

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ГАМЕТОГЕНЕЗА У ЗАВОДСКОЙ МОЛОДИ ЧАВЫЧИ ПЕРЕД ВЫПУСКОМ В ЕСТЕСТВЕННЫЙ ВОДОЕМ ЗА ТРИ РАЗНЫХ ГОДА

К.В. Метальникова

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, ФГУП "ВНИРО"

Установлено, что к выпуску молоди в естественный водоем самки чавычи массой 7–8 г имеют гонады на поздней 2-й стадии зрелости: в фазе протоплазматического роста ооцитов на 3–5-й ступенях. Заводская молодь камчатских лососей имеет гонады более развитые, чаще — на 2-й стадии зрелости, чем дикая молодь, и готова к скату и пищевой конкуренции при нагуле в море.

Семенники у радужной форели — незамкнутого, лобулярного типа [5], такие же семенники и у чавычи. Тестикулярные капсулы, окружающие семенники, проникают в их тубулярную ткань, формируют тубы различного размера и диаметра (лобулы), вокруг которых развивается герминативный эпителий с половыми клетками. По зарубежным литературным источникам, созревание у самцов можно разделить на 9 стадий, 7 из которых приходится непосредственно на сперматогенез (табл. 1).

В отечественной литературе [1] периодизацию сперматогенеза подразделяют на три периода: размножения сперматогоний, мейотических преобразований и спермиогенеза.

У самок в яичниках формирование гонад складывается из двух основных процессов: формирования соматической части гонады (стромы) и половых клеток. Первичные половые клетки (ППК) обнаруживаются у разных видов лососевых рыб в строго определенных сроки, что в большой степени обуславливается не только видоспецифичностью данного процесса [3], но также и температурными факторами [1]. При подготовке ППК к митотическим делениям из клеток с полиморфным ядром образуется клетка с пузырьчатым ядром округлой формы с четкими границами, с одним центрально расположенным ядрышком [4]. ППК располагаются в строго определенном месте, у тихоокеанских лососей — между 9 и 32 сомитами. Сроки появления ооцитов

синаптической стадии у разных лососей разные и не зависят от температуры воды, в которой их содержат (табл. 2).

В фазе протоплазматического роста ооцитов периода превителлогенеза развитие ооцитов претерпевает ряд морфологических преобразований [1, 3, 4]. Из всех промысловых тихоокеанских лососей в этот период развития ооцитов наименее изученной остается чавыча *Oncorhynchus tshawytscha*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужила молодь чавычи, зафиксированная в 10% нейтральном формалине или растворе Буэна. Исследовали молодь чавычи, выпускаемую с Малкинского лососевого рыбозавода (МЛРЗ) в разные годы, имеющую свои особенности (табл. 3). В 2002 г. по ряду технических причин местного характера икру чавычи инкубировали до наступления стадии пигментации глаз у эмбрионов на лососевом рыбозаводе "Озерки" (ЛРЗО) при естественной температуре воды из р. Плотникова (4–5°C). Далее развивающихся эмбрионов перевезли на МЛРЗ, где окончание их инкубации, подращивание личинок и молоди осуществляли с водоподогревом, при средней температуре воды около 8°C. В 2003 г. лето на Камчатке было аномально теплым (температура воздуха прогрелась до 41°C), и нерест происходил не при 4–6°C, как обычно, а при температуре воды 10–12°C. Инкубацию икры и подращи-

Таблица 1. Определение стадий сперматогенеза у форели и прочих лососевых

Стадия	Определения	Сперматогонии		Сперматоциты	Сперматиды	Сперматозоиды лобулы (ампулы)	Сперматозоиды в спермиальных протоках	Спермиация
		A	B					
I ₀	Преуберантный	+	0	0	0	0	0	0
I ₁	При созревании, у взрослых	+	0	0	0	(+)ост.	(+)ост.	0
II	Инициация сперматогенеза	++	+	0	0	0	0	0
III	Интенсивное развитие герминативного эпителия	+	++	+	(+)	0	0	0
IV	Развитие сперматоцитов	+	++	++	+	(+)	0	0
V	Активация сперматогенеза	+	+	++	++	+	0	0
VI	Ампулы, заполненные сперматозоидами	+	+	+	++	++	(+)	0
VII	Начало активной спермиации	+	0	+	+	++	++	++
VIII	Окончание сперматогенеза, активная спермиация	+	0	0	0	++	++	++
IX	Окончание спермиации, элиминация сперматозоидов	+	0	0	0	+	+	0

Примечание: ост. — остаточные от предыдущего цикла.

Таблица 2. Сроки дифференциации половых клеток у лососей [4]

Вид	Индифферентный период, градусо-дни	Первые ооциты синаптической стадии, градусо-дни	Общее количество градусо-дней за время инкубации	%
Горбуша южносахалинская	380	415	598	6,31
Горбуша кольская	596	—	707	
Кета южносахалинская	651	711	390	>163,5
Кета приамурская	640	—	—	—
Нерка	670	920	560	~164,0
Сима	732	889	530	166,7
Кижуч	460	834	320	~259,0
Атлантический лосось	747	1076	360	290

вание молоди осуществляли на МЛРЗ с водоподогревом при температуре воды около 8°C. В 2004 г. на Камчатке наблюдали стандартные погодные условия, нерест проходил при температуре воды

6,5°C, и также стандартно проходили процессы нереста производителей.

Гистологические исследования гонад проводили по стандартным методикам [2]. Проводку проб осуществляли через

Таблица 3. Схема исследования гонад у молоди чавычи перед выпуском в естественный водоем (Камчатка)

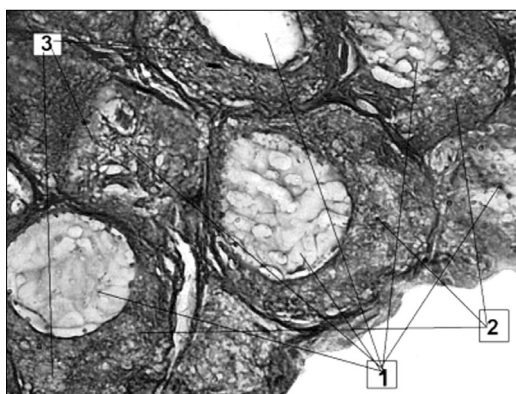
Год	Температура воды при нересте производителей, °С	Температура воды при инкубации икры и подращивании молоди, °С	Исследовано гонад у молоди чавычи, экз.	Особенности года
2002	5–7	8	50	Норма, изменения режима инкубации икры с 4–5°С на 7–8°С
2003	10–12	8	80	Нерест производителей при высокой температуре воды, режим инкубации с водоподогревом
2004	5–7	8	123	Норма, режим инкубации с водоподогревом

автомат для гистологической обработки тканей карусельного типа (Модель STR-120); заливку в парафин — через заливочную станцию ЕС 350; продольные срезы толщиной 5–7 мкм делали на санном микротоме “MICROM HM 440E”. Полученные срезы окрашивали гематоксилином по Джилла 1 или 2 с докраской эозином. Фотографии готовых гистологических препаратов сделаны с помощью компьютерной системы с автоматической видеокамерой Leica DC при увеличении окуляра ×10 и объективов ×10, 20, 40. Для изготовления цифровых микрофотографий гистологических препаратов использовали программу “DC Viewer”, соединенную с программой редактирования изображений Photo-shop 9.0.

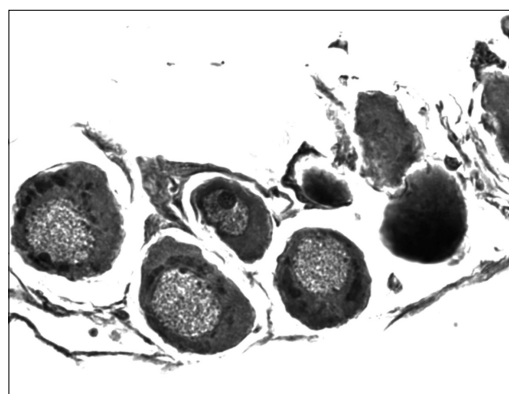
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После проведения исследований получены следующие результаты (рис. 1).

На рис. 1 показаны гонады самок чавычи в возрасте 0+ перед выпуском в естественный водоем, яичники — на 2-й стадии зрелости, ооциты — в фазе протоплазматического роста на 3-й ступени. В ядре ооцитов пристенно расположены до 12 ядрышек. Четко просматривается “периферическое кольцо” (места скопления РНК), при этом наблюдается резорбция кариоплазмы (1), деструкция цитоплазмы (3). Фолликулярные оболочки — в ненарушенном состоянии при просмотре в светооптическом микроскопе. Синхронное развитие яйцеклеток в яйценосной пластинке характерно для чавычи.



а



б

Рис. 1. Сагиттальный срез гонад самок чавычи (МЛРЗ, Камчатка, 2002 г. Выращивание с подогревом воды. Возраст 0+. Фиксатор: 10% формалин). Увеличение а — ×400, б — ×200

На рис. 2 изображен сагиттальный срез семенника чавычи перед выпуском в естественный водоем после подрашивания при водоподогреве: 3 — оболочка семенника; 1 — сперматогонии темные типа Б, группируются в компактные группы, клоны, соединенные между собой цитоплазматическими мостиками; 2 — семенная ампула, образованная клонами сперматогоний типа Б. Самец на 1-й с переходом ко 2-й стадии зрелости.

На рис. 3 представлены срезы гонад самок молоди чавычи перед выпуском в естественный водоем. Наблюдаются изменения в ооцитах. Именно эту молодь получили из икры, которую инкубировали при естественной температуре воды из р. Плотникова. Затем, на стадии пигментации глаз эмбрионов, икру перевезли на МЛРЗ, где произошло вылупление личинок из икры и их дальнейшее выращивание с подогревом воды на водоподаче при температуре воды $\sim 8^{\circ}\text{C}$; 1 — стромальная оболочка яичника, 2 — крупные ядрышки, расположенные в ядре ооцита эксцентрично, при этом наблюдаются и мелкие ядрышки. Цифрами 3 и 4 обозначено “периферическое кольцо” ооцитов, что характерно для 3-й ступени фазы протоплазматического роста ооцитов. На срезах гонады чавычи наблюдается смешение разных фаз развития, от ППК с одним крупным эксцентрично расположенным ядрышком

в ядре ооцита до образования “периферического кольца”, что характерно для 3-й ступени фазы протоплазматического роста ооцитов, причем такие смещения в развитии наблюдаются даже в одном и том же ооците (см. рис. 3, 2). Так как такого рода аномалии встречались у молоди чавычи и в 2002 г. (см. рис. 1, б), скорее всего, целый ряд факторов отразился в подобном формировании гонад: перенос инкубации икры из одних условий в другие в 2002 г., аномально жаркое лето в 2003 г. Во все исследуемые годы кормление молоди на ЛРЗ осуществляли неподходящим для её полноценного развития комбикормом, содержащим до

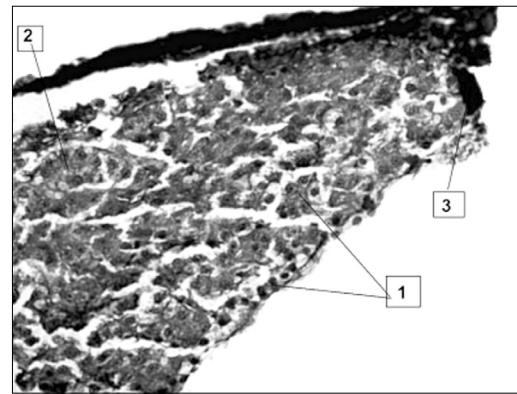


Рис. 2. Сагиттальный срез семенника чавычи (МЛРЗ, 2002 г. Выращивание при водоподогреве. Фиксатор: 10% формалин). Увеличение $\times 200$

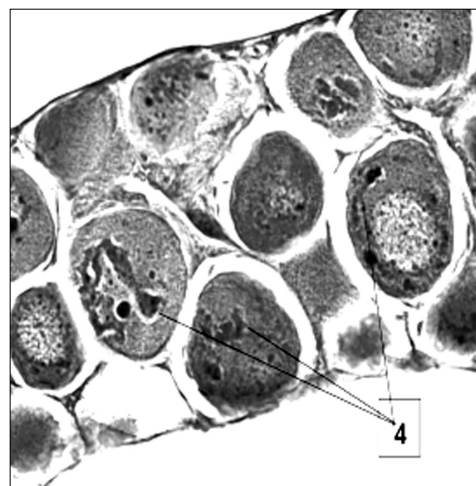
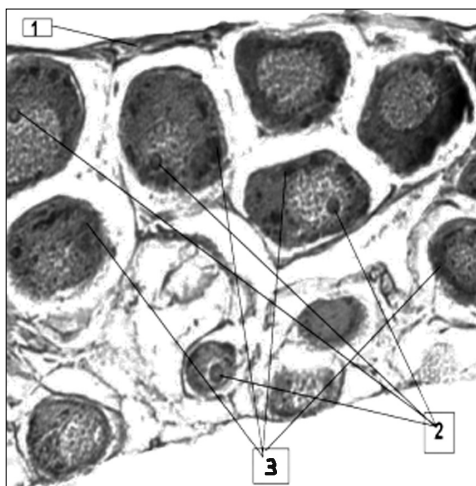


Рис. 3. Сагиттальный срез гонады самки чавычи (МЛРЗ, 2003 г, Камчатка, после кормления. Фиксатор: жидкость Буэна). Увеличение $\times 400$

300 мг на 1 кг корма витамина Е. Как известно, витамин Е (токоферол) оказывает влияние на интенсивность гаметогенеза из-за усиления энергетического обмена у рыбы и, как следствие, вызывает ожирение ее печени, ослабление ее из-за этого ожирения и как вторичный фактор негативного развития у рыбы происходит заражение паразитами. В гонадах, как в наиболее ярком индикаторе физиологического состояния рыбы, отразились все негативные воздействия на молодь, выпущенную в естественный водоем в эти годы.

На рис. 4 показан сагиттальный срез гонады самца чавычи перед выпуском в естественный водоем. Половые клетки представлены сперматогониями типа А_c и А_т- (2). Наблюдаются неравномерные деления половых клеток (1 — тестикулярная оболочка семенника). У самца чавычи картина на срезе аналогична той, что наблюдалась у самок из этой генерации (см. рис. 3) т. е. неравномерные, не синхронные деления половых клеток. Хотя категорически утверждать, что это является нарушением гаметогенеза преждевременно. С образованием сперматогоний типа Б, соединенных друг с другом протоплазматическими мостиками, обеспечивающими синхронность в делении сперматогоний типа Б в семенных ампулах, можно говорить о фактическом нормальном или аномальном развитии семенников, но отставание в развитии у самцов в 2003 г., перед выпуском в есте-

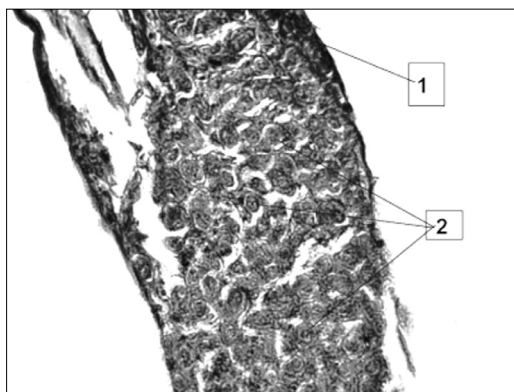


Рис. 4. Сагиттальный срез гонады самца чавычи перед выпуском в естественный водоём (МЛРЗ, Камчатка, 2003 г. Фиксатор: жидкость Буэна). Увеличение ×200

ственный водоем, по сравнению с развитием самцов в 2002 г. наблюдается.

На рис. 5 представлен срез гонады самки чавычи перед выпуском в 2004 г. Наблюдается нормальное, синхронное развитие ооцитов в разных яйцеклеточных пластинках — 1. Ооциты на 3-й ступени фазы протоплазматического роста периода превителлогенеза. Никаких нарушений в гаметогенезе не наблюдается, но в межовариальных пространствах практически у всех самок имеются пустоты, оставшиеся от растворившегося при проводке через спирты и ксилол жира. У всей молоди отмечено ожирение гонад в той или иной степени.

Исследования гаметогенеза чавычи в 2002, 2003 и 2004 гг. на МЛРЗ показали высокую степень ожирения гонад самок во все эти годы, что, скорее всего, связано с нарушениями в кормлении молоди, так как при изучении других внутренних органов в них наблюдали серьезные дистрофические изменения из-за ожирения. При этом следует отметить, что органические нарушения в гаметогенезе молоди чавычи были отмечены только у молоди, выпущенной в естественный водоем в 2003 г., что обусловлено, по-видимому, нарушениями в процессе инкубации из-за перевозки икры на поздних стадиях развития из ЛРЗ “Озерки” на Малкинский ЛРЗ и перевод инкубации икры с режима инкубации без подогрева воды на режим инкубации с подогревом воды. В 2003 г. при аномально жарком лете в

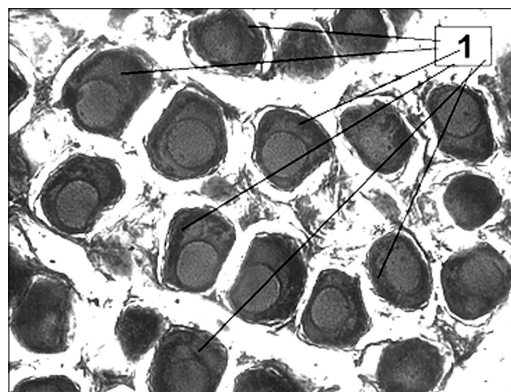


Рис. 5. Сагиттальный срез яичника чавычи перед выпуском в естественный водоём (МЛРЗ, 2004 г. Фиксатор: жидкость Буэна). Увеличение ×200

гонадах молоди чавычи наблюдали десинхронизацию развития ооцитов в фазе протоплазматического роста ооцитов периода превителлогенеза в одной и той же гонаде, и в одной и той же яйценосной пластинке, что, вероятно, также обусловлено и высокой температурой. В 2004 г. было нормальное, синхронное развитие ооцитов у самок молоди чавычи, несмотря на аномально жаркое лето 2003 г., когда происходил нерест производителей, давших это потомство чавычи.

ВЫВОДЫ

Необходимо подобрать корма, подходящие по своему составу для кормле-

ния молоди чавычи, выращиваемой в условиях Малкинского ЛРЗ с подогревом воды и предназначенные для кормления дальневосточных лососей с единственным нерестом в их жизни, для чего воспользоваться мировым опытом, например Канады [6] или практикой культивирования чавычи в Аляске, Японии [7, 8].

В результате исследований доказано, что не следует допускать перемены режима инкубации икры чавычи: с инкубации при температуре естественного водоема на инкубацию в условиях водоподогрева, что в дальнейшем может оказать существенное воздействие на гонады производителей.

Выражаем благодарность сотрудникам, помогавшим собирать материал для гистологических исследований на МЛРЗ в 2004 г. А. Манухову и Е. Шульгиной.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мурза И.Г., Христофоров О.Л. Определение степени зрелости гонад и прогнозирования возраста достижения половой зрелости у атлантического лосося и кумжи. — Л.: ГосНИОРХ, ФНИИ им. Ухтомского ЛГУ, 1991. — 102 с.
2. Паушева З.П. Практикум по цитологии растений. — М.: Агропромиздат, 1988. — 270 с.
3. Персов Г.М. Дифференцировка пола у рыб. — Л.: Изд-во ЛГУ, 1975. — 148 с.
4. Персов Г.М. Воспроизводство и акклиматизация лососевых в Баренцевом и Белом морях. — М.-Л. — 1966. — С. 7-44.
5. Billard R. Reproduction in rainbow trout: sex differentiation, dynamics of gametogenesis, biology and preservation of gametes // The Rainbow Trout. The proceeding of the first aquaculture sponsored Symposium held at the Institute of Aquaculture. University of Stirling. Scotland 4-7 September 1990 / Ed. by G.A. Gall. — USA, Amsterdam-London-New York-Tokyo. — 1992. — P. 263-298.
6. Ereymond B., Marlowe Ch. et al. / Ed. Chris Marlowe // Dungeness River Chinook Salmon. Rebuilding Project. Progress Report 1993-1999. January. 2001. — 96 p.
7. Life History of Pacific Salmon / Ed. by C. Groot and L. Margolis. — UBCPress, Vancouver, 1991. — 564 pp.
8. Report of the "Working Group on the Application on Genetics in Fisheries and Mariculture, Reykjavik, Iceland 12-15 April, 1999. — 121 p. Site: WGAGFM Internet site: <http://www.ices.dk/committe/marc/wgagfm.htm>

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ГАМЕТОГЕНЕЗУ В ЗАВОДСЬКІЙ МОЛОДІ ЧАВІЧІ ПЕРЕД ВИПУСКОМ У ПРИРОДНІ ВОДОЙМИ ЗА ТРИ РІЗНИХ РОКИ

К.В. Метальнікова

Встановлено, що на час випуску молоді в природні водойми самиці чавичі масою 7-8 г мали гонади на пізній 2-й стадії зрілості: у фазі протоплазматичного росту ооцитів на 3-5-му ступенях. Заводська молодь камчатських лососів мала більш розвинені гонади, частіше — на 2-й стадії зрілості, ніж дика молодь, та була готова до скату і харчової конкуренції за випасу в морі.

COMPARATIVE CHARACTERISTIC OF THE GAMETOGENESIS OF THE HATCHERIES OF JUVENILE CHINOOK SALMONS BEFORE THE RELEASE IN NATURAL ENVIRONMENT IN THE THREE DIFFERENT YEARS

K. Metalnikova

By the release of juveniles in natural water the 7-8 g female Chinook salmon have gonads at the late 2nd stage of maturity: in the phase of protoplasmic growth of oocytes for 3-5 classes. The hatchery juveniles of Kamchatka salmon have more developed gonads, more often — for 2 stages of maturity than wild juveniles, and are ready to ramp and for food competition when feeding at sea.