яйцеклетках, тем выше выживание эмбрионов. Обратная связь выявлена между содержанием лактата (аниона молочной кислоты) в овулировавших яйцеклетках и выживанием эмбрионов. Обнаружены

прямая связь процента оплодотворения с содержанием общих липидов и триглицеридов в яйцеклетках севрюги и обратная с относительным количеством фосфолипидов и свободного холестерина.

Определение качества яйцеклеток с помощью физиолого-биохимических методов требует специальной подготовки и соответствующего оборудования, что в настоящее время затрудняет объективную оценку яйцеклеток, используемых для рыбоводных целей.

Надёжным способом определения качества яйцеклеток является наблюдение за процессом эмбрионального развития в период инкубации. Однако он является запоздалым и даёт ошибки на начальных стадиях эмбриогенеза, так как в этот период делятся и неоплодотворённые яйцеклетки. Уже позже выявляется разница в развитии оплодотворённой и активированной яйцеклеток. Обычно когда у оплодотворённой яйцеклетки начинается гастрюляция, неоплодотворённая погибает.

Исследования по определению рыбоводных свойств яйцеклеток были проведены А.Ф. Ершовым. В 1936 г. он установил, что выдерживание яйцеклеток осетровых в воде до осеменения в пределах 30 мин вызывает лишь частичное набухание яйцеклеток (у вегетативного полюса) и незначительное выделение клейкого вещества. При этом способность яйцеклеток к оплодотворению не снижается. При выдерживании яйцеклеток более 40-50 мин происходит набухание оболочек по всей поверхности, микропиле закрываются, и яйцеклетки не могут быть оплодотворены. Позже было установлено, что у осетра и севрюги часть яйцеклеток может быть оплодотворена после нескольких часов пребывания в воде.

По данным А.С. Гинзбург и Т.А. Детлаф (1969), оплодотворяемость яйцеклеток, взятых у самок и помещённых в воду, быстро утрачивается. Так, например, яйцеклетки щуки и рыбака через 1 мин после помещения в воду оказываются полностью неспособными к оплодотворению. Через несколько минут теряют способность к оплодотворению яйцеклетки кеты, чавычи, сёмги, ряпушки.

При осеменении яйцеклеток волжской сельди сразу после её получения, по данным Н.С. Строганова, оплодотворялись все яйцеклетки, при осеменении через 1 минуту после внесения в воду оплодотворялось 65, через 2 мин – 35, а через 7 мин – 1 %.

Значительно больше, чем в воде, сохраняется оплодотворяемость яйцеклеток в физиологическом растворе и особенно в полостной жидкости. Например, у форели яйцеклетки сохраняют способ-

ность к оплодотворению при температуре от 2 до 12 °С в воде от 1,5 до 30 мин, в физиологическом растворе – от 48 до 240 ч и в полостной жидкости – от 72 до 360 ч. Яйцеклетки осетровых сохраняют способность к оплодотворению в воде от 4 до 12, в физиологическом растворе – от 8 до 16 и в полостной жидкости – от 12 до 18 ч.

В «уснувшей» самке яйцеклетки на протяжении некоторого времени сохраняют способность оплодотворяться, но этот период значительно короче, чем при выдерживании яйцеклеток, взятых у живых особей.

Большое значение имеет качество спермы. Сперматозоиды неподвижны, пока находятся в спермиальной жидкости. При попадании в воду они тут же активизируются и начинают энергично, но недолго плавать. Длительность движения спермиев в воде и является показателем их активности. В периоде активности спермиев выделяют две стадии – поступательное и колебательное движения. В связи с тем, что оплодотворение яйцеклеток осуществляется в период поступательного движения спермиев, длительность этого движения является для рыбоводов очень важным показателем, который характеризует качество спермы.

Активность спермиев в воде различна по времени у разных видов рыб и колеблется от нескольких секунд (у костистых) до нескольких часов (у осетровых). У некоторых рыб, например лососевых, спермии становятся активными не только в воде, но и в полостной жидкости.

У большинства рыб концентрация спермиев очень высокая – от 5 до 30 млн/мкл – и значительно выше, чем у животных с внутренним оплодотворением. Это связано с приспособлением к оплодотворению в сложных условиях внешнего осеменения яйцеклеток (течение воды, снос спермиев).

Существует зависимость между продолжительностью движения сперматозоидов в воде и возрастом самцов. Так, сперматозоиды 3-5-летних самцов форели утрачивают подвижность через 51-53, у 5-6-летних через 62-65 и у 7-8-летних через 45 с.

Продолжительность движения сперматозоидов зависит от температуры воды. Сперматозоиды щуки, например, при температуре 5 °С сохраняют подвижность около 2, при температуре 10 °С – 1,5, при температуре 15 °С – 1 мин.

Качество спермы оценивают:

1) по её концентрации (количеству сперматозоидов в 1 мкл семенной жидкости, которое устанавливают под микроскопом в счётной камере Горяева);

2) её активности (продолжительности поступательных движений сперматозоидов в воде);

3) оплодотворяющей способности (определяют по проценту оплодотворения яйцеклеток);

4) внешнему виду:

- хорошая сперма – консистенция жидкой сметаны и слегка желтоватый оттенок (у осетровых) или чисто белый цвет;

- средняя по качеству сперма – консистенция сливок и белый цвет;

- плохая сперма – жидкая, имеющая вид разбавленного молока голубоватого оттенка.

Ориентировочно качество спермы можно определить по пятибалльной шкале Г.М. Персова:

5 баллов – сперма отличного качества (заметна подвижность всех сперматозоидов, хорошо видно общее движение спермы);

4 балла – хорошая сперма (поступательное движение сперматозоидов ярко выражено, но и встречаются сперматозоиды с зигзагообразным и колебательным движением);

3 балла – сперма удовлетворительного качества (зигзагообразное и колебательное движение преобладает над поступательным, имеются неподвижные сперматозоиды);

2 балла – поступательного движения сперматозоидов почти нет, имеется только колебательное и изредка зигзагообразное (до 75 % сперматозоидов неподвижны);

1 балл – все сперматозоиды неподвижны. Сперма с оценкой 1 и 2 балла для осеменения яйцеклеток непригодна.

Таким образом, продолжительность периода сохранения подвижности и оплодотворяющей способности сперматозоидов неодинакова у разных видов рыб и зависит от условий внешней среды и индивидуальных особенностей производителей.

Эффективность различных способов осеменения яйцеклеток в зависимости от биологических особенностей половых клеток разных видов рыб

Осеменение яйцеклеток – это искусственное смешивание яйцеклеток и спермы для обеспечения необходимого контакта между ними. Оплодотворение и т.д. – слияние ядер мужской и женской половых клеток.

В связи с большими масштабами искусственного воспроизводства рыб большое значение имеет научное обоснование всех звеньев рыбоводного процесса. Особую роль играет искусственное осеменение, которое при правильной биотехнике даёт результаты зачастую лучшие, чем естественный нерест, а при неправильной биотехнике приводит к большим потерям и резкому снижению эффективности искусственного воспроизводства.

Искусственное осеменение может быть успешным только в том случае, если применяемая рыбоводом техника осеменения соответствует биологическим особенностям половых клеток рыб.

Сохранение способности половых клеток к оплодотворению у лососевых и других костистых рыб в течение очень короткого периода после попадания в воду было впервые установлено В.П. Врасским, который разработал новый способ осеменения. Яйцеклетки и сперма собираются отдельно в сухие сосуды, а затем сперму, непосредственно перед добавлением к яйцеклеткам, разводят водой. При использовании такого способа на лососевых рыбах В.П. Врасский всегда получал высокий процент оплодотворения. В то время такой метод назывался «способом сухого осеменения». Позднее он получил название «полусухого» способа.

Позже этот способ был видоизменён – сперму отцеживали непосредственно на сухие яйцеклетки, затем половые продукты перемешивали и уже после этого приливали немного воды. В таком виде метод В.П. Врасского под названием сухого или русского способа осеменения распространился по всему миру и при разведении лососевых и других костистых рыб повсеместно вытеснил мокрый способ.

Однако в настоящее время сухой способ осеменения нельзя считать наилучшим для всех видов рыб. Накопление знаний о

свойствах половых клеток разных рыб позволило дать биологическое обоснование различным методам и ограничить применение сухого способа.

Сухой способ искусственного осеменения может быть использован только для тех видов рыб, у которых спермии полноценно активируются, и приобретают подвижность, в полостной жидкости. К таким рыбам относятся форели, лососи, хариус, муксун. Оплодотворение у этих рыб происходит ещё до прибавления воды, в полостной жидкости, которая обеспечивает более продолжительное сохранение подвижности сперматозоидов и их оплодотворяющей способности.

У других видов рыб, таких, как вьюн, рыбец, спермии в полостной жидкости совсем не активируются, поэтому сухой способ для них является менее пригодным. При применении мокрого или полусухого способов осеменения для таких рыб необходимо следить за тем, чтобы яйцеклетки и спермии до соединения находились в воде минимальное время. Особенно это относится к рыбцу, спермии которого в воде теряют подвижность через 15-30 с и утрачивают оплодотворяющую способность. Для рыбца наиболее пригоден видоизмененный мокрый способ осеменения, который заключается в том, что икру и сперму отцеживают в сухие сосуды, затем одновременно вносят в воду и перемешивают. Такой способ осеменения яйцеклеток рыбца даёт лучшие результаты в сравнении с полусухим и сухим способами (процент оплодотворения выше соответственно на 5 и 21 %).

В отечественном осетроводстве до 60-х гг. XX в. применяли все три способа искусственного осеменения. Полусухой способ был введён в осетроводство в конце XIX в. Н.А. Бородиным в его первых опытах по искусственному осеменению яйцеклеток севрюги на реке Урал. Широкого распространения полусухой способ не получил.

Мокрый способ для осеменения яйцеклеток осетровых в несколько изменённом виде применил в 1910 г. А.Н. Державин. По его методу икру перед осеменением хорошо промывали водой и, таким образом, удаляли вязкую полостную жидкость, после этого в воду с икрой добавляли сперму.

На большинстве рыбоводных заводов в течение многих лет применяли сухой способ осеменения.

Сравнение эффективности этих трёх способов осеменения, проведённое на яйцеклетках белуги, осетра и севрюги в производственных условиях, показало, что лучшие и наиболее стабильные результаты даёт полусухой способ (Гинзбург, 1963, 1968). Этот способ в 1963 г. был рекомендован Главрыбводом и с успехом применяется на осетровых рыбоводных заводах в настоящее время.

Меньшая пригодность для осетровых рыб сухого способа осеменения обусловлена тем, что при его использовании сперму перемешивают сначала с полостной жидкостью и лишь после этого с водой. Между тем спермии осетровых в отличие от спермиев многих костистых рыб не только не активируются полостной жидкостью, но и в смеси с нею значительно хуже активируются водой. Неблагоприятное влияние полостной жидкости особенно сильно сказывается при осеменении сухим способом яйцеклеток осетра (у которого полостная жидкость имеет более вязкую консистенцию), а также яйцеклеток всех видов осетровых при малом количестве или недостаточно высоком качестве спермы.

Полусухой способ имеет преимущества не только перед сухим, но и перед мокрым способом. Основным недостатком мокрого способа является то, что при его применении нередко часть яйцеклеток активируется ещё до осеменения под влиянием воды и механических воздействий при перемешивании яйцеклеток, которые утрачивают способность к оплодотворению. Кроме этого недостатка имеется и другой: при помещении неоплодотворённых яйцеклеток в воду яйцеклетки, которые активировались ещё в теле самки, приобретают клейкость. Если партию яйцеклеток, имеющую значительный процент таких клеток, осеменить мокрым способом, то может образоваться множество комков, и это сделает яйцеклетки непригодными для рыбоводных целей. При полусухом способе активированные яйцеклетки, попадая в воду, также приобретают клейкость, но комки не успевают образоваться, так как эти яйцеклетки обесклеиваются одновременно с оплодотворёнными.

Таким образом, преимущество полусухого способа осеменения является вполне закономерным и обусловлено биологическими особенностями половых клеток осетровых рыб.

Существенное значение для результатов осеменения имеет дозировка спермы. Если взять недостаточное количество спермы, то

часть яйцеклеток остаётся неоплодотворённой. Это связано с тем, что в малоконцентрированной суспензии спермиев лишь немногие из них оказываются в непосредственной близости от микропилярных каналов яйцеклеток, тогда как остальные не успевают преодолеть расстояние, отделяющее их, за те несколько минут, в течение которых длится процесс осеменения.

Если же взять слишком много спермы, то процент оплодотворения будет высоким, но некоторая часть яйцеклеток окажется нежизнеспособной из-за полиспермного оплодотворения. Отход за счёт таких яйцеклеток может достигать 15–20 %.

Исследования А.С. Гинзбург и Т.А. Детлаф показали, что лучшим разведением спермы водой при осеменении яйцеклеток осетровых является разведение в 200 раз.

Следует иметь в виду, что сперма одного вида как у осетровых, так и у костистых рыб может сильно различаться по своим свойствам. Например, концентрация спермиев различается в 2–3 раза, а иногда в десятки раз. Спермии также значительно различаются по способности к поступательным движениям и сохранению оплодотворяющей способности в воде при хранении сухой спермы. По данным Г.М. Персова, у рыб, как и у млекопитающих, проявляется избирательность яйцеклеток в отношении сперматозоидов. При осеменении яйцеклеток спермой от разных самцов повышаются показатели оплодотворения яйцеклеток и вылупления предличинок. Использование спермы от нескольких самцов особенно важно при температурах, отклоняющихся от оптимальных. В связи с этим для осеменения яйцеклеток необходимо использовать сперму нескольких самцов, желательно трёх-пяти.

Процент оплодотворения яйцеклеток зависит от качества яйцеклеток и спермы и от условий, в которых происходит осеменение. Результаты осеменения находятся в тесной связи с температурой, кислородным режимом, освещением и другими внешними факторами. Имеются данные о том, что осеменение яйцеклеток осетровых можно проводить не только с использованием пресной, но и солёной воды. В воде с солёностью 1-2 % оплодотворение проходит более успешно, чем в пресной. Продолжительность поступательного движения спермиев в воде с солёностью 2 % более чем в 2 раза больше, чем в пресной воде. Эффективность оплодо-

творения у карпа значительно выше в 0,1–0,3%-х растворах NaCl. Солевой раствор повышает активность спермиев, а следовательно, оплодотворяемость яйцеклеток. При этом увеличивается перивителлиновое пространство, в результате чего расширяется жизненное пространство развивающегося эмбриона и улучшаются условия газообмена.

В форелеводстве при осеменении яйцеклеток используют раствор Хамора, представляющий собой смесь солей хлористого натрия (6 г), хлористого кальция (0,2 г) и мочевины (4,5 г). При его применении продолжительность движения спермиев увеличивается в 2-5 раз, а микропиле яйцеклетки остаётся открытым более продолжительное время.

Вопросы для самоконтроля

1. Какими методами получают зрелые половые продукты от разных видов рыб?
2. Как оценивается качество половых продуктов рыб?
3. Какие методы используются при осеменении яйцеклеток рыб?
4. Охарактеризуйте эффективность различных способов осеменения яйцеклеток в зависимости от биологических особенностей половых клеток разных видов рыб.

Тема 4. УЛЬТРАЗВУКОВАЯ ДИАГНОСТИКА РЫБ

Ультразвуковая диагностика в настоящее время широко распространена не только в медицине, но и ветеринарии и сельском хозяйстве, в том числе рыбоводстве применяется для определения пола, состояния и стадии зрелости гонад, выявления патологий воспроизводительной системы. Наиболее часто ультразвук применяется в рыбоводных хозяйствах, занимающихся разведением осетровых (русский осетр, сибирский осетр, стерлядь). При исследовании применяют ультразвуковые линейные датчики частотой 5-10 МГц для мелких рыб (до 20 кг); 2-5 МГц – для крупных рыб массой 20-50 кг и конвексные с частотой 2-5 МГц – для больших рыб массой более 50 кг. Это связано с тем, что, как известно, чем больше частота ультразвуковой волны, тем меньше будет глубина сканирования. Так, для датчика 2-3 МГц глубина фокусировки будет 10-12 см, для датчика 3-5 МГц – 6-9 см, для датчика 5-7,5 МГц – 4-5 см, 10 МГц – 2-4 см.

Место для исследования рыб должно быть оборудовано наиболее оптимальным способом для обеспечения свободного доступа к аппарату и рыбе одновременно. Рыбу помещают в специальное корыто с бортиками и фиксируют за голову и хвост, если рыба крупная. Аппарат размещают на столике в тени, чтобы прямые солнечные лучи не мешали считывать информацию с экрана. После исследования рыбу помещают в специальные аквариумы. При исследовании рыб датчик необходимо располагать строго перпендикулярно поверхности рыбы, её продольной оси.

Дифференциацию по полу у рыб проводят по нескольким основным признакам: наличию обочочки вокруг гонад у самцов, поверхность гонады (плоская или извитая), расположению гонад (медиально (ближе к центру) или латерально (ближе к бокам)), структуре самой гонады (однородная или неоднородная), форме каудального края гонады. Стоит учитывать, что в зависимости от вида, возраста, веса рыбы характеристики могут различаться. Например, у перезрелых рыб анэхогенность¹

¹ Слово «эхогенность» образовано от всем знакомого слова «эхо» и обозначает в древнегреческом языке – «отзвук», т.е. отражение волн любой природы в среде их распространения. В данном случае – ультразвуковых волн. Эхогенность – это интенсивность отраженного ультразвукового сигнала, которая показывает акустическую плотность органа. Эхогенность может соответствовать норме, быть повышенной или пониженной. Но бывают случаи, когда эхогенность совсем отсутствует. Тогда говорят об **анэхогенности**.

гонад самок сменяется на гипозохогенность, а гиперэхогенность гонад самцов на анэхогенность.

Поэтому следует проводить ультразвуковое исследование в определенное время, учитывая вид, возраст и массу рыбы, руководствуясь таблицей.

Вид (гибрид)	Индустриальные хозяйства		Хозяйства с естественным температурным режимом	
	масса, кг	возраст, лет	масса, кг	возраст, лет
Русский осетр	2,0-2,5	1+-2	2,0-2,5	2+-3
Белуга	7,0-9,0	3-4	8,0-10,0	4-5
Севрюга	2,0-2,5	2-2+	2,0-2,5	2+-3
Стерлядь	0,3-0,5	1-1 +	0,3-0,5	1+-2
Сибирский осетр	2,0-2,5	2-2+	2,0-2,5	2+-3
Гибрид русский осетр х сибирский осетр	2,0-2,5	1+-2	2,0-2,5	2-2+
Бестер (белуга х стерлядь)	2,5-3,0	2-2+	2,5-3,0	2+-3

Исследование рыб на половую принадлежность в рыбоводных хозяйствах проводят после зимовки при температуре воды около 10 °С, не ожидая периода нагула. При этом следует выдерживать рыб на голодной диете минимум 10 дней. Скопление жира значительно усложняет исследование.

При исследовании рыбы датчик располагают в двух основных плоскостях: в поперечном и продольном направлениях. Исследование начинают на уровне 3-4 жучек от брюшных плавников, передвигая датчик вдоль тела рыбы с наклонами в поперечной плоскости (продольное исследование) или продольной плоскости (поперечное исследование) для получения наилучшего изображения.

На сканограмме визуализируются 4 слоя: кожа в виде гиперэхогенной полосы, подкожная клетчатка – гипозохогенная зона, мышечный слой в виде гипозохогенного слоя с включением более эхогенных (белых) косых поперечных полос межмышечных перегородок, серозная оболочка в виде тонкой гиперэхогенной пленки, собственно гонада. Также у мелких рыб можно увидеть анэхогенный кишечник и дальнейшие слои противоположной стороны в обратном порядке – гонада, серозная оболочка, мышечный слой, подкожная клетчатка, кожа. Гонада самца в оптимальный период для исследования заключена в гиперэхогенную оболочку, сама го-

нада будет однородно-гипоэхогенна. У самки оболочки нет, и гонады не однородны, вследствие чего имеются включения разной эхогенности. При поперечном исследовании на экране УЗИ-сканера видны те же слои и также визуализируется хорда.

По мере развития генеративных органов, как у самцов, так и у самок на некоторых стадиях начинается накопление жира, в связи с чем ткань гонады окружается частично или полностью жиром, который выглядит как почти черные гипоэхогенные участки. Дифференциация по полу становится проблематичной. Поэтому следует знать и учитывать стадии развития гонад. При проведении УЗИ выделяют 5 стадий развития гонад (фото).

У самцов:

1. *Ткань семенника тонкая* молочного цвета, жировая ткань минимальна. На снимках ткань семенника рассмотреть сложно.

2. *Генеративная ткань* семенника развивается (толщина 1,5-3,5 см в зависимости от того, сколько раз происходило развитие семенников до этого), появляется жировая ткань. На сканограммах ткань семенника гипоэхогенна с четкими гиперэхогенными границами и небольшой зоной, почти незаметной аэхогенной жировой тканью.

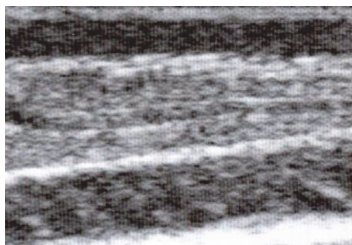
3. *Полужировая стадия развития* характеризуется накоплением жира с латеральной стороны с незначительным увеличением генеративной ткани. Заметна граница между генеративной (зернистая гипоэхогенная) и жировой (аэхогенная) тканью в виде гиперэхогенной прослойки.

4. *Жировая стадия развития гонад* характеризуется разрастанием жировой ткани до 80 % от массы самой гонады, генеративная ткань изменяется слабо, поэтому хорошо визуализируется гиперэхогенная граница между генеративной и жировой тканями.

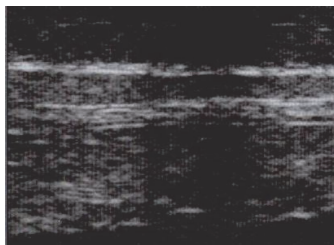
5. *Происходит интенсивное развитие генеративной ткани* за счет расходования жира. Ткань семенника прорастает кровеносными сосудами. Повышаются гиперэхогенность и зернистость ткани, а также четко выражена гиперэхогенная граница семенника.

6. *Происходит развитие спермиев*, ткань семенника на снимках гиперэхогенна и с четкой плотной оболочкой.

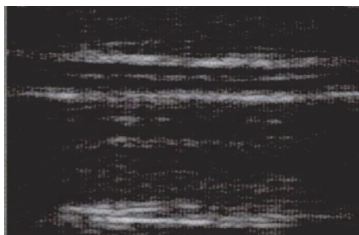
7. *Нерест*. Происходит накопление семенной жидкости, в связи с чем ткань семенника становится гипоэхогенна, и границы будут размытыми.



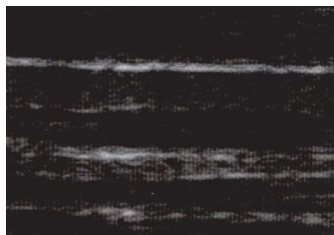
1



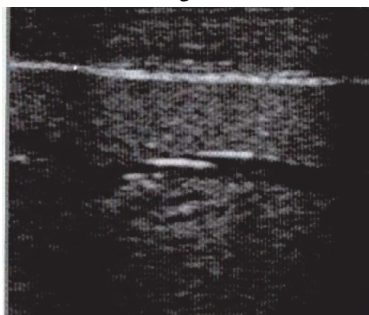
2



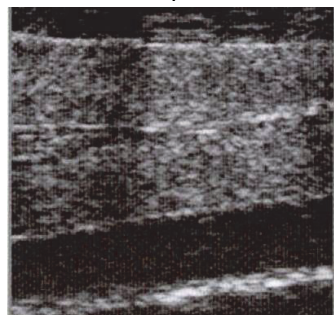
3



4



5



6



7

У самок:

1. *Характерной особенностью является появление на латеральной стороне гонады своеобразной продольной щели*, которая окружается и впоследствии «прорастает» половыми яйценосными полосами. В отличие от эхограммы самцов на эхограмме самок хорошо видна генеративная ткань в виде тяжа без оболочки смешанной эхогенности. Толщина гонады не более 5 мм. Ввиду размытости и нечеткости границ гонад и тканей можно ошибочно определить границы прочих тканей, визуализирующихся как четкая гипоехогенная граница (как оболочка семенника самца рыбы). Данная стадия развития гонад определяется только у годовалых рыб, у которых гонады развиваются впервые. Впоследствии развитие гонад начинается сразу со второй стадии.

2. *Начинается накопление небольшого количества жира*, причем в тканях гонад, а не за ее пределами, как у самцов. С латеральной стороны на сканограмме хорошо видны яйценосные пластины. Эту стадию развития гонад определить не составляет труда.

3. *Полужировая стадия* характеризуется обрастанием гонады жиром, которое начинается с генеративной ткани яйценосных пластин, которые на сканограмме как корни расходятся в жировой ткани от латеральной поверхности в медиальную и выглядят как гипоехогенные тяжи в гипоехогенной толще жира. В дальнейшем по мере накопления жира генеративную ткань видно все меньше.

4. *Жировая стадия* – жир обволакивает яичник полностью, и генеративная часть яичника визуализируется как ткань смешанной эхогенности внутри черной анэхогенной жировой ткани.

5. *Происходит процесс вителлогенеза* (накопления в ооцитах желтка) за счет накопления жира в цитоплазме ооцита, при этом ооциты развиваются, увеличиваются в размере и выступают над поверхностью гонад. Яйценосная пластина на сканограмме выглядит как разветвленные тяжи, пронизывающих жировую ткань, вокруг которых – крупнозернистая генеративная ткань с ооцитами.

6. *Начинается основная стадия развития фолликулов*, утолщение пластин и общее увеличение гонад в объеме при снижении количества жира. Обнаруживаются яйцеклетки на разной стадии зрелости размером от 0,5 до 2 мм. На сканограммах просматриваются пластины, утопленные в генеративную ткань, представленную крупнозернистой гипоехогенной массой ооцитов. С накопле-

нием желтка в ооцитах последние становятся более анэхогенными, могут полностью поглощать ультразвук, создавая «мертвую зону» под ними. Данная стадия продолжается короткий период, в основном во время летнего нагула.

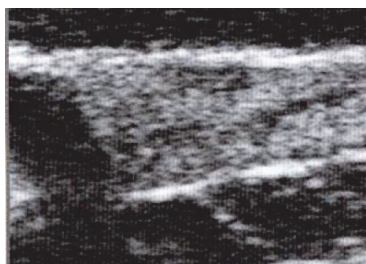
7. *Образуются полноценные яйцеклетки* черного цвета размером более 2,5 мм. Они хорошо просматриваются на УЗИ. Имеется небольшое количество жира.

8. *Окончательное развитие яйцеклеток* при отсутствии жира размером более 3 мм. Ультразвук полностью поглощается клетками и не дает просмотреть всю толщу яичника.

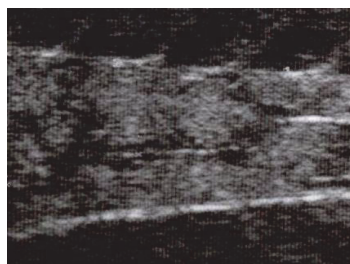
9. *Начинается нерест*. Происходит накопление жидкости в фолликулах и на сканограмме происходит дистальное усиление (белые продольные полосы). Также просматриваются овулировавшие фолликулы.

10. В яичнике *остаются ооциты малого роста*, после нереста рыбы переходят на 2-ю стадию развития гонад (фото).

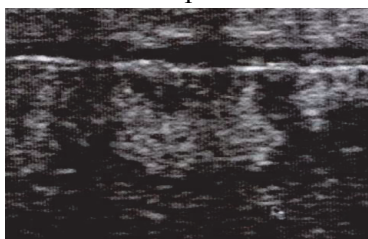
Для ультразвукового исследования рыб применяют в основном стационарные приборы с широким функционалом. Самым часто используемым является mindray DP-50, SonoScape A6 и kaixin 5100 с линейными высокочастотными датчиками.



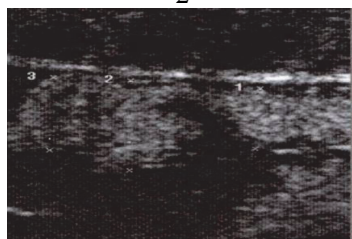
1



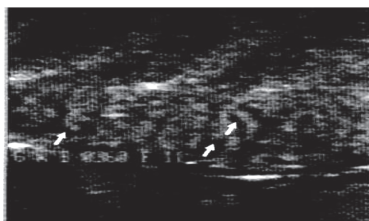
2



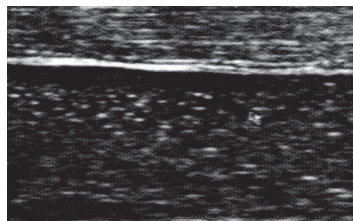
3



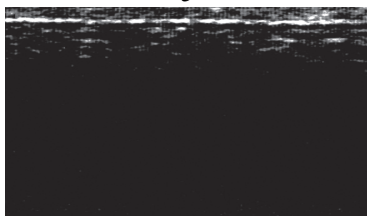
4



5



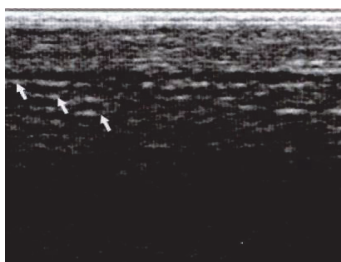
6



7



8



9

Вопросы для самоконтроля

1. С какой целью применяется ультразвуковая диагностика в рыбоводстве?
2. Какие существуют правила для проведения УЗИ?
3. По каким основным признакам дифференцируют рыб по полу (с помощью УЗИ)?
4. В какое время следует проводить УЗИ и что нужно учесть?

Тема 5. БИОТЕХНИКА ЗАДЕРЖКИ ПОЛОВОГО СОЗРЕВАНИЯ И РЕЗЕРВИРОВАНИЯ ПРОИЗВОДИТЕЛЕЙ

Эколого-физиологические и рыбоводно-биотехнические аспекты резервирования и задержки созревания производителей в среде критической солености

Оптимизация условий заводского содержания производителей рыб особенно необходима в связи с существенным снижением их жизнестойкости в период нереста. В связи с катастрофическим сокращением численности осетровых и запрета на их промысел с 2000 г. масштабы заготовки и рыбоводное качество производителей неуклонно снижались. Поэтому рыбоводные заводы были вынуждены перейти к разведению не только заходящих в реки и нерестующих весной осетровых (яровые формы), но и рыб других биологических групп. Как видно из таблицы, особенности миграционных и половых циклов у рыб различных биологических групп приводят к необходимости длительного их резервирования в заводских условиях (табл. 1).

Таблица 1

Особенности рыбоводных работ с производителями русского осетра трех основных биологических групп («Методические рекомендации по применению сурфагона...», 2010)

Биологическая форма	Сроки массового хода	Состояние гонад в период миграции	Кол-во яйцеклеток в 1 г	Длительность выдерживания
Озимый летнего хода	Май-июль	III или III-IV СЗГ. Большие запасы жировой ткани в гонадах	Более 100	10-12 месяцев
Озимый осеннего хода	Конец августа-ноябрь	Незавершенная или завершенная IV СЗГ. Жировая ткань в гонадах развита слабо	50-85	6-8 месяцев
Яровой	Апрель-май	Завершенная IV СЗГ. Жировая ткань в гонадах не развита	41-55	До наступления нерестовых температур

Согласно современным нормативам, длительность резервирования производителей осетровых может достигать 12 мес. При этом наибольшие производственные потери (особенно при работе с севрюгой) происходят в конце нерестового сезона при повышении температуры воды до нерестовой – 20 °С и выше. Эти потери, в основном, связаны с отходом и гибелью рыб при их отлове, транспортировкой и нарушениями в созревании половых продуктов при содержании производителей в бассейнах.

Поэтому в условиях длительного выдерживания при нерестовых температурах особенно актуальной становится задача повышения стрессоустойчивости и сохранения высокого рыбоводного качества производителей. В природе при задержке нерестовых миграций, созревании и нересте проходные рыбы предпочитают оставаться в солоноватых водоемах, опресненных и эстуарных зонах рек. Это может означать, что соленость, особенно невысокая, является физиологически адекватной, оптимальной для них средой.

Поэтому для снижения отхода производителей рыб в любой сезон нереста было предложено резервировать их в среде «критической» солености – 4-8 ‰. По представлению специалистов, критическая соленость является порогом для созревания гамет морских и пресноводных организмов и определяет предел их физиологической устойчивости. Было предположено, что длительное содержание зрелых самок и самцов в этой среде позволит сохранить благоприятное физиологическое состояние и рыбоводные качества производителей при нерестовых температурах. Кроме того, при низкой солености возможна замена морской воды, содержащей более 90 % NaCl, на «искусственный» раствор поваренной соли, и такая несбалансированность ионного состава среды соленостью до 7 ‰ не окажет неблагоприятного воздействия на организм рыб, даже близких к завершению полового созревания.

Для выяснения влияния такой среды на выживаемость производителей были проведены предварительные опыты на наиболее доступном массовом объекте – воле (более 300 особей), а также на 35 самках севрюги. Рыб выдерживали в течение 30-55 дней в растворах морской воды и поваренной соли (5-7 ‰) без кормления, при нерестовых температурах и выше (26-27 °С). В этих экспериментах были установлены, во-первых, сохранение хорошего фи-

зиологического состояния рыб (близкого к исходному при поимке) и, во-вторых, задержка их полового созревания. На рис. 11 показаны графики, характеризующие динамику выживаемости производителей воibly в различных средах.

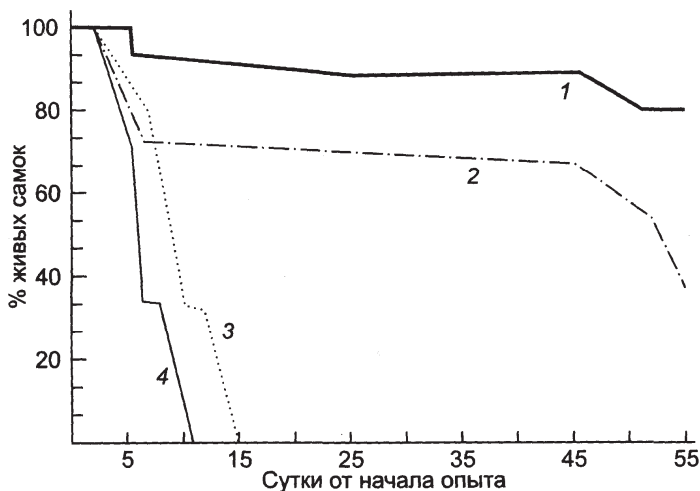


Рис. 11. Выживаемость производителей воibly в пресной воде и растворах поваренной соли: 1 — 5 ‰, 2 — 12 ‰, 3 — 3 ‰; 4 — в контроле (пресная вода)

В результате была установлена возможность резервирования производителей с длительным сохранением их рыбоводных качеств как в морской воде, так и в растворах промышленной поваренной соли 5-7 ‰. Экспериментально-производственную проверку метода резервирования проводили на 15 самках севрюги. Десять подопытных самок содержали в условиях естественного повышения температуры воды от 8 до 20,8 °С и постепенного повышения в воде концентрации поваренной соли до 7 ‰; пять контрольных самок содержали в таком же бассейне при прочих равных условиях, но в пресной воде. От всех подопытных рыб после инъекции (по 30 мг гипофиза на самку) была получена зрелая икра: в I партии через 22 сут, во II — через 28 сут (табл. 2).

Оплодотворение яйцеклеток в I партии самок составило 69,1 ‰, во II — 53,0 ‰, даже несмотря на резкое понижение температуры в период созревания после инъекций (от 20,8 до 17,2 °С). При

оценке рыбоводных показателей было установлено, что качество осеменения яйцеклеток, уровень смертности эмбрионов, степень эмбриопатии в период выклева и в целом процент отхода икры за период инкубации соответствовали производственным нормативам. От подопытных самок I и II партий было получено соответственно 315 и 221 тыс. личинок, успешно переведенных затем на активное питание, подрощенных в прудах и выпущенных в водоем.

В партии контрольных рыб после инъекции гипофиза 4 оставшимся самкам (1 погибла на 23-и сутки резервирования), только от одной были получены рыбоводно-продуктивные яйцеклетки с низким процентом оплодотворения (32 %), ниже производственной нормы – 50 %. У всех контрольных рыб установлена разная степень нарушений физиологического состояния и поведенческих реакций.

Полученные результаты показали, что критическая соленость действительно позволяет резервировать производителей рыб в конце нерестового сезона даже при верхних нерестовых (пороговых) температурах. Как и предполагалось, выдерживание производителей в этой среде вызывает комплексный физиологический эффект – задержку полового созревания и длительное сохранение благоприятного физиологического состояния особей, т.е. в целом их высокое рыбоводное качество близкое к исходному. В итоге был разработан способ резервации производителей рыб.

Изучение препаратов заднего нейрогипофиза у резервированных в критической солености (4-8 ‰) самок севрюги показало умеренную активацию выброса нонапептидных нейрогормонов в кровотоки примерно в течение 15 сут, после чего их содержание здесь восстанавливается до исходного уровня. При кратковременном содержании половозрелой стерляди (в морской воде солёностью 6 ‰) активация нейрогипофиза наступает через 6 часов (2,8 балла нейросекреторного материала), уровень активности снижается через 12-24 ч (3,3 балла) и восстанавливается до исходного неактивного состояния (порядка 4 баллов) ко 2-5-м сут опыта. На слабое стрессорное воздействие критической солености на организм указывает и фазная реакция со стороны интерреналовой и щитовидной желез у стерляди: их синхронная активация (0,5-1,5 ч) сменяется угнетением функции (3-6 ч) ниже контрольного уровня, после чего только интерреналовая железа стойко активируется спустя 72 ч от начала

опыта. Можно утверждать, что эта среда оказывает биостимулирующее влияние на организм производителей, вызывая «эустрессорный» эффект «эндогенного» характера.

Биостимулирующий эффект влияния критической солености можно объяснить, с одной стороны, оптимальным осмотическим градиентом между внутренней и внешней средами (механизмами ионного равновесия по изоосмотическому типу), а с другой – флуктуирующим равновесием между выбросом нонапептидных нейрогормонов в кровотоки и их синтезом в нейросекреторной системе. Такой механизм и должен обеспечивать, прежде всего, оптимальный водно-солевой гомеостаз организма в этой среде.

На основании всего вышеизложенного считается, что разработанный метод может использоваться не только для расширения сроков и уплотнения графика рыбоводных работ, но и для рыбоводного освоения новых видов рыб. При этом замена морской воды на раствор дешевой поваренной соли может широко практиковаться на рыбоводных предприятиях различного профиля и на всех этапах биотехники рыбоводных работ. Это позволяет внедрить новые методы резервирования (и соответственно управления созреванием) производителей, повышения выживаемости оплодотворенных яйцеклеток, личинок и молоди, усиления темпов роста последних и многие другие (табл. 2).

Таблица 2

**Результаты промышленного резервирования самок севиюги в среде критической солености
(растворе NaCl 5–7 ‰)**

Кол-во самок	Продолжительность созревания, ч	Количество полученных яйцеклеток, кг	Оплодотворение, %	Количество оплодотворенных яйцеклеток, тыс. шт.		Дата вылупления личинок	Выход личинок	
				всего	живой		тыс. шт.	1 %
I партия								
1	24	1,7	93,0	136,0	124,6	19-20/VI	74,4	58,6
2	24	2,0	5,6*	152,0	8,5	19-20/VI	4,8	56,4
3	24	2,3	75,0	216,2	162,0	19-20/VI	95,0	58,6
4	26	2,8	97,0	176,4	171,1	19-20/VI	71,5	41,7
5	26	2,2	75,0	135,0	101,2	19-20/VI	70,0	69,1
Итого		11,0	69,1	815,6	569,2		315,7	55,4
II партия								
1	26	3,2	75,0	256,0	192,0	26-27/VI	117,5	61,1
2	29	2,2	93,0	180,4	168,0	26-26/VI	90,0	53,5
3	29	2,4	91,0	182,4	166,0	26-27/VI	13,5	8,1
4	31,5	1,0	2,0	78,0	1,6	26-27/VI	0,5	32,0
5	31,5	1,2	4,0	115,2	4,6	26-27/VI	0,1	21,7
Итого		10,0	53,0	813,0	532,2		221,6	41,6
Контроль								
1	29	2,0	0,0	164,0	0,0			
2	30	2,3	32,0	156,4	50,0	26-27/VI	13,5	26,3
3		Не созрела						
4		Не созрела						
5		Погибла						

*Самка вскрыта преждевременно. Яйцеклетки краниальной части гонад не овулировали.

Основной задачей заводского воспроизводства рыбных запасов является поддержание численности популяций промысловых рыб. Это возможно только при сохранении всего генетического разнообразия их внутривидовой структуры, например, яровых и озимых (включая ранних и поздних) биологических рас, групп, субпопуляций, экоформ и т.д., освоивших в микроэволюции все пространственно-временные экологические ниши биоценоза. Только такая стратегия воспроизводства может обеспечить оптимальную для данного водоема продуктивность и численность популяций и устойчивое состояние биологического прогресса вида. Единство, общая направленность и конечная цель всей работы в этом направлении основываются на представлении о центральном месте гипоталамо-гипофизарной системы в управлении материально-энергетическим балансом вида. Использование принципа сочетания гормональных и экологических воздействий в едином адекватном (природному) комплексе оказывается перспективным для разработки биотехники воспроизводства внутривидовых группировок.

Разработанный на основе результатов комплексных экологистофизиологических исследований механизмов гормональной регуляции функции репродуктивной системы «Способ воспроизводства популяции рыб» (Гарлов, 1977; А.с. СССР № 682197) направлен на сохранение их численности путем заводского разведения всех элементов популяционной структуры в их естественных соотношениях. Сущность способа заключается в синхронизации сроков получения гетерогенного потомства различных биологических рас в едином нерестовом рыболовном сезоне путем управления сроками размножения производителей с разной сезонностью и различными календарными сроками нереста. Данный биотехнический принцип реализуется разнонаправленным воздействием физиологически адекватного комплекса экологических факторов, имеющих для рыб сигнальное значение (рис. 12).

Экологический принцип управления заключается в резервировании производителей в видоспецифических преднерестовых пороговых условиях (температуры и освещенности) на фоне универсального для разных видов содержания в критической солёности. Казанский Б.Н. был первым, кто теоретически обосновал возможность резервирования производителей весенне-нерестящихся рыб в условиях пониженной температуры. Он рекомендовал понижать температуру на 3-4 °С от нижнего нерестового порога для раннего

ярового осетра и резервировать осетровых при 4-5 °С. В настоящее время предлагается резервирование производителей осуществлять в природном комплексе экологических факторов, например, осенне-нерестящихся – при температуре на 1-2 °С выше верхнего нерестового порога и освещенности (L) в диапазоне от 5 до 60 лк, причем превышающую на 75-80 % среднесуточную в период нереста (рис. 12). Все перечисленные условия являются пороговыми для проявления реакций организма рыб в пределах «видовой» физиологической нормы. После резервирования в течение необходимых сроков производителей переводят в нерестовый экологический комплекс, где и стимулируют их половое созревание. Понятно, что эти обобщенные для разных видов условия разведения и резервирования рыб с любым сезоном нереста, основанные на принципах управления реакциями промысловых проходных рыб умеренного климатического пояса, весьма приближенны и могут быть скорректированы опытным путем. Их конкретные величины установлены на основе собственного рыбоводного опыта и вышеприведенных литературных данных.

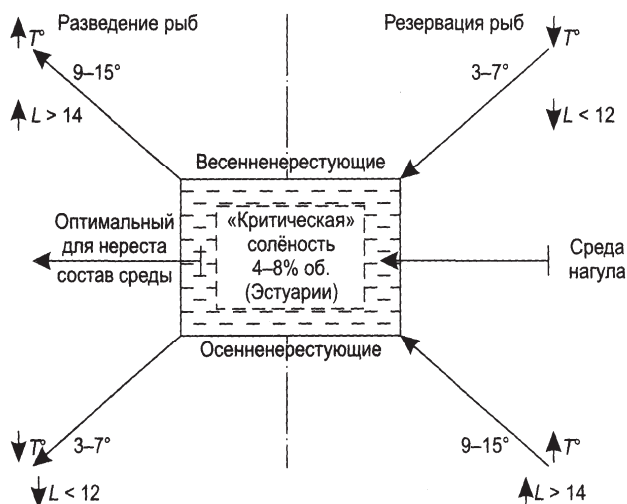


Рис. 12. Принцип управления размножением рыб с различными сезонами нереста, температурой (Т), освещенностью (L – фотопериод в ч/сут) и критической соленостью 4-8 ‰

Вопросы для самоконтроля

1. Чем обусловлена необходимость длительного резервирования осетровых в заводских условиях?
2. Когда и чем обусловлены наибольшие производственные потери при выращивании осетровых?
3. Какая задача в условиях длительного выдерживания при нерестовых температурах становится особенно актуальной?
4. Что было предложено для снижения отхода производителей рыб в любой сезон нереста?
5. Что происходит при выдерживании производителей в среде критической солености?
6. Как можно объяснить биостимулирующий эффект влияния критической солености на производителей?
7. Для каких целей может использоваться разработанный «Способ резервации производителей рыб в среде критической солености»?
8. Что является основной задачей заводского воспроизводства рыбных запасов и каковы условия ее реализации?
9. В чем сущность экологического принципа управления размножением рыб?

Тема 6. СТРОЕНИЕ ГИПОТАЛАМО-ГИПОФИЗАРНОЙ СИСТЕМЫ

Большое значение имеет изучение строения и назначения гипоталамуса и гипофиза рыб. Для достижения данной цели необходимо: изучить строение мозга рыб; определить взаиморасположение гипофиза и гипоталамуса; определить признаки нейрогипофиза и аденогипофиза; найти признаки различия гипофиза костистых рыб и хрящевых ганоидов, научиться извлекать гипофизы и сушить их, а также приготавливать суспензию для инъекции и рассчитывать время созревания производителей.

При изучении строения гипоталамо-гипофизарной системы необходимы следующие материалы и оборудование:

1. Гистологические препараты гипофиза и гипоталамуса
2. Свежая (не мороженная рыба).
3. Микроскопы.
4. Кюветы.
5. Препаровальные иглы.
6. Нож, скальпель, бюкс, фарфоровая ступка с пестиком, шприц, трепан.
7. Таблицы для расчета по варианту.

Краткое изложение теоретического материала

Гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система к настоящему времени довольно подробно изучена на многих рыбах, как на костистых, так и хрящевых. При этом между данными группами рыб в строении нейросекреторной системы имеются существенные различия.

Гипоталамо-гипофизарная нейросекреторная система включает нейросекреторные образования гипоталамуса – нейросекреторный тракт и гипофиз.

Гипоталамус хрящевых ганоидов (осетровых) имеет нейросекреторные преоптические ядра (рис. 13). Клетки преоптического ядра в виде двух симметрично расположенных групп простираются вдоль боковых стенок III желудочка. Нейросекреторные клетки имеют прямой контакт с полостью этого желудочка. Секреторные включения в клетках преоптического ядра у осетровых представлены оптически пустыми вакуолями и гомори-положительными гранулами (окрашивающимися хромоовквасцовым гематоксилином). Как правило, в тех случаях, когда в цитоплазме содержится сравни-

тельно много гранул, вакуолей немного. Напротив, при наличии большого количества крупных вакуолей гранул немного, и они располагаются преимущественно на границах вакуолей.

Гранулы поступают в отростки клеток и либо выводятся непосредственно в полость III желудочка, либо проводятся по преоптико-гипофизарному тракту в сторону гипофиза. Ход тракта хорошо просматривается на препаратах вследствие наличия по ходу волокон скоплений гомори-положительных гранул, которые часто образуют вздутия характерной формы.

Окончания проводящих секрет нервных волокон, называемые часто телами Горринга, обнаруживаются в трубчатых тяжах нейрогипофиза. Эти окончания либо расположены среди клеток эпандимы гипофиза, либо контактируют с эндотелием синусоидных капилляров, лежащих на границе с эпителиальными тяжами промежуточной доли.

У костистых рыб кроме преоптического ядра выделяют латеральное (рис. 14). Скопления нейросекреторных клеток располагаются в стенках серого бугра в непосредственной близости к гипофизу. Клетки преоптического ядра в области преоптической бухты имеют размеры 20-30 мкм. Ближе к центру располагаются более крупные нейроны, а несколько обособленно от них – небольшие группы из клеток размером 90-100 мкм. Клетки латерального ядра довольно крупные. Их размеры бывают от 17 до 70 мкм. Ядра нейросекреторных клеток у лососевых отличается весьма разнообразной многодольчатой формой.

Гипофиз осетровых плотно прилегает к промежуточному мозгу в области дна воронки, выросты воронки проникают в железу лишь в ее задней части в области промежуточной доли, образуя нейрогипофиз. При этом железистая часть гипофиза называется аденогипофизом.

Аденогипофиз осетровых неоднороден по характеру составляющих его клеточных компонентов. В его составе было выделено ряд зон. **Назальная** зона представлена клетками, имеющими на саггитальных срезах вид фолликулов с более или менее значительными просветами в центре. Специальным тестированием установлено, что в основном это клетки, вырабатывающие тиреотропные и адренокортикотропные гормоны.

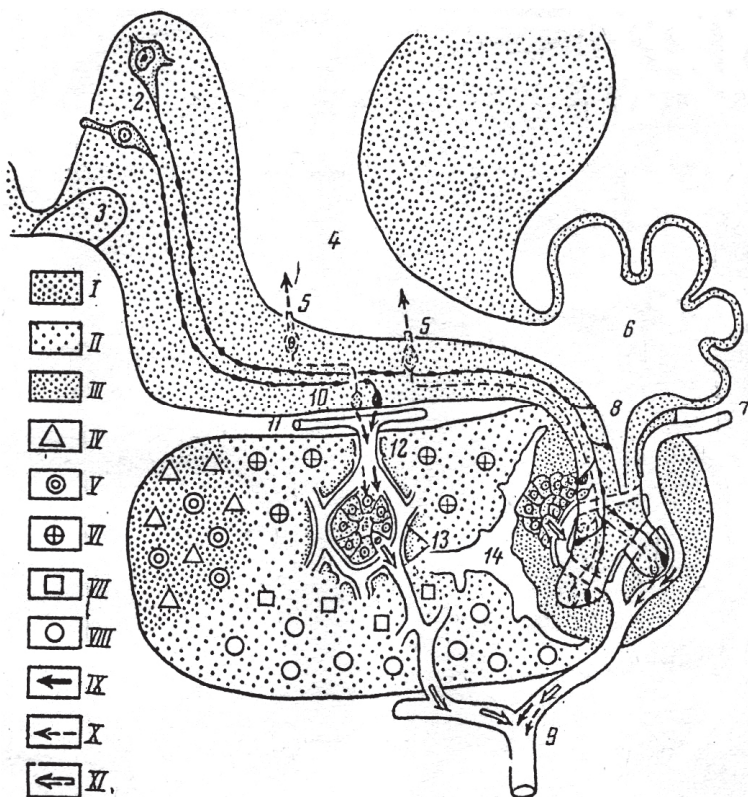


Рис. 13. Схема гипоталамо-гипофизарной системы осетровых рыб:
 1 – преоптическая бухта; 2 – преоптическое ядро; 3 – оптическая хиазма,
 4 – инфундибулярная бухта; 5 – адренергические ядра туберо-
 инфундибулярной области; 6 – сосудистый мешок; 7 – задняя
 гипофизарная артерия; 8 – гипофизарная бухта; 9 – выносящие вены
 общего кровотока; 10 – проксимальная нейросекреторная контактная
 область; 11 – капиллярное первичное сплетение сосудистой оболочки
 мозга; 12 – воротная вена; 13 – вторичная капиллярная сеть передней
 доли гипофиза; 14 – гипофизарная полость: I – проаденогипофиз;
 II – мезоаденогипофиз, III – метааденогипофиз; IV – клетки,
 продуцирующие ЛТГ; V – клетки, продуцирующие АКТГ; VI – клетки,
 продуцирующие СТГ; VII – клетки, продуцирующие ТТГ; VIII – клетки,
 продуцирующие ГТ; IX – пути вывода и транспортирования пептидных
 нейрогормонов; X – пути вывода и транспортирования
 катехоламиновых нейрогормонов; XI – пути вывода
 и транспортирования тройных гормонов аденогипофиза

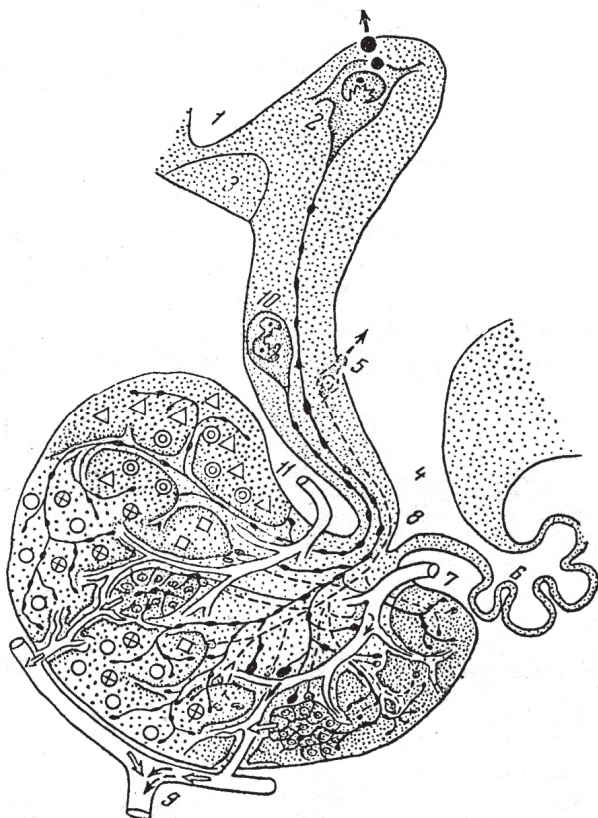


Рис. 14. Схема гипоталамо-гипофизарной системы костистых рыб:

1–9 – то же что и на рис. 1; 10 – латеральное ядро серого бугра;

П – передняя гипофизарная артерия

Вентральная зона содержит клетки, синхронно изменяющиеся при изменении функционального состояния органа. В этой зоне выявлена гонадотропная функция клеток и частично тиреотропная. **Дорсальная** зона содержит в тяжах, кроме клеток, характерных для вентральной зоны, ацидофильные клетки. Их цитоплазма чаще всего выглядит гомогенной. **Промежуточная** доля представлена тяжами клеток, границы между которыми в большинстве случаев заметны плохо. Секреторных гранул обнаружить не удается.

У костистых деление на зоны отлично от осетровых. Сравнительная таблица приводится ниже (табл. 3).

Таблица 3

Осетровые			
Главная доля Pars distalis			Промежуточная доля Pars intermedia
Назальная зона	Вентральная зона	Дорсальная зона	
Ростральная зона	Проксимальная зона		
Костистые			
Главная доля Pars distalis			Промежуточная доля Pars intermedia
проаденогипофиз ростральная зона	мезоаденогипофиз проксимальная зона		Метааденогипофиз

Функция отдельных элементов гипоталамо-гипофизарной системы показана на рис. 15.

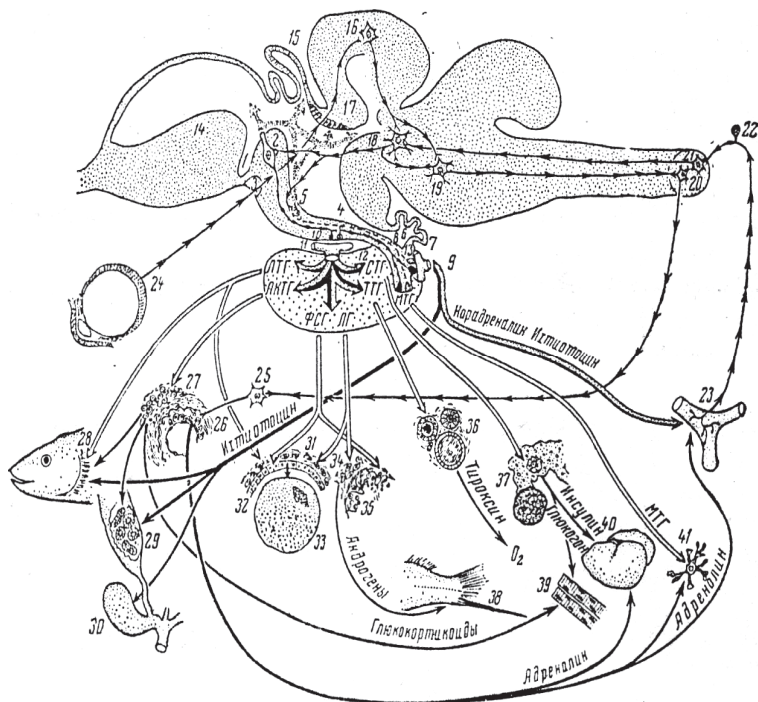


Рис. 15. Универсальная схема нейроэндокринных взаимоотношений у рыб: 1-12 – то же что и на рис. 1; 13 – нейрогипофиз; 14 – передний мозг; 15 – эпифиз; 16 – оптическая покрывка среднего мозга; 17 – субкомиссуральный орган; 18 – нейрон интегративного центра ствола мозга, воспринимающий эфферентные сигналы; 19 – нейрон интегративного центра ствола мозга, передающий эфферентные сигналы; 20 – прегангионарный вегетативный нейрон спинного мозга; 21 – афферентный нейрон спинного мозга; 22 – чувствительный нейрон спинального ганглия; 23 – интерорецептор стенки кровеносного сосуда; 24 – экстерорецептор сетчатки глаза; 25 – постганглионарный вегетативный нейрон; 26 – супраренальная (хромаффинная) ткань в стенке вены; 27 – интэрренальная (кортикальная) ткань в стенке вены; 28 – жаберы; 29 – почки; 30 – мочевого пузыря; 31 – эндокринные текальные клетки фолликула яичника; 32 – клетки фолликулярного эпителия яичника; 33 – яйцеклетка; 34 – интерстициальные клетки семенника; 35 – сертолиевые клетки семенника; 36 – щитовидная железа; 37 – островковая ткань (тело Брокмана) поджелудочной железы; 38 – вторичный половой признак самца – меч (у меченосца); 39 – поперечнополосатые мышцы; 40 – печень; 41 – меланофор; темнопунктирные стрелки – совместное действие пептидных и катехоламиновых нейрогормонов; темные стрелки – действие пептидных нейрогормонов и гормонов желез-мишеней; светлые стрелки – действие тропных гормонов аденогипофиза; пунктирные стрелки – действие через спинномозговую жидкость пептидных и моноаминовых нейрогормонов (нейротропный эффект); вопросительные знаки у стрелок – предполагаемое действие гормона.

Порядок выполнения работы

1. Извлеките гипофиз у костистой рыбы. Для этого необходимо:
 - вскрыть черепную коробку (рассмотреть и зарисовать внешний вид головного мозга);
 - перерезать продолговатый мозг и найти место соединений промежуточного мозга с гипофизом;
 - удалить ложкой Фолькмана сначала головной мозг, а затем извлечь из углубления гипофиз.

2. Отработать методику заготовки гипофизов осетровых для промышленных целей. Для этого необходимо иметь трепан.

У осетровых процедура получения гипофизов следующая:

Устанавливают трепан точно по средней линии черепа позади глаз так, чтобы гипофиз оказался в середине извлеченной пробки. Череп просверливается насквозь до ротовой полости и извлекается пробка, содержащая часть мозга и гипофиз, который бывает хорошо заметен, если срезать костную пластинку, лежащую в основании черепа. После этого нужно осторожно срезать полупрозрачный хрящ, открыв доступ к гипофизу и извлечь его ложкой Фолькмана. Извлеченный гипофиз надо обезжирить и обезводить, для чего в бюкс наливают химически чистый ацетон. После завершения сбора гипофизов их перекладывают в бюкс со свежей порцией ацетона на 6-8 ч.

Извлеченные из бюкса гипофизы просушивают на фильтровальной бумаге и кладут на длительное хранение в сухие, хорошо закрывающиеся пузырьки (горлышко заливают парафином), на которые прикрепляют этикетки с указанием даты сбора, вида рыбы и фамилии заготовителя.

3. Приготовить суспензию гипофиза для инъекции (рис. 16). Для этого извлекают из пузырька высушенные гипофизы и в ступке пестиком растирают в небольшом коли-

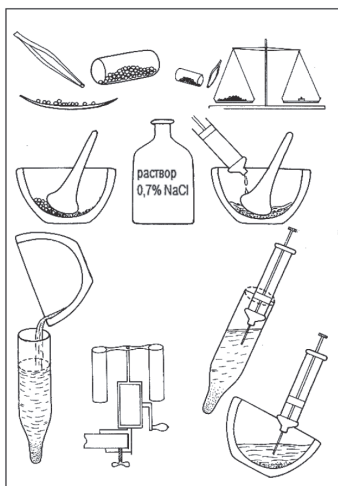


Рис. 16. Схема приготовления гипофизарной инъекции

честве физиологического раствора до тонкодисперсной кашицы. Добавляют еще физиологического раствора, перемешивают, набирают шприцем и вводят в мышцы спины производителей.

4. Рассмотреть гистологические препараты гипоталамуса и гипофиза. Попытаться определить окончания нейронов, тиреотропные клетки, прочие нейросекреторные клетки.

5. Определение времени инъекции суспензии гипофизов и просмотра самок после гипофизарной инъекции для получения от них икры в оптимальные сроки при разных температурах.

Определение времени инъекции суспензии гипофизов самкам белуги, осетра и севрюги для получения яйцеклеток в начале рабочего дня (Т.А. Детлаф, С.Г., Васецкий, С.И. Давыдова, 1965)

Порядок определения

1. Определите среднюю температуру за сутки до дня инъекции.
2. На горизонтальной оси графика (таблицы для расчета) созревания яиц интересующего Вас вида (таблицы для расчета) найдите точку, соответствующую этой температуре и восстановите из нее перпендикуляр до пересечения с кривой 1. Из места их пересечения опустите перпендикуляр на вертикальную ось и определите на ней количество часов, которое пройдет при данной температуре от инъекции до созревания первых самок.
3. Отнимите полученное количество часов от времени начала рабочего дня. Найденная величина – это то время, когда надо инъектировать самок.

Определение времени просмотра самок и взятия яйцеклеток

1. Определите среднюю температуру за период созревания, так как она может отличаться от средней температуры до инъекции. Для этого в 19 ч накануне дня получения яйцеклеток и с 7 ч утра в день получения яйцеклеток рассчитайте среднюю температуру, начиная с момента инъекции.
2. Найдите на горизонтальной оси точку, соответствующую средней температуре за период созревания, и восстановите из нее перпендикуляр до пересечения с кривыми.
3. Точка пересечения перпендикуляра с кривой 1 покажет, через сколько часов созревают первые самки. Найденное число часов прибавьте ко времени инъекции и получите время, когда

надо начинать просматривать самок. Поскольку температура в течение суток непостоянна, за 3-4 ч до первого просмотра необходимо уточнить фактическую среднюю температуру воды. Как правило, температуру на заводах измеряют трижды в сутки: в 7, 13 и 19 ч.

Поскольку интервалы между измерениями неодинаковы, необходимо протяженность интервалов выровнять. Для этого между измерениями в 19 и 7 часов надо ввести среднюю, соответствующую 1 ч. Чтобы получить температуру в это время надо сложить температуру в 19 и в 7 ч разделить на 2. Кроме того, надо сложить температуру крайних сроков (самого первого и самого последнего дня данного периода измерений), разделить на 2 и полученную величину оставить вместо температуры последнего срока (в 19 ч), а первую (в 7 ч первого дня) не считать.

Если промежутки между измерениями температуры были разновеликими, то среднюю температуру необходимо рассчитывать через градусочасы.

4. Точка пересечения с кривой II позволяет определить время, после которого самок, не обнаруживающих признаков созревания, можно сдавать.

5. Для определения момента вскрытия самок в пределах времени между кривыми I и II надо пользоваться принятыми в рыбоводстве признаками созревания: мягкое брюшко, яйцеклетки вытекают струей, при подъеме самки брюхо сильно западает.

Использование приводимых кривых сокращает число необходимых просмотров самок и помогает более точно определить момент своевременного взятия яйцеклеток и тем самым сокращает производственные потери икры вследствие ее недозревания и перезревания.

ЗАДАЧА. Пользуясь графиками определить время начала инъектирования гипофизом, время просмотра первых созревших самок и получения всех созревших производителей в зависимости от температуры по вариантам (табл. 4).

Таблица 4

Вариант	Осетр			Севрюга			Белуга		
	Утро	День	Вечер	Утро	День	Вечер	Утро	День	Вечер
I	2	3	4	5	6	7	8	8	10
II	10,5	11,5	13	17,5	18	19	13	14	14,5
III	10	12	14	18	19,5	21	12,5	14	15
IV	11	11,5	12,5	17	18,5	20	12	13,5	15

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
IV	10,5	12	14	17,5	18,5	19,5	11,5	12,5	13
V	9,5	11	12	18	19	20	11,5	12	14
VI	10	12,5	14,5	18	20	23	12,5	13	15
VII	9	11	12,5	17,5	19,5	21,5	13	14,5	16
VIII	10	11,5	13	18,5	20	23,5	12	14	15,5
IX	10	12,5	14,5	18	20	22,5	11,5	13,5	14,5
X	9,5	11,5	12	17	19	22	12	14	16

Гипофизарные инъекции эффективны при благоприятных нерестовых температурах. При слишком низких или слишком высоких температурах овуляция проходит не вполне удовлетворительно, часть яйцеклеток не оплодотворяется, а большинство оплодотворившихся развивается ненормально. Благоприятные для созревания осетров температуры от 9–10 до 18–19 °С. Севрюга хорошо созревает при 14–15 °С, а при 12 °С не все самки реагируют на гипофизарные инъекции. Верхняя температурная граница для получения зрелых половых продуктов севрюги 22 °С. При температуре 23–24 °С производителей севрюги инъекций гипофиза обычно не делают.

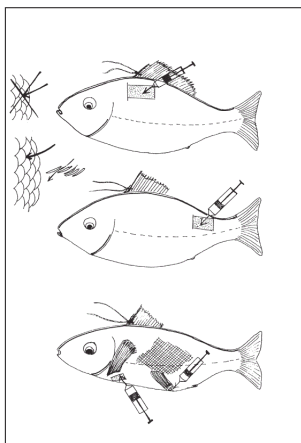


Рис. 17

На практике для инъекций применяют гипофизы данного вида осетровых. Однако севрюжки гипофизы можно применять и для инъектирования других видов осетровых, в частности, белуги. Гипофизы осетровых заготавливают в марте – начале апреля. Техника заготовки гипофизов, их обработка и хранение, а также приготовление из них суспензии описаны выше.

Суспензию гипофиза вводят шприцем в спинные мышцы рыбы (см. рис. 17). Доза гипофиза различная. На одну самку обычно берут 1–2 гипофиза (40–50 мг) и 1–2 мл физиологического раствора. Суспензию вводят в передний отдел спины рыбы.

При больших дозах гипофиза – более 50 мг (например, предназначенных белугам или крупным осетрам) – для приготовления суспензии берут 2 – 3 мл физиологического раствора и вводят его в двух местах: с правой и левой сторон переднего отдела спины рыбы (табл. 5).

Количество вводимого гипофиза зависит от его гонадотропной активности. Гонадотропная активность гипофиза определяется с помощью тест-объектов, в качестве которых используют самок вьюна или самцов лягушек.

Таблица 5

Доза гипофиза на 1 кг веса тела для белуги при двукратном введении, мг

При температуре воды 9,3 °С	4
При температуре воды 11,6 °С	2,5

Самцы созревают раньше самок, поэтому их инъецируют на несколько часов позже самок (табл. 6).

Таблица 6

Разница во времени между инъецированием самок и самцов

14–16 °С	4–5
17–19 °С	3–4
22–23 °С	2–3

Инъецированных производителей содержат в садках с чистой проточной водой, при благоприятных температурах для созревания их половых продуктов, в °С (табл. 7).

Таблица 7

Белуга	От 7–8 до 14–15
Осетр ранний яровой	От 8–9 до 13–14
Осетр озимый поздний яровой	От 9–10 до 18–19
Севрюга	От 14–15 до 21–22
Шип	От 8–9 до 14–16

Следовательно, температура воды определяет сроки проведения работ по получению зрелых производителей (табл. 8).

Таблица 8

**Примерные сроки работ по инъекционному
производителям осетровых**

Район	Белуга	Осетр	Севрюга	Шип
Волго-Каспийский	20. IV–10. V	5V–20 VI	15 V–25/VII	–
Волгоградский	20. IV– 20. V		5.VI–31 /VII	
Куринский	15.IV–20.IV			20.IV-31. IV
Донской	20. IV–5. V	25.IV–31. V	10 V–20. V	
Кубанский		25.IV–25. V	20. V– 25. V	

Для определения сроков созревания самок по приведенным кривым надо знать время инъекции гипофиза и среднюю температуру воды, при которой содержатся производители после инъекции. Использование кривых позволяет не просматривать и не беспокоить производителей раньше времени наступления начала созревания, помогает точнее определить момент своевременного взятия яйцеклеток и запланировать удобное для работы время по их осеменению.

Вопросы для самоконтроля

1. Расскажите об особенностях строения гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системы рыб.
2. При каких температурах гипофизарные инъекции эффективны?
3. Какую рыбу инъектируют раньше и почему?
4. Какие признаки указывают на зрелость и являются показанием для вскрытия самок?

Тема 7. ЭКОЛОГО-ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД В РАССМОТРЕНИИ НЕКОТОРЫХ ПРОБЛЕМ ИХТИОЛОГИИ

Детальный сравнительный эколого-гистофизиологический анализ раннего гаметогенеза рыб позволяет наметить подходы к решению некоторых фундаментальных проблем ихтиологической науки, касающихся, в частности, функциональных механизмов микроэволюционного процесса, становления карликовости и моноциклии.

Видообразование у миног

У миног существуют так называемые «парные виды». В такой «паре» один вид является проходным. Его представители нерестятся в реках, а нагуливаются в море. Другой вид – туводные миноги, они постоянно живут в ручьях и мелких речках и никогда не сплывают в море. Туводных миног независимо от видовой и родовой принадлежности на разных континентах часто называют ручьевыми. В Европе «ручьевая минога» – видовое название. Считается, что этот вид происходит от вида «речная минога». Некоторые исследователи даже полагают, что ручьевая минога является экологической формой речной миноги. Речная минога некоторое время в виде личинки-пескоройки живет в реках и ручьях, а после метаморфоза скатывается море, где нагуливается в течение двух сезонов, после чего возвращается на нерест в реку. Ее плодовитость 21 тыс. яйцеклеток. Ручьевая минога начинает созревать после метаморфоза или даже в момент метаморфоза, но при гораздо меньших размерах, чем у речной миноги, поскольку морской период жизни и нагула выпадает из ее жизненного цикла. Плодовитость ручьевой миноги около 2 тыс. яйцеклеток. Поскольку эта минога созревает практически при размерах личинки и после метаморфоза не питается, то ни размеры ее брюшной полости, ни ее энергетические запасы не могут обеспечить плодовитость, которая соответствовала бы тому фонду ооцитов конца периода протоплазматического роста, который формируется у нее незадолго до перехода их к трофоплазматическому росту. Это и является причиной дегенерации значительной части этого фонда. Таким образом, само по себе гистофизиологическое исследование лишь констатирует факт массовой дегенерации ооцитов, а экологический подход объясняет его. Этот

факт и его объяснение позволяет перейти к эволюционным построениям. Назовем фонд ооцитов конца протоплазматического роста потенциальной плодовитостью. Относительно высокая потенциальная плодовитость ручьевой миноги (в среднем 7335 ооцитов), но меньшая, чем у речной (21 тыс. ооцитов), может объясняться либо тем, что эта минога является экологической формой речной, как предполагают некоторые авторы, либо тем, что этот вид лишь недавно произошел от вида «речная минога», как считает большинство исследователей миног. Относительно высокая потенциальная плодовитость ручьевой миноги, возможно, является своего рода атавизмом, что может рассматриваться как аргумент в пользу недавнего происхождения ее от речной миноги. Можно думать, что эволюция вида еще не завершилась в направлении снижения потенциальной плодовитости до размеров, близких к конечной. То же отмечают и у других видов туводных (ручьевых) миног. В то же время у некоторых ручьевых миног наблюдается такое сближение потенциальной и конечной плодовитости, что указывает на то, что процесс видообразования у них завершился раньше, чем у европейской ручьевой миноги. Примером может служить американская ручьевая минога *Ichthyomyzon gagei*. Между ней и близким к ней «парным видом» – проходной миногой *Ichthyomyzon castaneus* – имеются различия того же порядка, как и между ручьевой и речной миногами в Европе. Однако в этом случае процесс приведения потенциальной плодовитости в соответствие с конечной у американской ручьевой миноги зашел дальше, чем у европейской.

Карликовость

Эколого-гистофизиологический подход позволяет установить один из возможных механизмов возникновения карликовости. И снеток, и ручьевая минога являются карликовыми формами, снеток – по отношению к корюшке, ручьевая минога – по отношению к речной. Самая общая причина возникновения карликовости состоит в том, что виду или популяции в данных условиях обитания оказалось выгодно иметь и поддерживать определенную численность в качестве карликовой формы. Однако конкретные механизмы возникновения таких форм могут быть различными. У снетка карликовость связана с ускоренным половым созреванием, которое определяется условиями существования в тех водоемах, в которых условия обитания отличаются от условий в водоемах, где

водится корюшка. Карликовость снетка является вынужденной, но она обеспечивает ему более полное использование пищевых ресурсов водоема – рачкового планктона, который не может непосредственно использоваться более крупным хищником – корюшкой. Карликовость обеспечивает также весьма высокую численность и биологический прогресс популяций снетка, а при резком падении численности в результате воздействия неблагоприятных факторов – быстрое восстановление благодаря его высокой популяционной плодовитости.

Иной механизм возникновения карликовости мы наблюдаем у ручьевой миноги. Гистологические исследования и измерения ооцитов показали, что у речной и ручьевой миног дифференцирование пола наступает примерно в одном возрасте и при одних и тех же размерах. У обоих видов темп протоплазматического роста ооцитов приблизительно одинаков. Созревают и нерестятся обе миноги в одно время и в одном возрасте. Дефинитивные размеры ооцитов у них одинаковы, у ручьевой миноги могут быть даже несколько больше. Таким образом, карликовость отнюдь не коррелирует со скороспелостью. Однако речная минога живет в ручьях и реках в личиночном состоянии на 2 года меньше, чем ручьевая, сплывает в море и нагуливается там в течение двух сезонов. Взрослые речные миноги намного крупнее ручьевых по массе и длине, и плодовитость их на порядок выше. Ручьевая минога все энергетические резервы для созревания и нереста должна накопить в личиночном состоянии. При таких малых размерах и энергетических запасах у нее не может сформироваться высокая плодовитость. Выгода карликовости в данном случае состоит в том, что она позволяет этой форме реализовать воспроизводство и поддержать численность популяции в условиях очень низкой кормности ручьевой экосистемы. При крайне низком уровне пластического обмена все ресурсы направляются на генеративный обмен. Речная минога, сплывая в море, подвергается в молодом возрасте значительному прессу хищников, в связи с чем ей необходима большая плодовитость. В местах обитания ручьевой миноги такого пресса хищников нет. Таким образом, физиологический механизм, обеспечивающий карликовость ручьевой миноги, – это блокирование метаморфоза на том этапе, когда он осуществляется у речной миноги, и перенос его на более поздний срок, когда его начало совпадает с началом созревания. С карликовостью коррелирует низкая

конечная плодовитость, формирующаяся в процессе дегенерации большей части ооцитов фонда конца периода протоплазматического роста (потенциальной плодовитости).

Моноциклия

Большой интерес представляет вопрос о происхождении моноциклии. Подавляющее большинство костистых рыб являются полициклическими, нерестятся несколько раз в жизни. Такой способ воспроизводства обеспечивается постоянным пополнением фонда ооцитов периода протоплазматического роста и их дифференциацией по размерам и цитофизиологическому состоянию (рис.18). Лишь немногие относятся к моноцикликам, размножающимся один раз в жизни, после чего погибают. Это, в частности, 6 видов тихоокеанских лососей рода *Oncorhynchus*, угорь, снеток, мойва и некоторые другие виды. К моноциклическим животным относятся также все миноги. Моноциклия, очевидно, носит адаптивный характер. В конкретных условиях существования однократное размножение может быть выгодным для вида, поддерживая его численность на оптимальном уровне. Мы не можем представить, какими были условия существования в то время, когда формировался этот способ воспроизводства вида, но впоследствии он был наследственно закреплен. Тот факт, что он независимо сформировался в разных семействах и отрядах рыб, а также у миног, сам по себе говорит о его адаптивном характере. Самыми древними моноциклическими животными являются миноги. У тихоокеанских лососей моноциклия – относительно недавнее эволюционное приобретение. Самым молодым моноцикликом с точки зрения становления этого способа воспроизводства является, очевидно, снеток – экологическая форма полициклической корюшки.

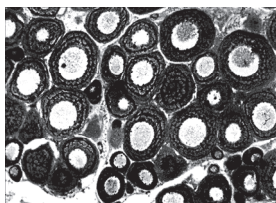


Рис. 18. Гистологическая картина яичника II стадии зрелости полициклической рыбы корюшки, ув. 56 х. (Кузнецов, 1986)

У самок миног в личиночном состоянии закладывается довольно большой фонд оогоний. Все они переходят в профазу первого мейотического деления, но значительная часть мейоцитов дегенерирует. Оставшиеся мейоциты вступают затем в период протоплазматического роста. При этом даже после массовой дегенерации мейоцитов в яичниках миног насчитывается значительное число ооцитов: у ручьевой миноги – 7600, у речной – 18 400. В яичниках миног обычно не наблюдается дифференциации ооцитов по размерам, характерной для полициклических рыб. Ооциты периода протоплазматического роста растут синхронно, а затем синхронно вступают в период трофоплазматического роста (рис. 19).

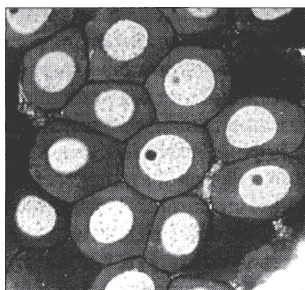


Рис. 19. Гистологическая картина яичника II стадии зрелости речной миноги, ув. 56 х (Кузнецов, 1986)

В течение этого периода ооциты также синхронно растут, достигают дефинитивных размеров и выметываются во время нереста. После него в яичнике не остается никаких половых клеток, так что повторное размножение было бы и невозможно. Однако исследования показали, что в яичнике миног, особенно на ранних стадиях личиночного развития, изредка наблюдается некая асинхронность роста половых клеток: наряду с ооцитами, вступившими в период протоплазматического роста, можно видеть гнезда с оогониями (рис. 20).

Позже среди основной массы продвинутых в росте ооцитов в редких случаях можно встретить небольшие группы гораздо более мелких ооцитов периода протоплазматического роста, а также гнезда мейоцитов и оогоний. Это явление не носит массового характера. Однако наличие таких гистологических картин может сви-

детельствовать о своего рода атавистических проявлениях. Отсюда следует, что миноги, возможно, не являются первично моноциклическими животными, как считалось ранее.

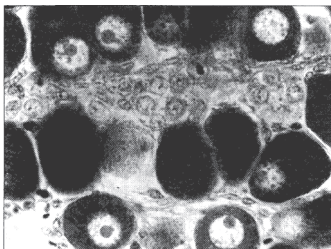


Рис. 20. Атавистическое проявление асинхронности в развитии женских половых клеток у речной миноги. Среди ооцитов начала протоплазматического роста видно гнездо с оогониями, ув. 630 х (Кузнецов, 1986)

Не исключено, что предки современных миног были полициклическими, а моноциклический способ воспроизводства видов возник в процессе эволюции вторично в определенных условиях существования.

Еще более аргументированным представляется предположение о вторичности моноциклии у тихоокеанских лососей. Атавистические проявления в виде асинхронного роста ооцитов у них еще более очевидны, чем у миног. Асинхронность роста ооцитов наблюдается у этих лососей на ранних этапах протоплазматического роста и является закономерным явлением, а не редкостью. На более поздних этапах она сглаживается. Ооциты периода трофоплазматического роста уже растут синхронно до самого вымета в период нереста. Как и у миног, в яичниках этих лососей после нереста не остается никаких половых клеток.

Как уже было сказано, самый молодой моноциклик – снеток. Он также нерестится один раз в жизни, после чего погибает. Однако в его яичниках после нереста можно видеть ооциты разных ступеней периода протоплазматического роста. В яичниках снетка наблюдается асинхронность роста ооцитов (рис. 21), такая же, как у полициклических рыб, в том числе и у его самого ближайшего родственника, относящегося к тому же виду, – корюшки (сравнить с рис. 18).

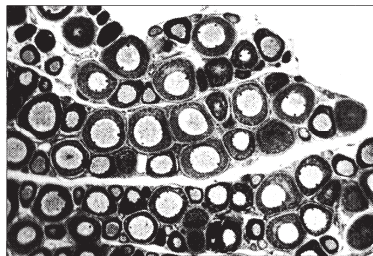


Рис. 21. Участок яичника II стадии зрелости снетка, ув. 56 х.
Гистологическая картина гонады соответствует гистологической картине яичника полициклической рыбы (Кузнецов, 1986)

Вопросы для самоконтроля

1. Опишите закономерности видообразования у миног.
2. Опишите механизм и причины возникновения карликовости.
3. Расскажите о происхождении моноциклии.
4. В чем сущность предположения о вторичности моноциклии у тихоокеанских лососей?
5. Охарактеризуйте этапы становления моноциклии, складывающейся в определенных экологических условиях
6. Что позволяет выявить эколого-гистофизиологический анализ гаметогенеза рыб?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящем пособии показана возможность использования эколого-гистофизиологического подхода для исследования и решения практических задач аквакультуры. В основе этого подхода – выяснение роли клеточных и тканевых структур в реализации важнейших филогенетических адаптаций, обеспечивающих биологический прогресс вида. Эколого-гистофизиологический подход позволяет анализировать адаптивные механизмы, которые, по Н.Л. Гербильскому, являются результатом «эксперимента, поставленного самой природой». Этот подход может быть использован при изучении репродуктивной стратегии рыб. Мониторинг репродуктивной функции имеет важное теоретическое и практическое значение. Знания о процессах гонадо- и гаметогенеза и влиянии на них экологических факторов необходимы как для понимания становления репродуктивной стратегии вида в эволюции, так и для рациональной научно обоснованной организации его промысла и воспроизводства.

Как известно, полносистемное исследование проходит четыре последовательные ступени: I. Наблюдение – II. Анализ – III. Синтез – IV. Управление, разработка биотехники управления биологическим процессом (Гарлов, 2014). Эколого-гистофизиологический подход и логический причинно-следственный анализ полученных данных оказываются эффективными на двух первых ступенях исследования и в определенной степени дают возможность осуществить предварительный синтез полученных результатов (Гарлов, 2014). Экспериментальная проверка сделанных при этом заключений позволяет дать первые практические рекомендации по управлению функциями организма, которые, как правило, оказываются недостаточно эффективными. Именно поэтому для совершенствования биотехнических решений становится необходимым проведение повторных циклов исследований, включая многократные экспериментальные и экспериментально-производственные проверки.

Исследования, в которых сочетаются эколого-гистофизиологический и экспериментальный подходы, рассматриваются как комплексный научный метод, представляющий собой ступенчатый мно-

гоциклический процесс, все этапы которого объединены прямыми и обратными структурно-функциональными связями (рис. 22).

При этом экспериментальный подход в аквакультуре, имеющий важный прикладной аспект, особенно целесообразно применять на производственно-биотехнических моделях, решая одновременно теоретические и прикладные задачи. Завершающим звеном каждого исследовательского цикла должен быть сопоставительный анализ, который позволяет разрабатывать наиболее конструктивные биотехнические решения и более объективно оценить, насколько предлагаемая биотехника является инновационной (Гарлов, 2014).

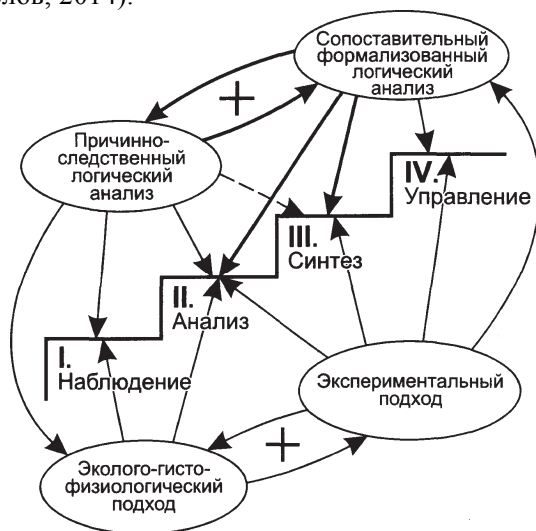


Рис. 22. Структурные и функциональные составляющие метода комплексных эколого-гистофизиологических и экспериментальных полносистемных исследований (Гарлов, 2014):

«+» – комплексное исследование, сочетающее два подхода: методические (эколого-гистофизиологический и экспериментальный) либо аналитические (логические: причинно-следственный и сопоставительный). I-IV – этапы развития полносистемного исследования. Тонкими стрелками (f) указаны этапы исследования, осуществляемые с использованием данного подхода. Толстыми стрелками (t) указаны новые возможности исследования путем комплексации подходов либо путем применения их по новому назначению

Хотелось бы отметить, что комплекс современных гистологических приемов позволяет проводить все этапы гистологического исследования на качественно новом методическом уровне и значительно расширяет область научных исследований. Таким образом, современный широкий спектр применения эколого-гистологического анализа показывает, что гистофизиология как составная часть рыбохозяйственных исследований актуальна в настоящее время.

Библиографический список

1. Гарлов, П.Е. Искусственное воспроизводство рыб. Управление размножением: учеб. пособие / П.Е. Гарлов, Ю.К. Кузнецов, К.Е. Федоров. – СПб.: Лань, 2014. – 256 с.

2. Дроздов, А.Л. Морфология гамет животных. Значение для систематики и филогенетики /А.Л. Дроздов, В.Н. Иванков. – М.: Круглый год, 2000. – 460 с.

3. Серпунин, Г.Г. Биологические основы рыбоводства / Г.Г. Серпунин. – М.: Колос, 2009. – 384 с.

Оглавление

Введение	3
Тема 1. Строение яйцеклеток рыб	6
Тема 2. Определение степени зрелости гонад.....	15
Тема 3. Способы получения зрелых половых продуктов, способы осеменения яйцеклеток.....	22
Тема 4. Ультразвуковая диагностика рыб	39
Тема 5. Биотехника задержки полового созревания и резервирования производителей	46
Тема 6. Строение гипоталамо-гипофизарной системы	55
Тема 7. Эколого-гистофизиологический подход в рассмотрении некоторых проблем ихтиологии	67
Заключение	74
Библиографический список	77

Учебное издание

Матросова Инга Владимировна

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ РЫБОВОДСТВА:
ЭКОЛОГО-ГИСТОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЙ ПОДХОД**

Учебное пособие

Редактор И.И. Левшенкова

Макет О.В. Нечипорук

Подписано в печать 27.01.2020. Формат 60х84/16.

Усл. печ. л. 4,65. Уч.-изд. л. 5,00. Заказ 0757.

Оригинал-макет подготовлен

Центром публикационной деятельности

«Издательство Дальрыбвтуза»

690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52Б