

ВТОРУШИН Максим Николаевич

**ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ПЛАСТИЧНОСТЬ МОРФО- И ГАМЕТОГЕНЕЗА
РЫБ ПОД ВЛИЯНИЕМ АНТРОПОГЕННЫХ ФАКТОРОВ
РАЗЛИЧНОЙ ПРИРОДЫ**

03.00.16 – экология



АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Тюмень – 2003

Работа выполнена в лаборатории экологических исследований и реконструкции биосистем кафедры зоологии и ихтиологии Тюменского государственного университета

Научные руководители: доктор биологических наук, профессор
МУХАЧЕВ Игорь Семенович;
кандидат биологических наук
СЕЛЮКОВ Александр Германович

Официальные оппоненты: доктор биологических наук
БОГДАНОВ Владимир Дмитриевич;
кандидат биологических наук
КРОХАЛЕВСКИЙ Владимир Реджинальдович

Ведущая организация: Томский государственный университет

Защита состоится 21 февраля 2003 г. в 13 ч. на заседании диссертационного совета К 212.274.03 по присуждению ученой степени кандидата биологических наук в Тюменском государственном университете по адресу: 625043, Тюмень, ул. Пирогова, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Тюменского государственного университета.

Автореферат разослан 21 января 2003 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат биологических наук



С.Н. ГАШЕВ

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Постоянно нарастающая антропогенная нагрузка на водные экосистемы привела к резкому сокращению численности промысловых рыб. Уловы таких ценных видов Обь-Иртышского бассейна как сибирский осетр, нельма, муксун в последние годы резко упали, а осетр в 1998 году был введен в Красную книгу. Во многом это связано с переловами, загрязнением водной биоты, разрушением естественных нерестилищ и др.

Одним из важнейших показателей состояния вида является надежное функционирование репродуктивной системы составляющих его особей, их воспроизводство. Высокая пластичность генеративной функции рыб (Персов, 1972; Кошелев, 1984 и др.) позволяет им адаптироваться к резко изменяющимся условиям среды (Чмилевский, 1990, 1997), но за последние годы адаптационные возможности организмов в естественных ареалах снизились. У многих видов рыб из различных водоемов Обь-Иртышского бассейна значительно возросло количество аномалий в состоянии гонад, обусловленных интенсивным техногенным воздействием на водные экосистемы.

Устойчивое снижение численности ценных видов промысловых рыб не позволяет надеяться на самостоятельное восстановление их запасов и потому единственный выход из создавшейся критической ситуации заключается в их искусственном разведении. Но имеющиеся стандартные подходы в современных кризисных условиях вряд ли способны полноценно решить эту проблему. Поиск выхода из кризиса, в котором пребывает рыбная отрасль, ведется по ряду направлений. К ним, в частности, относят манипуляции с генотипами рыб: получение новых пород карпа с применением мутагенов, формирование трансгенных форм осетра и карпа, использование гиногенетических поколений пеляди, метод восстановления генотипов осетровых с применением диплоидного андрогенеза и др. (Черфас, Цой, 1984; Андрияшева, 1988; Рекст, Полякова, 1990; Барминцев, 1997; Грунина и др., 1997; Нейфах и др., 1997 и др.).

В своих исследованиях мы рассматриваем возможность использования в рыбоводстве еще одного направления, обозначаемого как «Технологии Телос». Эти технологии базируются на технических системах, осуществляющих активацию воды и биосистем слабыми импульсными магнитными полями (СИМП) и потому не оказывающими повреждающего воздействия на геном (Солодилов, патенты №2155081, №2162736). Изучение влияния слабых магнитных полей на живые объекты показало возможность получения положительных эффектов: повышенная выживаемость в экстремальных условиях среды, высокая активность в формировании фонда половых клеток, сокращение сроков полового созревания.

Цель диссертационного исследования:

Рассмотрев состояние некоторых жизненно-важных органов рыб разных экологических групп в условиях повышенного загрязнения Обь-Иртышского бассейна, оценить возможности модификации репродукционных потенциалов объектов рыбоводства, их адаптационную пластичность при использовании слабых импульсных магнитных полей.

Задачи. Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- описать состояние гонад, печени, жаберного аппарата ценных и наиболее массовых видов сиговых, карповых и окуневых рыб Обь-Иртышского бассейна;
- изучить динамику морфо-функциональных параметров у модельных объектов (тетрагоноптерус, моллинезия) под влиянием слабых импульсных магнитных полей;
- исследовать формирование репродуктивной системы пеляди, муксуна, стерляди и сибирского осетра, обработанных в раннем онтогенезе слабыми импульсными магнитными полями.

Научная новизна. Впервые приведено систематическое описание патоморфологических изменений в репродуктивной системе, печени и жаберном аппарате туводных рыб Обь-Иртышского бассейна. Апробирована уникальная технология использования импульсных магнитных полей сверхнизкой интенсивности (0,00002 А/м) в диапазоне частот 40-1000 кГц в практике декоративного и товарного рыбоводства. Используя указанные характеристики слабых импульсных магнитных полей, было показано их модифицирующее, не мутагенного типа, действие (карпозубые) и возможность сокращения сроков полового созревания (хараковидные) без снижения уровня соматического развития (осетровые); повышенная выживаемость и дополнительный пик формирования резервного фонда половых клеток (пелядь) в экстремальных условиях существования. Установлен высокий темп развития репродуктивной системы у пеляди, муксуна и стерляди, обработанных слабыми магнитными полями в раннем онтогенезе.

Практическая значимость. Полученные заключения о морфо-функциональном состоянии гонад, печени и жаберного аппарата у массовых видов рыб в годовом цикле могут рассматриваться в качестве тестовых на предмет оценки благополучия/неблагополучия организма-популяции-вида в сложившихся условиях Обь-Иртышского бассейна для установления их современного экологического статуса. Продемонстрирована эффективность “Технологий Телос” в рыбоводных работах с интродуцированной пелядью на озерах Челябинской области и выращиваемой в искусственных условиях стерлядью на Абалакском осетровом рыбоводном заводе (Тобольский район). Легкая встраиваемость в производственный цикл, низкие ресурсо- и энергозатраты обеспечат повышение эффективности рыбоводных мероприятий, без существенных затрат будут достигнуты высокая выживаемость, быстрый

темпа роста, а при необходимости – ускорение полового созревания не снижая темпа соматического развития, другие значимые биологические характеристики объектов разведения. Методы могут быть взяты на вооружение предприятиями Росрыбхоза. Отсутствие мутагенного эффекта позволяет использовать данный подход в работах, направленных на восстановление редких и исчезающих видов в питомниках, с последующей реинтродукцией в природные условия. Применением “Технологий Телос” у интродуцированных видов активизируется собственный потенциал, обеспечивающий оптимальный режим их включения в ихтиоценозы за пределами естественного ареала.

На защиту выносятся следующие положения:

1. Высокий техногенный прессинг на водные экосистемы Обь-Иртышского бассейна вызывает существенные нарушения в жизненно-важных органах рыб.
2. Действие слабых импульсных магнитных полей, не превышающих по напряженности естественные, вызывает модификационные преобразования некоторых морфологических характеристик у подопытных объектов.
3. Слабые импульсные магнитные поля в используемом диапазоне частот повышают адаптационные возможности рыб, сбалансированность развития пластических признаков и репродуктивной системы.

Апробация работы: Основные положения диссертации доложены и обсуждены на VII Международном симпозиуме «Биология и разведение сиговых рыб» (Мичиган, США, 1999), на IV Всероссийском научно-производственном совещании «Биология, биотехника разведения и промышленного выращивания сиговых рыб» (Тюмень, 2001), на VIII Международном симпозиуме «Биология и разведение сиговых рыб» (Рованиemi, Финляндия, 2002), на Всероссийской научно-практической краеведческой конференции «Словцовские чтения» (Тюмень, 2002), на заседаниях кафедры зоологии и ихтиологии Тюменского государственного университета (1999-2002).

Публикации: По теме диссертации опубликовано 7 работ.

Структура и объем работы. Диссертация общим объемом 217 страниц состоит из введения, главы, характеризующей материал и методы исследования, четырех глав собственных результатов с обзором литературы в каждой, главы обсуждения и выводов. Работа изложена на 149 страницах машинописного текста, содержит 48 рисунков, 2 таблицы и 22 приложения. Список литературы составляет 292 источника, в том числе 28 иностранных.

ВВЕДЕНИЕ

Во Введении обосновывается актуальность, научная новизна и практическая значимость работы, ставятся цели и задачи, формулируются положения, выносимые на защиту.

Глава I. Материал и методы

Проведенные исследования включали сбор, обработку и анализ ихтиологического материала из естественных условий, лабораторных и производственных экспериментов.

Изучали степень патоморфологических изменений печени и гонад у пеляди, муксуна, сибирской плотвы, сибирского ельца, язя и окуня в условиях интенсивного нефтяного загрязнения Обь-Иртышского бассейна в 1989-1990 годах в Средней и Нижней Оби, их притоках, а в 1991 и 2001-2002гг. – в р.Туре. Лабораторные и производственные исследования проводили в период с сентября 1992г. по июнь 2001г. За этот период было поставлено шесть серий экспериментов по обработке оплодотворенной икры, развивающихся эмбрионов и личинок харачовых (тетрагоноптерус), сиговых (пелядь, муксун) и осетровых (стерлядь, осетр) рыб, а также производителей карпозубых (моллинезия) – с использованием слабых импульсных магнитных полей (СИМП) по «Технологии Телос» (Солодилов, 2000, 2001).

Общее количество проанализированных экземпляров для разных видов анализа составило: пеляди – 2258, муксуна – 320, сибирской плотвы – 188, сибирского ельца – 177, язя – 184, окуня – 160, стерляди – 425, осетра – 170, тетрагоноптерусов – 70, моллинезий – 142.

В качестве материала для биоанализа использовали мальков, сеголеток, годовиков и двухлеток исследуемых рыб, на эмбрионы или предличинки которых оказывали воздействия слабыми импульсными магнитными полями с амплитудной модуляцией в диапазоне частот ультразвуковых колебаний по «Технологии Телос». Воздействия продолжительностью 60-80 минут осуществляли посредством генераторов “Т-101” (ТУ 4237-001-29646556-99) на этапах и стадиях раннего онтогенеза – оплодотворения, бластуляции, гастрюляции, вылупления. При первой обработке использовали частоты *активирующего* режима (927/116 кГц, 927/71 кГц), при повторных – *поддерживающего* режима (927/44 кГц).

Сбор, обработку и общий биоанализ материала осуществляли по общепринятым ихтиологическим методикам (Правдин, 1966). В качестве основного анализа был выбран гистологический, в связи с его высокой чувствительностью, информативностью и фотодокументальностью. Гистологические препараты изготавливали с применением стандартных гистологических методик (Ромейс, 1953; Роскин, Левинсон, 1956). Яичники и семенники изучали на серийных гистологических срезах: измеряли минимальные и максимальные размеры срезов гонад и преевителлогенных ооцитов старшей генерации. Учет

соотношения (в %) половых клеток разных генераций проводили на трех срезах обеих гонад, отстоящих один от другого на два диаметра наиболее крупного ооцита. На каждом срезе просчитывали соотношение клеток в трех квадратах окулярной сетки с длиной стороны 192,5 мкм.

Морфометрический анализ осетровых проводили по 30 параметрам, сиговых – по 14 (рис. 1 а,б).

Оценку дистанции расстояний между признаками, степень согласованного развития морфометрических параметров подопытной молодежи в сравнении с контрольной осуществляли с помощью кластерного анализа пакета *STATISTICA*, разработанного *StatSoft, Inc.* (Боровиков, 1998). Методологическим основанием для проведения данного анализа в ихтиологических исследованиях послужила публикация В.Л.Андреева и Ю.С.Решетникова (1977). Использование этого анализа отчетливо демонстрирует степень изо- или аллометричности в становлении морфологических признаков, так как для полноценного формирования организма важны не столько параметры размерно-веса, сколько согласованное гармоничное развитие. Для оценки характера распределения сеголеток пеляди по размерным классам проводили массовые промеры.

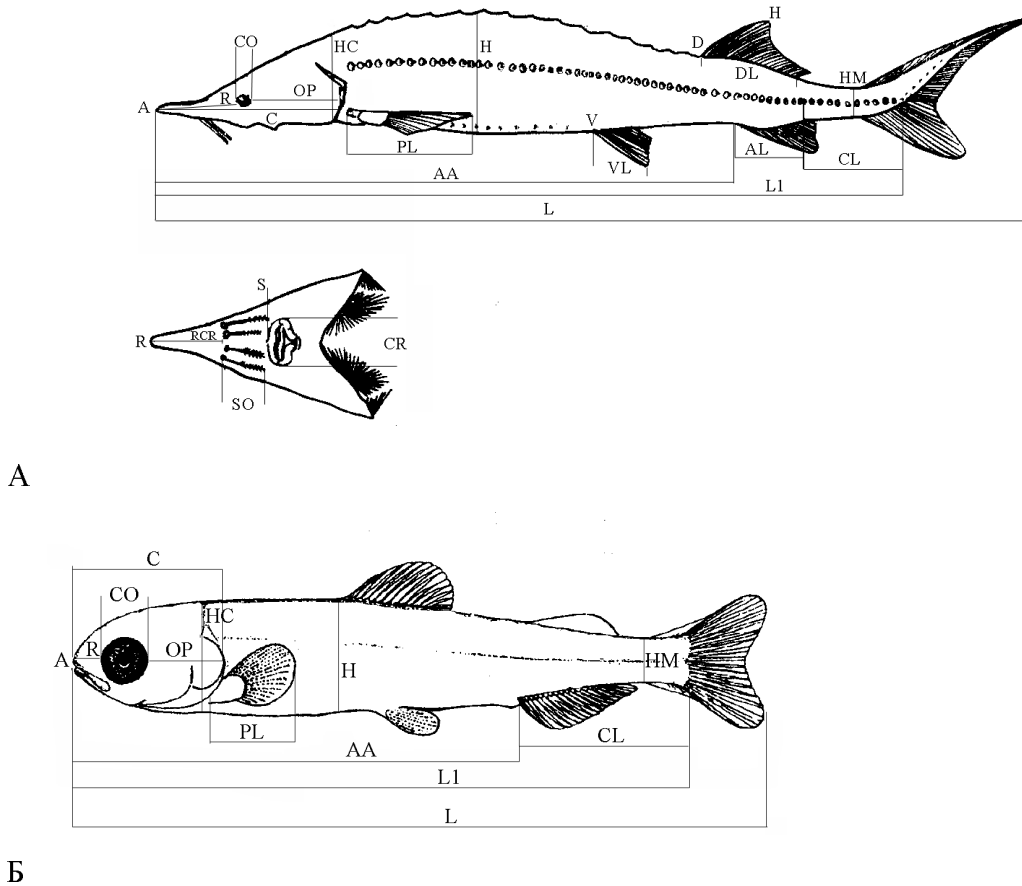


Рис. 1. Схема измерений осетровых (А) и сиговых (Б) рыб

Глава II. Состояние некоторых органов рыб разных экологических групп в речных системах Обь-Иртышского бассейна

Нарастающее отрицательное влияние хозяйственной деятельности человека на водные экосистемы приводит к отрицательным, часто необратимым последствиям в функционировании ихтиоценозов. Наиболее значимая роль техногенных факторов проявляется в их губительном воздействии на репродуктивную систему рыб. Рядом авторов показана высокая токсичность сбросов нефтяной и химической промышленности, бытовых стоков, вызывающих у рыб поражение различных органов (Кокуричева, 1979; Verma, 1980; Решетников и др., 1982; Кудрявцева, Моисеенко, 1988; Сагайдачный, Самылин, 1989; Longwell et al., 1992; Khangarot, 1992; Решетников, 1995; Савваитова и др., 1995; Князева, 1997; Jagoe, Haines, 1997; Khan, 1998 и др.).

В различных водоемах Обь-Иртышского бассейна нами показаны многочисленные нарушения в печени, жабрах и гонадах изученных видов. Наиболее многочисленные нарушения этих органов были обнаружены у сибирского ельца в разные сезоны годового цикла. В притоках Средней Оби нарушения большей или меньшей степени отмечались у 10-15 % самок и у 5-10% самцов этого вида. Среди типичных патоморфологических картин отметим отслоение оболочек ооцитов, цитоллиз и кариолиз женских и мужских половых клеток; жировая дистрофия гепатоцитов и дегенерация участков печени. Сходные нарушения отмечены у этого вида в р.Туре в 1991г. Детальный анализ жаберного аппарата выявил дегенерацию клеток афферентной зоны филламентов, разрушение и слипание респираторных ламелл. В пределах городской черты (Тюмень) и ниже по течению подобные явления фиксировались также в зимний и летне-осенний периоды в 2001-2002 гг.

Наиболее многочисленные нарушения у сибирской плотвы обнаружены в Юганской Оби (1990г.) и в р.Туре (1991г.) – отслаивание цитоплазматической оболочки вителлогенных ооцитов, участки дегенерирующих сперматоцитов. Нарушения в печени отмечались по очагам деструкции гепатоцитов и появлению тяжелой соединительной ткани. В 2001-2002 гг. состояние печени и гонад плотвы в р.Туре не в пределах городского массива характеризовалось меньшими нарушениями. В жаберном аппарате возрастала дистанция “кровь-среда”, вследствие нарастания числа слоев клеток жаберного эпителия, разбухание и частичное слипание респираторных ламелл. В пределах городской черты количество нарушений жаберного аппарата существенно возрастало.

В период анадромной миграции из Обской губы, нагула в Ханты-Питлярском соре и на Кутопьюганских салмах у пеляди отмечались резорбирующиеся вителлогенные ооциты. У части неполовозрелых самок в этот период в гонадах фиксировали массовую резорбцию

ооцитов фазы вакуолизации цитоплазмы. До 70% вителлогенных ооцитов у половозрелых особей на Кутопьюганских салмах резорбировалось.

У муксуна в Нижней Оби и Обской губе в репродуктивной системе отмечались нарушения ядрышкового аппарата, цитолиз, а у части особей – полная деструкция яичников и дегенерация сперматоцитов в семенниках.

В яичниках язя из Юганской Оби выявлялись дегенерирующие превителлогенные ооциты, амитозы половых клеток, встречались разросшиеся участки стромы. Гонады части самцов дегенерировали полностью, их семенники были представлены исключительно стромой с крупным кровеносным сосудом. Наблюдались интенсивная васкуляризация и жировое перерождение ткани печени, картины дегенерации гепатоцитов.

В яичниках окуня из притоков Средней Оби присутствовало значительное количество разросшейся соединительной ткани, часть вителлогенных ооцитов резорбировалась. В гонадах самцов III стадии зрелости встречались участки дегенерирующих сперматоцитов. В печени большей части самок и самцов присутствовали гиперемированные каверны, отмечалась жировая дистрофия гепатоцитов. В летний период 1991г., в 2001-2002гг. в яичниках части изученных рыб из р.Туры (ниже г.Тюмени) отмечались многочисленные атретические тела, цитолиз, слипание и деструкция ядрышек. В семенниках – картины дегенерирующих групп сперматоцитов. По периферии печени наблюдались дегенерация гепатоцитов и участки деструкции органа.

Описывая состояние гонад, печени и жаберного аппарата рыб Обь-Иртышского бассейна, нельзя не заметить глубокие нарушения в этих органах. Но даже на фоне видимого благополучия в репродуктивной системе и печени изученных видов отчетливо проявляются нарушения в жаберном аппарате, обусловленные присутствующими в воде поллютантами даже в слабых концентрациях.

Особенно отметим значительные патоморфологические изменения половых желез – системы, считающейся достаточно защищенной от внешних воздействий (Лукин, 2000). Токсичность окружающей среды вызывает глубокие нарушения в яичниках и семенниках, порой приводящие рыб к полной стерильности.

Глава III. Модификация слабыми магнитными полями фенотипа и репродуктивной системы у объектов декоративного рыбоводства

Результаты работ по обследованию состояния жизненно-важных органов рыб в естественных водоемах Обь-Иртышского бассейна стимулировали поиск таких подходов, применение которых в охране окружающей среды и в рыбоводных мероприятиях помогло бы

повысить устойчивость рыб к действию неблагоприятных факторов. В Центре радиобиологии неионизирующих излучений Института Биофизики МЗ РФ с 1992 г. апробировались технологии, модифицирующие различные характеристики экспериментальных биообъектов. Эти технологии базируются на технических системах, генерирующих импульсные магнитные поля низкой интенсивности, не превышающие по напряженности естественные.

Мы постарались адаптировать данный технологический подход к работам с объектами рыбоводства и выяснить, кроме того, повышаются ли у них репродуктивные качества – важнейший показатель видовой адаптации.

С этой целью были отобраны такие модельные объекты, которые совмещают ряд важных характеристик: доступность, достаточную для дальнейших исследований рабочую плодовитость, нетребовательность к условиям содержания, относительно быстрое половое созревание и короткий жизненный цикл. В наших работах такими представителями объектов декоративного рыбоводства стали *икромечущий* тетрагоноптерус и черная форма моллинезии сфенопс (*живородящий* вид).

К настоящему времени получены многочисленные сведения о том, что электромагнитные поля различного типа и интенсивности вызывают определенные реакции у человека, животных, растений и микроорганизмов (Чижевский, 1973; Пиккарди, 1967; Пресман, 1968; Дубров, 1970, 1974; Судаков, Антимоний, 1973; Formicki, 1991, 1997; Белишева, Попов, 1995; Аксенов и др., 1996; Пичугин и др., 1996 а, б, 1998 а, б; Perkowski, 1997; Виллорези и др., 1998; Новикова и др., 1998; Рапопорт и др., 1998; Skauli, 2000 и др.). Исследователями показаны значительные различия в урожайности сельскохозяйственных культур, характере заболеваний людей в нормальных и аномальных зонах ГМП и т.д. Природные ЭМП оказывают на живые организмы регулирующее действие, способствуя нормализации процессов жизнедеятельности, оптимизации их взаимодействия с внешней средой.

По нашим данным, у подопытных особей тетрагоноптеруса до достижения половой зрелости темп линейно-весаго роста намного превышал контрольных. При половом созревании рыб в опыте, на 1,5 месяца раньше контроля, их темп роста снизился, что обусловлено конверсией пластических ресурсов на повышенный генеративный обмен, который у рыб превосходит соматический в 6-9 раз (Липская, 1967). В течение всего эксперимента развитие репродуктивной системы опытного варианта значительно превышало контрольный, а по его окончании число ооцитов в опыте в 2,5 раза превосходило их количество у контрольных. В опытном варианте выделялась порция яйцеклеток для предстоящего нереста, вступивших в период созревания (табл. 1).

Динамика массы (г), количества и состояния половых клеток
у тетрагоноптеруса в период эксперимента

Дата (возраст)	Масса, г		Количество ОСГ на 1 срезе (период развития)	
	контроль	опыт	контроль	опыт
23.11.92 (62 сут.)	0,047±0,19	0,207±0,12	6-8 (превителлогенез)	75-80 (превителлогенез)
06.01.93 (106 сут.)	0,458±0,14	1,218±0,07	27-36 (превителлогенез)	14-17 (вителлогенез)
05.02.93 (136 сут.)	1,269±0,28	1,484±0,20	10-12 (вителлогенез)	26-33 (созревание)

У подопытных самцов также отмечался более высокий уровень развития гонад, проявившийся в больших размерах семенников и более многочисленных генерациях сперматогониев и сперматоцитов.

Таким образом, рост, уровень обменных процессов, темп и характер гаметогенеза до полового созревания у тетрагоноптеруса в опыте значительно превосходили контрольных особей.

Рядом авторов показано, что ускорение процессов полового созревания в местах высокой антропогенной нагрузки может приводить рыб к переходу на короткий цикл воспроизводства и даже сопровождаться моноциклической (Решетников, 1990, 1995; Лукин, 1994). В данной работе условия содержания рыб были оптимальными, и основная цель заключалась в выборе такого подхода, приоритеты в котором смещались на повышение выживаемости и полноценное формирование репродуктивной системы.

Целью работы со вторым модельным объектом – моллинезией – было исследование морфологических изменений, происходящих под влиянием СИМП и возможность их наследования потомством. Особенность эксперимента состояла в том, что обработка гамет у живородящего вида могла быть произведена одновременно с обработкой самих производителей.

Уже первый помёт первого поколения (F_{11}) существенно отличался от контроля: отмечено полное отсутствие у молоди пигментации в течение первой недели. В двухмесячном возрасте у самцов уже формировались гоноподии и у большинства из них на анальном и хвостовом плавниках проявлялась отчетливая ярко-желтая кайма. В возрасте 3-3,5 месяца отмечена максимальная степень выраженности ксантофоровой пигментации. И даже через 11 месяцев у части полностью меланизированных самцов еще оставались группы ксантофоров на хвостовом, анальном и парных плавниках.

У особей во втором (F1₂) и третьем (F1₃) пометах отмечалось снижение степени проявления ксантофоровой пигментации, по сравнению с первым. Проявление ксантофоров, но в меньшей степени, отмечено у полугодовых самцов (F2), полученных от скрещивания сибсов первого поколения. Скрещивание сибсов следующих поколений и возвратное скрещивание подобного эффекта не выявило.

Очевидно, что проводимое воздействие, инициируя соответствующие локусы генома, вызывает экспрессию детерминирующих ксантофоровую пигментацию генов, до того находившихся в латентном состоянии. Появление слабой пигментации во втором поколении, очевидно, обусловлено активацией линии половых клеток, формирующихся в эмбрионах (F1), которые в момент обработки самки СИМП находились в ее яичниках. Отсутствие проявления пигментации в последующих поколениях может свидетельствовать о модифицирующем, ненаследственном, характере данного воздействия.

Для установления эффектов, полученных на аквариумных рыбах, у объектов товарного рыбоводства, были проведены производственные и лабораторные эксперименты на пеляди, муксуне, стерляди и сибирском осетре.

Глава IV. Экологическая пластичность морфо- и гаметогенеза сиговых рыб

Исследования репродуктивной системы сиговых рыб в естественном ареале и в местах их интродукции проводили многие исследователи (Дрягин, 1949; Лапицкий, 1949; Москаленко, 1958, 1971; Вотинков, 1963 а; Кузьмин, 1963, 1967, 1975; Дормидонтов, 1974; Иванова, 1980; Крохалевский, 1983; Семенов, 1983; Селюков, 1986, 2002 а, б; Захарова, 1997, 2001 и др.).

Изменения местообитания рыб при акклиматизационных работах, наряду с ускорением соматического роста и полового созревания, часто приводят к нарушениям их гаметогенеза. Поэтому искусственное поддержание стад акклиматизантов (в частности, пеляди) осуществлялось одновременно с разработкой и внедрением биотехнических приемов, корректирующих определенные периоды репродуктивного цикла (Мухачев, 1965, 1967, 1975; Абросов, 1967; Галактионова, 1975; Нестеренко и др., 1975 и др.) с целью нормализации его протекания.

Проведенный нами мониторинг пеляди, обработанной слабыми импульсными магнитными полями в период эмбрионального развития и выпущенной на нагул в одно из озер Челябинской области (оз.Байнауш), показал, что у однолетних самок в экстремальных условиях подледного периода наблюдался пик образования половых клеток молодых генераций (табл. 2), а у самцов формировались сперматогонии и даже сперматоциты (табл. 3), что нетипично для сеголеток в этот сезон годового цикла.

Явление замедления пополнения фонда половых клеток при снижении температуры воды ниже оптимальных для роста было установлено у рипуса при садковом выращивании (Гоголева, 1981), у молоди радужной форели в условиях эксперимента (Захарова, 1984), у пеляди в естественном ареале (оз.Ендырь, р.Сыня) и местах интродукции (пруды ЦЭС ГосНИОРХ «Ропша», оз.Гусиное, Ленинградская область) (Селюков, 1987; Феклов, 1997) и др. Дальнейшие исследования адаптационного потенциала пеляди, обработанной СИМП на стадии пигментации глаз и при вылуплении (вариант 1998 года), продемонстрировали высокую выживаемость молоди в экстремальных условиях нагула в оз.Байнауш Челябинской области. В течение всего летнего сезона 1998г. наблюдались необычно высокие температуры воды (+24...+28°C), в отдельные дни повышаясь до +30°C и даже до +32°C. Для пеляди, как представителя арктического пресноводного комплекса (Никольский, 1980), такие температуры воды на протяжении столь длительного времени являются летальными. Однако они не вызвали отхода молоди, как это было в других, в том числе и более многоводных озерах Челябинской и Курганской областей. После осеннего понижения температуры рост и развитие сеголеток продолжались.

Таблица 2

Соотношение (%) половых клеток разных генераций у самок пеляди в оз.Байнауш

Дата	Самки			
	Оогонии	Мейоциты	Превителлогенные ооциты	Кол-во экз.
08.08.97	29.4	2.7	67.9	13
25.09.97	8.5	9.5	82.0	17
04.12.97	18.5	4.8	76.8	15
22.01.98	20.4	12.6	67.0	26
22.03.98	19.2	2.0	78.8	25
10.10.98	10.0	5.7	84.3	5

Соотношение (%) половых клеток разных генераций у самцов пеляди в оз.Байнауш

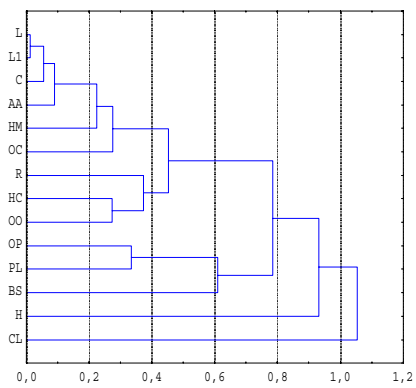
Дата	Самцы					
	Спермато гонии А	Спермато гонии Б	Спермато циты I	Спермато циты II	Сперма тиды	Кол-во экз
08.08.97	4.8	95.2	–	–	–	8
25.09.97	10.7	89.3	–	–	–	10
04.12.97	22.4	77.6	–	–	–	5
22.01.98	20.9	74.6	3.3	1.2	–	12
22.03.98	20.3	68.7	5.5	4.2	1.3	12
10.10.98	18.7	65.5	6.2	3.5	6.1	4

Условия производственного эксперимента не позволяли проследить ранние этапы постэмбрионального развития, так как молодь в заводских условиях выдерживали только в течение одной недели, а затем ее развозили по озерам для зарыбления. Необходимость установления особенностей формирования пластических признаков и развития половых желез, их соотношения у контрольных и подопытных особей в постэмбриональный период требовала проведения исследований в соответствующих экспериментальных условиях.

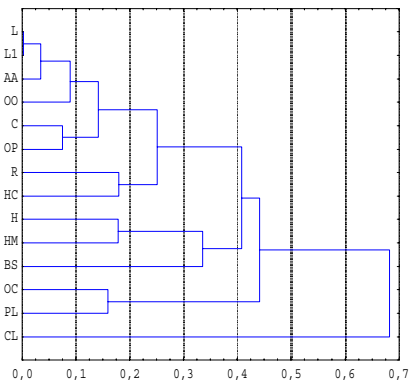
Имитацию условий нагула предличинки пеляди после вылупления осуществляли в аквариумах термостатированной установки. Это позволило провести более детальный анализ ранних этапов постэмбрионального онтогенеза контрольной и опытной партий не только пеляди, но и муксуна. Эмбрионы пеляди и муксуна перед вылуплением завозились из Тобольского инкубационного цеха в апреле 2001г.

Результаты этих работ показали более быстрое нарастание сбалансированности развития пластических признаков у пеляди опытной партии, чем у подопытных мальков муксуна (рис. 2,3). Снижение степени корреляции признаков внутри некоторых кластеров объясняется видовой спецификой, проявляющейся в гетерохронии развития отдельных параметров. Определение соотношения уровня развития пластических характеристик с количеством половых клеток показало их слабую связь в двухнедельном возрасте у подопытной пеляди и муксуна. В возрасте 1,5 месяца корреляция по некоторым признакам у пеляди и муксуна в опыте нарастала, тогда как в контроле она становится по большинству признаков отрицательной (рис. 4,5).

У подопытных особей пеляди и муксуна отмечено большее количество первичных гоноцитов и более высокая степень их концентрации в области закладки гонад.

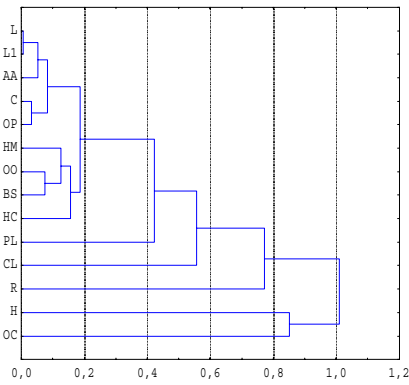


контроль

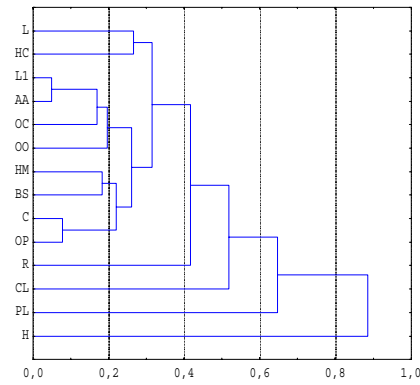


ОПЫТ

Рис. 2. Дендрогаммы дистанций между признаками у мальков пеляди контрольной и опытной партий: 45 сут. (10.06.2001).

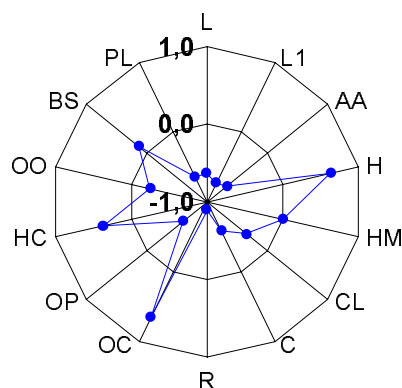


контроль

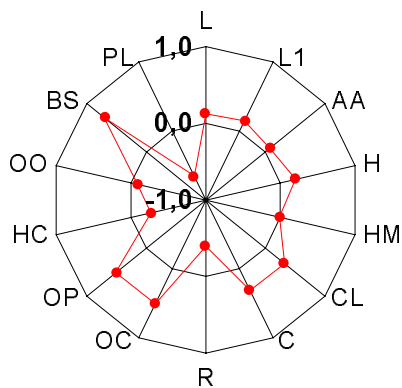


ОПЫТ

Рис. 3. Дендрогаммы дистанций между признаками у мальков муксуна контрольной и опытной партий: 45 сут. (10.06.2001).

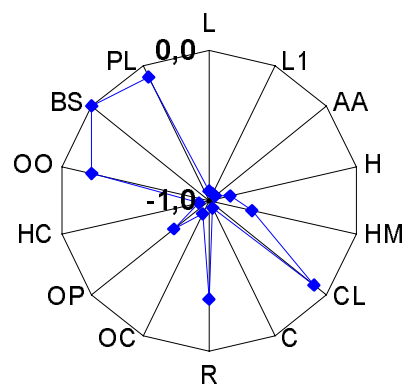


контроль

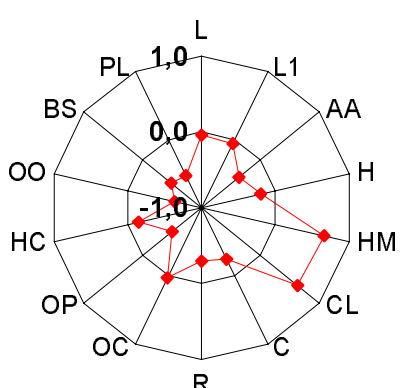


опыт

Рис. 4. Корреляция морфометрических параметров с количеством первичных половых клеток у пеляди в 1,5-месячном возрасте.



контроль



опыт

Рис. 5. Корреляция морфометрических параметров с количеством первичных половых клеток у муксуна в 1,5-месячном возрасте.

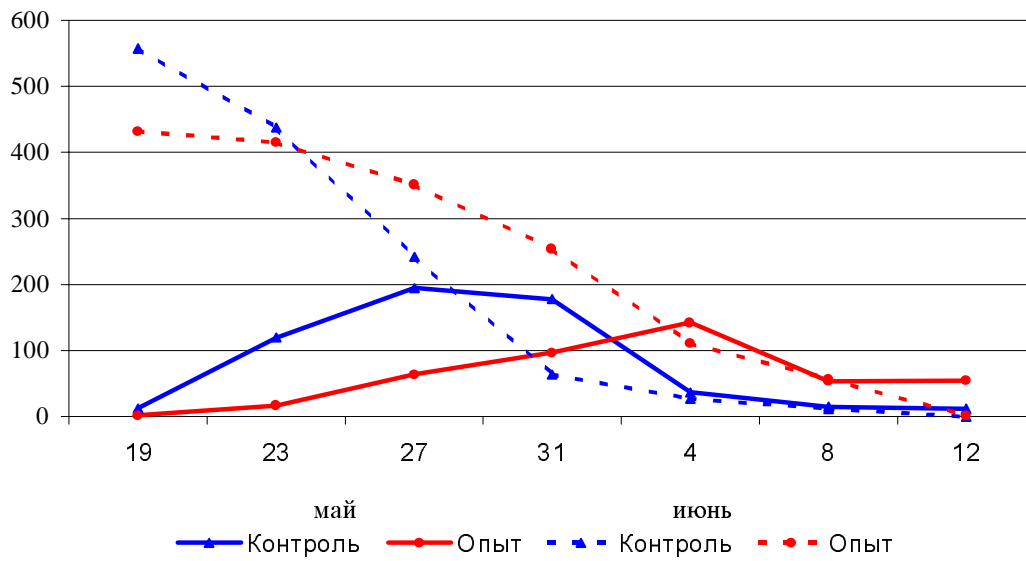


Рис. 6. Динамика отхода (—▲—) и остатка (---▲---) молоди пеляди в период эксперимента (2001г.)

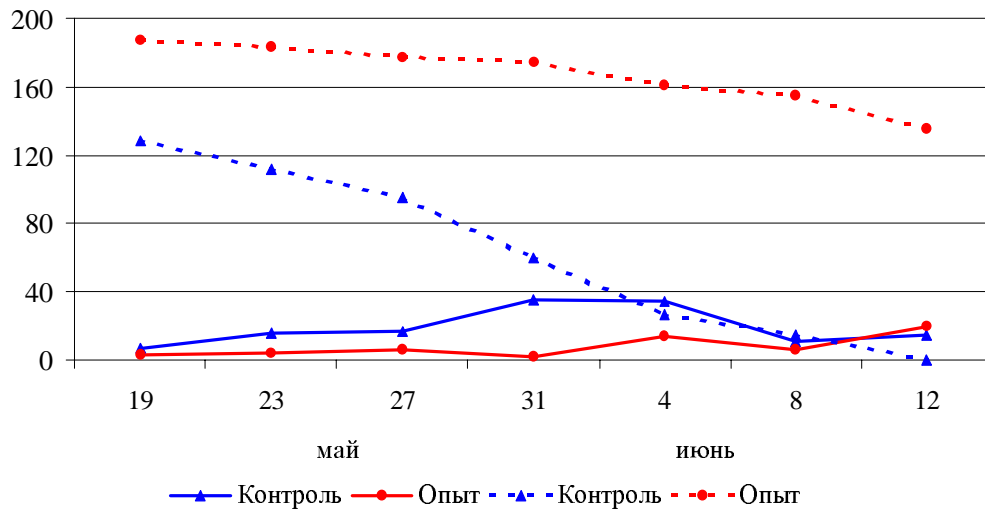


Рис. 7. Динамика отхода (—▲—) и остатка (---▲---) молоди муксуна в период эксперимента (2001г.)

Личинки и мальки опытных партий характеризовались ускоренным развитием репродуктивной системы – у них быстрее увеличивалось количество половых клеток.

Все подопытные группы пеляди и муксуна отличались более высокой выживаемостью в постэмбриональный период: 21-77% у подопытных и 17-43% – в контрольных партиях (рис. 6,7).

Глава V. Экологическая пластичность морфо- и гаметогенеза осетровых рыб

Положительные результаты, полученные при работах с пелядью, были положены в основу исследований развития репродуктивной системы у сеголеток стерляди и осетра при их искусственном выращивании на Абалакском ОЭРЗ и в Тюменском сиговом питомнике (СибрыбНИИпроект, Тюмень) в июне-ноябре 1999г.

Изучению роста, развития и полового созревания осетровых рыб в природных водоемах и в условиях искусственного разведения посвящены многочисленные исследования (Гербильский, 1941; Казанский, 1956, 1960, 1975; Вотинин, 1963б, 1979; Вернидуб, 1951; Краюшкина, 1957; Чусовитина, 1963; Богданова, 1965, 1967; Персов, 1947, 1969, 1975, 1979; Баранникова, 1975; Акимова, 1988, 1992; Семенов, 1989; Ахундов и др., 1992; Семенов и др., 1997 и мн. др.). Авторами, изучавшими ранние стадии гаметогенеза осетровых, было показано, что первичные гоноциты у них достигают половых складок в 12 суток после вылупления, а переходят к митозам у стерляди в 40, у русского осетра в 90 суток, анатомическая дифференцировка пола проходит в 7 мес. и 30 мес., а цитологическая – в 8,5 мес. и 40 мес., соответственно.

Морфометрический анализ стерляди, начиная с двухнедельного до 5-месячного возраста с периодичностью 10, 20, 30, 45 суток показал постоянно нарастающую согласованность развития пластических признаков подопытных рыб к концу эксперимента (рис. 8).

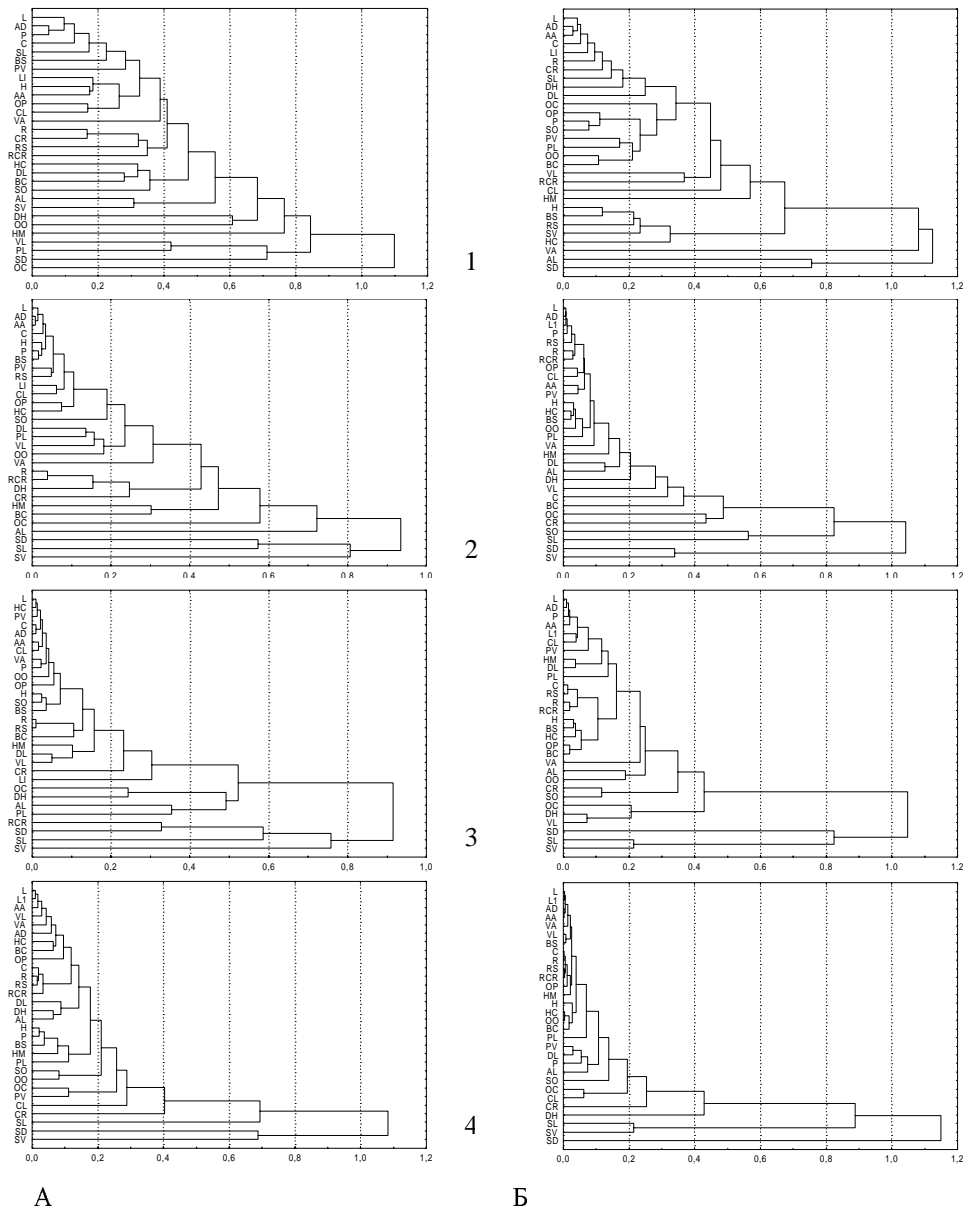


Рис. 8. Дендрограммы расстояний между признаками у мальков и сеголеток стерляди контрольной (А) и опытной (Б) партий: 1. 21 сут. (7.07.99), 2. 65 сут. (20.08.99), 3. 100 сут. (24.09.99), 4. 147 сут. (10.11.99).

Анализируя состояние репродуктивной системы стерляди, отметим, что в возрасте трех недель у большей части особей из контроля и опыта уже формировались гонады. На данном этапе раннего онтогенеза размеры самих мальков и размеры их гонадок были несколько крупнее в контрольной партии. Большая часть половых клеток находилась в составе гонады, что свидетельствует о завершении миграции ППК. Некоторые из них уже вступили в митотический цикл и были представлены гониями I порядка.

В месячном возрасте у молоди контрольной и опытной партий были отчетливо видны сформировавшиеся половые железы.

К возрасту 65 суток появлялись отчетливые различия в размерах половых желез у контрольных и подопытных рыб. В контроле половые железы были по-прежнему слабо развиты, а в опыте увеличивалось количество гониев и размеры борозды-щели – основного показателя анатомической дифференцировки половой железы по типу яичников.

В 100-суточном возрасте данная тенденция нарастала и к концу эксперимента, в возрасте 147 суток, не только отмечалась отчетливая половая дифференцировка самок и самцов подопытной стерляди, в отличие от менее дифференцированных по полу контрольных особей, но у части подопытных самок появлялись ооциты стадии диплотены. В контроле присутствовало лишь незначительное число гнезд ооцитов ранней профазы мейоза.

Таким образом, начиная с двухмесячного возраста, нарастали различия в опытных и контрольной партиях стерляди, проявлявшиеся в более высоком и сбалансированном темпе соматического роста и развитии половых желез.

Одновременно с работами на стерляди проведена рекогносцировочная обработка икры осетра СИМП на стадии гастрюляции. Полученные с применением “Технологии Телос” результаты, свидетельствуют о повышенных, в сравнении с контролем, размерно-весовых характеристиках подопытных особей, высоком уровне сбалансированности морфометрических параметров и более интенсивном развитии их репродуктивной системы, отчетливо проявлявшихся в пятимесячном возрасте. В более крупных гонадах подопытных сеголеток осетра отмечался значительно больший объем жировой ткани, лучше была развита генеративная составляющая – большее количество гониальных клеток на площади фронтального среза половой железы (3-19 в опытной партии и 3-7 – в контроле). Кроме того, у будущих самок в опыте уже проходила анатомическая дифференцировка гонад. Все перечисленные характеристики являются благоприятными предпосылками для последующего интенсивного гаметогенеза и радикального сокращения возраста наступления половой зрелости при одновременно более высоком и сбалансированном темпе соматического развития.

ВЫВОДЫ

1. Патоморфологические изменения репродуктивной системы, печени и жаберного аппарата туводных рыб в некоторых участках Обь-Иртышского бассейна носят массовый характер; степень проявления аномалий убывает в ряду: елец-плотва-пелядь-муксун-язь-окунь.
2. Наибольшие аномалии отмечаются в жаберном аппарате плотвы в индустриальной зоне (р.Тура в черте Тюмени), в печени и гонадах ельца в нефтезагрязненных притоках Средней Оби (Сургутский и Нефтеюганский район), а также в печени и гонадах пеляди и муксуна в Ханты-Питлярском соре в Нижней Оби и на Кутупьюганских салмах в Обской губе.
3. Слабые импульсные магнитные поля, инициирующие у моллинезии появление ксантофоровой пигментации плавников, носят модифицирующий характер.
4. Ускорение линейно-весагого роста тетрагоноптеруса, увеличение в 2,5-3 раза фонда половых клеток и сокращение сроков его полового созревания на 1,5 месяца обусловлено режимом обработки СИМП эм 24 ов на этапе гастрюляции.
5. Повышенная выживаемость молоди пеляди при экстремально высокой температуре воды летом и высокая формационная активность репродуктивной системы у самок и самцов этого вида в подледный период (оз.Байнаш), проявившаяся в резком увеличении доли молодых генераций, являются следствием обработки эмбрионов СИМП.
6. Воздействие СИМП на эмбрионы пеляди и муксуна на этапе вылупления повысило скоррелированность морфометрических параметров и ускорило развитие репродуктивной системы к 1,5-месячному возрасту, наиболее отчетливо проявившиеся у пеляди, чем муксуна.
7. Проведенная обработка СИМП эмбрионов стерляди способствовала увеличению темпа роста подопытных экземпляров и повышению сбалансированности развития пластических признаков.
8. Высокий уровень развития репродуктивной системы стерляди, обработанной в эмбриональный период СИМП, проявился в сокращении сроков дифференцировки пола, высоком темпе гамето- и гонадогенеза, быстром вступлении ооцитов в превителлогенез. Более интенсивное протекание гонадо- и гаметогенеза у подопытной молоди сибирского осетра является следствием обработки эмбрионов СИМП.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. Selyukov A.G., Solodilov A.I., Elkin V.P., Kochetkov P.A., Bondarenko M.N., Vtorushin M.N. An application of new technologies for the formation of the reproductive stock of Coregonus peled beyond the limits of the native areas // VII Intern.Sympos.Biol. and Manag. of Coregonid Fishes. Michigan, USA. 1999. P.82.
2. Селюков А.Г., Елькин В.П., Вторушин М.Н., Бондаренко О.М. Использование технологий нового поколения для повышения морфобиологического статуса пеляди за пределами естественного ареала // Вестник ТГУ. 2000, № 3, с. 183-193.
3. Селюков А.Г., Вторушин М.Н., Бондаренко О.М. Морфофункциональные трансформации в раннем онтогенезе иртышской стерляди под влиянием слабых магнитных полей // Вестник ТГУ. 2000, № 3, с. 193-205.
4. Селюков А.Г., Вторушин М.Н., Бондаренко О.М., Беспоместных Г.Н. Морфодинамические корреляции в раннем онтогенезе сиговых рыб под влиянием слабых магнитных полей // “Биология и биотехника разведения сиговых рыб”. Тюмень, 2001. С.160-162.
5. Bondarenko O.M., Vtorushin M.N., Selyukov A.G. Formation of gonocyte line in the early ontogenesis of coregonid fish // VIII Intern.Sympos.Biol. and Manag.of Coregonid Fishes. Rovaniemi, Finland. 2002. P.9.
6. Selyukov A.G., Vtorushin M.N., Bondarenko O.M., Bepomestnykh G.N. Application of weak-magnetic field during embryonic development of Coregonid fish to increase their biotolerance // VIII Intern.Sympos.Biol. and Manag.of Coregonid Fishes. Rovaniemi, Finland. 2002. P.46.
7. Вторушин М.Н., Селюков А.Г. Пути восстановления численности редких видов Тюменской области (на примере сибирского осетра) с использованием технологий нового поколения // XIV Всерос. научно-практическая краеведческая конф. «Словцовские чтения». Тюмень, 2002. С. 221-222.