

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МОРСКОЙ АКВАКУЛЬТУРЫ

1975 1

Пров. 1980

ПРОВ 98

АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНСКОЙ ССР
ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ
им. А. О. КОВАЛЕВСКОГО

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МОРСКОЙ АКВАКУЛЬТУРЫ

Выпуск I

Черноморская камбала-калкан
Scophthalmus maeoticus maeoticus (Pallas)
как объект искусственного разведения

Институт
биологии южных морей
БИБЛИОТЕКА

№ 10

ИЗДАТЕЛЬСТВО «НАУКОВА ДУМКА»
КИЕВ - 1975

Ответственный редактор
чл.-кор. АН УССР В.Н.Гресе

Редакция информационных изданий

Б 21009-538
М221(04)-75

© Институт биологии южных морей им.А.О.Ковалевского АН УССР,
1975 г.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Промысловое использование биологических ресурсов морей и океанов доставляет нашей стране более 8 млн. т различных продуктов питания. Основная масса их добывается в настоящее время в открытых водах и на шельфах многих отдаленных районов. Однако в связи с тем, что эксперты предвидят приближение уровня мирового рыболовства к максимальным пределам - около 100 млн. т, а также в связи с расширением территориальных вод большинства стран, для Советского Союза приобретают особое значение внутренние моря и возможности максимального использования их биологических ресурсов.

Решение этой проблемы может быть найдено при разработке принципиально новых подходов к биологическим ресурсам моря. Охотничьи методы ведения хозяйства должны будут в немалой степени сменяться аквакультурой в ее самых разнообразных формах. Опыт ряда стран указывает на значительную эффективность морских хозяйств, дающих на единицу площади продукцию водорослей, моллюсков и рыб значительно более высокую, чем получаемую обычным промыслом этих объектов в море. Так, в Японии аквакультура позволяет снимать на шельфе с 1 га 35 ц морепродуктов.

В нашей стране до сих пор не уделяется должного внимания аквакультуре. Ее практическое развитие нуждается в планомерной и широкой разработке многих теоретических вопросов, связанных с биологией, экологией, физиологией объектов культивирования. Разработка биотехники выращивания многих организмов, в том числе рыб, представляет экологическую задачу, для решения которой необходимо создание комплексной биотехнической системы, включающей ряд организмов, являющихся источниками питания для основных разводимых объектов. Рыбы, например, на разных стадиях выращивания нуждаются в живых кормах разного качества. Ряд беспозвоночных животных, перспективных, как источники кормовых белковых продуктов, или в качестве живых кормов при культивировании нуждаются в водорослевом или детритном питании определенного качества.

Отсутствие необходимого научного фундамента тормозит решение практических вопросов морской аквакультуры. При всем недостатке теоретических разработок в некоторых случаях получены обнадеживающие результаты. В частности, можно указать на успехи, достигнутые Азово-Черноморским научно-исследовательским институтом морского рыбного хозяйства и океанографии (АзЧерНИРО) в выращивании мидий. Полупроизводственные опыты показали, что в Черном море можно, при интенсивной культуре, получить с 1 га до 500 т мяса мидий. Однако этих данных недостаточно для теоретической и практической разработок проблем морской аквакультуры.

В связи с этим в последние годы Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского начал исследования в этой области. Изучен ряд планктонных водорослей, показавших хорошие культуральные качества и высокую продуктивность, разрабатываются, пока в лабораторных масштабах, методы культивирования некоторых морских беспозвоночных, проведены опыты сбора, искусственного оплодотворения, инкубации и выращивания личинок камбалы-калкана. Этот же перспективный объект возможного рыбоводства привлек внимание сотрудников АзЧерНИРО, изучавших его экологию, биологию, процесс размножения и также проводивших опыты выращивания личинок.

Имея в виду актуальность разработки различных аспектов проблемы морской аквакультуры, стремясь к развитию исследований в этом направлении, и учитывая необходимость быстрой информации специалистов о получаемых результатах, Институт биологии южных морей начинает серию публикаций "Биологические основы морской аквакультуры". Ее задача состоит в периодической и, по возможности, оперативной информации о текущей разработке различных вопросов, относящихся к проблеме культивирования морских организмов, организации управлений морских хозяйств разного профиля, развития морского рыбоводства и иных разделов аквакультуры.

Первый выпуск этой серии, подготовленный совместно с Азово-Черноморским научно-исследовательским институтом рыбного хозяйства и океанографии, содержит результаты разносторонних исследований камбалы-калкана, проводившихся в последние годы в Черноморском бассейне сотрудниками двух институтов, для выяснения ее особенностей как возможного объекта рыбоводства.

ИССЛЕДОВАНИИ БИОЛОГИИ КАМБАЛЫ-КАЛКАНА В СВЯЗИ
С ВОПРОСАМИ ЕЕ ИСКУССТВЕННОГО ВОСПРОИЗВОДСТВА

В.П.Попова

(АзЧерНИРО, Керчь)

Результаты многолетних систематических комплексных рыбохозяйственных исследований АзЧерНИРО в Черноморском бассейне свидетельствуют о том, что интенсивность промысла в этом водоеме в настоящий период находится в соответствии с его промысловыми возможностями. В перспективе нет оснований надеяться на значительное повышение уловов хамсы, ставриды, кефали, камбалы, барабули и др.

Основными путями улучшения и обогащения рыбных ресурсов морей является акклиматизация и рыбоводство. Поэтому для повышения промысловой продуктивности Черного моря АзЧерНИРО (совместно с ВНИРО) с 1968 г. начаты работы по разведению камбалы и кефали.

Камбала-калкан (*Scophthalmus maoticus maoticus*) — одна из ценных промысловых рыб Черного моря. Исследования АзЧерНИРО направлены на изучение закономерностей динамики численности и изыскание путей увеличения ее запасов и рационального их освоения. Разработан комплекс охранных мероприятий по регулированию промысла.

Однако, несмотря на положительное влияние охранных мероприятий, существенных изменений запасов калкана за последние годы не произошло. Поэтому все актуальнее становится проблема увеличения его запасов путем искусственного разведения. Предполагаемая эффективность этих работ основывается на биологических особенностях калкана — рыбы с исключительно высокой плодовитостью, но весьма низким коэффициентом выживаемости: численность отдельных поколений в промысловом возврате определяется 250-300 тыс. экз.

Данная статья — обобщение результатов исследований АзЧерНИРО по камбале. В ней описываются некоторые главные особенности биоло-

гии этой рыбы, использованные при разработке ее искусственного воспроизводства [12, 167].

Калкан - донная рыба, обитающая вдоль всех берегов Черного моря, преимущественно на песчаных и илисто-песчаных грунтах до глубины 140 м. Поэтому ареал ее ограничен и не превышает 20-25% общей площади этого водоема. В водах Советского Союза калкан в основном распределяется в северо-западной части моря и Керченском предпроливном пространстве. Жизненный цикл калкана - 14-15 лет. Тип динамики нерестового стада у калкана сходен с осетровым (III тип по определению Г.Н. Монастырского [8]) и характеризуется преобладанием остатка над пополнением. Половая зрелость наступает поздно: рыбы, созревающие в возрасте 3-4 лет, составляют около 3-5%, в возрасте 5-6 лет - 60-70% (в основном созревают самцы). Самки созревают в возрасте 6-8 лет, составляя 20-25% общей численности самок в стаде. Наиболее интенсивный рост у калкана наблюдается в первые три года (в среднем 7-10 см). В последующие годы он не превышает 1-2 см. Неполовозрелые рыбы длиной до 35 см весят 200-300 г. В период полового созревания, когда калкан достигает 35-40 см, вес его увеличивается до 1 кг, т.е. более, чем в три раза.

Анализ многолетних данных, характеризующих темп весового роста и созревания в связи с особенностью питания калкана, позволяет сделать вывод о том, что качественный состав нерестового стада в значительной степени определяется ареалом нагула и условиями откорма взрослых рыб. Одна из приспособительных особенностей черноморского калкана - питание зимой массовыми пелагическими рыбами. 30-40% его пищевого рациона составляет хамса.

Калкан по типу размножения относится к полициклическим рыбам [24]. Продолжительность стадий зрелости половых продуктов неодинакова. Наиболее продолжительна II стадия. У рыб, впервые мечущих икру, до наступления половой зрелости, она длится от 4 до 8 лет. У повторно нерестящихся 6-7 мес. Общая продолжительность III и IV стадий не более 2-3 мес. Наибольший коэффициент зрелости отмечен на IV-й стадии зрелости половых продуктов, причем у самок в отдельные годы он достигает 20-25%.

Годовой цикл созревания гонад калкана можно разбить на три периода: преднерестовый, нерестовый и посленерестовый. Преднерестовый продолжается 3-4 мес. с декабря по март. Характеризуется относительно медленным и постепенным созреванием половых желез: у самок в начале этого периода и заметным увеличением гонад в конце периода. Коэффициент зрелости у самок увеличивается от 1,7 до

6,5%, у самцов - от 0,5 до 1,1%. Сроки наступления и продолжительность первого периода зависят в основном от условий нагула калкана, а последние обуславливаются гидрометеорологическими режимами зим. В суровые зимы, когда пелагические рыбы в массе зимуют у дна и становятся более доступными для калкана, созревание половых продуктов проходит интенсивнее и в более сжатые сроки. Довольно точно отражает биологическое и физиологическое состояние динамика жирности [15]. Осенью, после нереста, когда энергетические запасы израсходованы, а к нагулу рыба еще не приступила, количество жира как общее, так и в отдельных частях организма уменьшается. Особенно мало его (1 - 4%) в гонадах самок. Показатели жирности самцов в это время более высокие. Самки, израсходовав энергетический запас на нерест, восстанавливают его значительно медленнее.

Весной, в конце преднерестового периода, наблюдается перераспределение содержания жира: уменьшается его количество в печени - аккумуляторе жировых запасов - от 35 до 20%; в мышцах - до 2-4% и увеличивается в гонадах от 5 до 28% [15]. Высокое содержание жира в этот период в гонадах самок калкана, по-видимому, обусловлено тем, что значительное его количество необходимо для созревания большого количества икры. Значительная часть жира в виде отдельных жировых капель остается в икре и обеспечивает гидростатические функции икры, а также питание личинок.

Установлено, что калкан, в отличие от некоторых видов камбал других морей, совершает нерестовые миграции со стороны моря к берегу [7, 12]. Ареал нереста калкана ограничен. Однако районы распределения его пелагической икры и личинок значительно шире районов нереста. Иногда икра находится над большими глубинами вдали от берегов. Это, очевидно, является результатом сноса ее течением. Выклюнувшиеся из этой икры личинки, достигшие прибрежной зоны к концу метаморфоза, попадают в сероводородную зону и погибают.

Калкан - рыба с весенне-летним икрометанием. Основная масса нерестится с апреля по май, хотя отдельные особи с текучей икрой встречаются до августа. Сроки и продолжительность нереста калкана определяются подготовленностью рыбы и гидрометеорологическими условиями весны. На сроки нереста влияет также размерный и возрастной состав производителей. Начинают нерест более крупные, а следовательно, по возрасту старшие и более подготовленные к нересту особи (рыбы группы остатка). Продолжают и заканчивают нерест рыбы младшего возраста - пополнение. Поскольку в нерестовой популяции калкана "остаток" преобладает над "пополнением" и плодовитость рыб этой груп-

пы наиболее высокая (в нересте участвуют не все возрастные группы), нерест рыб группы остатка бывает по времени продолжительнее и интенсивнее, чем группы пополнения.

Калкан - одна из самых плодовитых рыб семейства камбаловых. Плодовитость колеблется от 3 до 13 млн. икринок. С увеличением размеров и возраста рыбы абсолютная плодовитость ее увеличивается (таблица).

Зависимость плодовитости от длины тела калкана

Плодовитость	Длина тела, см						
	40-45	50	55	60	65	70	75
Число икринок в навеске 1 г	1000	1000	1185	1234	1273	1300	-
Вес гонад, г	330	400	760	835	890	960	-
Средняя плодовитость, млн. экз.	3,3	4,0	9,0	10,4	11,8	13,0	-

Одновременно с ростом плодовитости значительно увеличивается количество мелкой икры (диаметр 0,3-0,4 мм), тогда как у более молодых особей наблюдается преобладание в яичниках овоцитов более крупных размеров.

С увеличением длины и возраста рыб содержание жира в икре снижается [15]. Самое высокое содержание жира наблюдается в икре рыб, длина тела которых 45-55 см (рыбы пополнения). Явный спад отмечается в икре рыб, длина тела которых 55-65 см (рыбы остатка), т.е. чем моложе половозрелая рыба, тем жирнее у нее икра [15]. Не менее важной биологической особенностью калкана является то, что в самом ястыке одноразмерных рыб икра также "разнокачественная". Икра IV-V стадии зрелости, расположенная в верхней части половой железы, ближе к переднему отделу, содержит 18-20% жира [15]. Содержание жира в икре средней части яичника колеблется от 15 до 26%. Самый низкий процент жира (не более 15%) содержится в икре, взятой из задней части ястыка, ближе к анальному отверстию. Следовательно, для инкубации икры калкана в искусственных условиях целесообразно брать икру от производителей указанной выше размерной группы и из определенного участка ястыка.

Существенное значение в размножении калкана имеет тот факт, что колоссальное количество икры созревает неодновременно и выметывается отдельными порциями [15, 23]. При просмотре проб икры из яичников калкана под биноклем обнаружены четыре размерные группы овоцитов. Из них три группы желтковые. Овоциты на разных фазах раз-

вития не обособлены друг от друга, а располагаются по всему ястыку. По нашим данным, в один сезон выметывается три порции икры. Самую многочисленную группу составляют желтковые овоциты диаметром 0,6-0,8 мм (60% общего количества икры). За ней следует вторая группа овоцитов диаметром 0,3-0,4 мм. Самая малочисленная (6%) четвертая группа икры диаметром 0,10-0,12 мм. Овоциты третьей группы образуют резерв, от которого определяются очередные порции икринок.

По данным Калининой [67], калкан выметывает пять-шесть порций икры с интервалами 7-10 дней. Наши наблюдения показали, что одна особь калкана за нерестовый сезон выметывает три порции икры с интервалами 3-5 суток. В условиях эксперимента самка калкана в возрасте 10 лет нерестилась 17 дней. Выметываемая этой рыбой первая порция икры была относительно небольшой - 2-2,5 млн. икринок. Вторая порция была самая многочисленная - до 5-7 млн. икринок. Несколько десятков тысяч икринок выметывалось камбалой в третий, последний раз. При вскрытии после нереста в яичниках этой рыбы находились овоциты, характерные для стадии "выбоя".

У рыб, нерестующих впервые (рыбы пополнения), количество икринок в отдельных порциях значительно меньше, чем у рыб повторного нереста (рыбы остатка). Это объясняется различиями в индивидуальной плодовитости рыб групп остатка и пополнения. Указанная биологическая особенность размножения калкана имеет особо важное значение при инкубировании икры в искусственных условиях. В настоящее время подобные исследования проводит лаборатория физиологии рыб АзЧерНИРО.

В годы наших исследований большая гибель икры калкана (60 - 80%) в естественных условиях отмечалась в основном на I стадии развития. В меньшем количестве гибель ее наблюдается на стадии образования зародышевой полости (II стадия). Редко, и в очень небольшом количестве, мертвая икра в ихтиопланктоне отмечалась на III и IV стадиях развития. Стадии развития икры приняты по [20,31].

Принимая эти данные по выживаемости икры калкана и переводя их на абсолютные величины плодовитости, приходим к выводу, что из 13 млн. икринок, выметываемых отдельной особью, 8-10 млн. гибнет на I стадии развития. Живой икры во II стадии остается 3-5 млн, и не более 1% выживает до стадии выклева эмбриона, что свидетельствует о высокой смертности калкана в эмбриональном периоде.

Результаты наблюдений за размножением калкана в естественных условиях легли в основу экспериментальных исследований по его искусственному воспроизводству. Многолетние наблюдения позволили уста-

новить, что икра камбалы на нерестилищах встречается при температуре воды 9–17°C. Наиболее благоприятна для ее развития температура 11–16°C. Ниже 11° и выше 16°C икры в планктоне меньше. Регулярные наблюдения за температурным режимом в поверхностном слое воды в основных районах нереста показали, что 90% мертвой икры калкана наблюдается в начале и конце нереста, когда температура, как правило, значительно ниже или выше оптимальной. В период массового нереста резкие отклонения от температурного оптимума наблюдаются редко. Следовательно, температурные условия являются одним из существенных факторов, определяющих выживание камбалы на ранних стадиях ее жизни.

Немаловажное значение для выживания пелагической икры многих черноморских рыб имеет состояние водной поверхности [4, 10, 11].

Наши наблюдения также показали, что в штормовую погоду гибель икры камбалы в море увеличивается. Как и у других черноморских рыб, пелагическая икра камбалы при волнении более 4 баллов погибает на этапе дробления. Установлено, что соленость воды в районах нереста изменяется в незначительных пределах (16–18%). Икра калкана развивается в поверхностном слое, насыщенном кислородом.

Длина выклюнувшейся личинки камбалы 2,2 мм. На выживание камбалы в период желточного питания влияют в основном те же факторы, определяющие выживание икры.

В результате проведенных нами многолетних исследований собран большой материал по биологии камбалы в различные периоды жизни. В наших сборах длина личинок составляла 6,5 – 19 мм, мальков 23 – 27 и молоди 60 – 70 мм. Следует отметить, что у молоди калкана, достигшей длины 15–19 мм, прослеживается тенденция к миграциям с больших глубин на меньшие к берегу. У мальков камбалы длиной 25–30 мм метаморфоз почти завершен. Мальки таких размеров обитают преимущественно у дна и во многом связаны с пелагалью. Глаз их еще не полностью переместился и приспособлен к зрительному восприятию как в толще воды, так и у дна. Мальки калкана длиной 25–30 мм были пойманы конусной сетью в июле в районе Гурзуфа при лове рыбы на электросвет у поверхности над глубиной 80 м. Это подтверждает то, что перейдя к донному образу жизни, мальки продолжают периодически подниматься в толщу воды, что, по-видимому, связано с их питанием.

Длина сеголетов камбалы 50–60 мм. Они появляются в августе на глубинах 2–10 м. Калкан в этом возрасте ведет придонный и донный образ жизни и приурочен к биоценозу песка и мелкого ракушечника.

Питание сеголеток камбалы сходно в основном с питанием взрослых рыб. В их рационе появляются рыбы.

Численность поколений камбалы-калкана определяется в значительной степени условиями размножения. Многолетние комплексные исследования АзЧерНИРО по биологии, закономерностей динамики численности этой рыбы позволили выявить факторы, определяющие судьбу отдельных поколений, а также причины, определяющие пополнение стада. Установлено, что важнейшими следует считать условия выживания в раннем возрасте и воздействие промысла на половозрелую часть его стада.

Поскольку высокая смертность у калкана наблюдается в раннем возрасте и особенно в личиночном периоде жизни, то разработка методов по выращиванию молоди этой рыбы из искусственно оплодотворенной икры, и выпуск большого количества подросших личинок в море, могут опосредствовать увеличению численности калкана и в значительной степени возместить убыль запасов в результате промысла.

Впервые сведения по искусственному оплодотворению икры рыб Черного моря находим у Зернова [5]. В дальнейшем опыты по искусственному оплодотворению икры калкана были проведены Потеряевым [19].

Более подробные сведения о развитии калкана содержатся в работах [2, 6]. Первая попытка искусственного оплодотворения и выращивания личинок калкана на Черном море предпринята АзЧерНИРО в 1964 г. [16]. В последующие годы исследования по морскому рыбоводству проводили ВНИРО, ГрузНИРХ, ИнБЖМ.

Результаты этих исследований изложены в работах [3, 16, 17, 22].

Л и т е р а т у р а

1. Дехник Т.В. О суточном ритме размножения и стадийности развития некоторых морских рыб. - Тр. Севастоп. биол. ст. АН СССР, 1959, т. 12.
2. Дехник Т.В. Распределение и численность пелагических икринок и личинок. - В кн.: Размножение и экология массовых рыб Черного моря на ранних стадиях онтогенеза. "Наукова думка", Киев, 1970.
3. Дехник Т.В. Иктиопланктон Черного моря. "Наукова думка", Киев, 1973.
4. Зайцев Ю.П. До питання про вплив хвилювання води на розвиток ікри чорноморської камси. - ДАН УРСР, 1958, № 4.
5. Зернов С.А. К вопросу изучения Черного моря: - "Записки Импер. Акад. Наук", СПб., сер. 8, 1913, т. 32, № 1.
6. Калинина Э.М. Особенности порционного икрометания черноморского калкана. - Вопросы ихтиологии, 1965, вып. 16.
7. Марти Ю.Ю. Материалы к биологии черноморской камбалы-калкана. - Сборник в честь Н.М. Книповича. "Пищепромиздат", М.-Л., 1939.
8. Монастырский Г.Н. Динамика численности промысловых рыб. - Тр. ВНИРО, 1952, т. 21.

9. Новицкий В.П. Вертикальное строение водной толщи и общие черты циркуляции вод Черного моря. - Тр. АзЧерНИРО, 1964, т. 23.
10. Павловская Р.М. Выживание черноморской хамсы на ранних этапах развития. - Тр. АзЧерНИРО, 1955, т. 16.
11. Павловская Р.М. Некоторые вопросы биологии размножения и развития черноморской хамсы в связи с проблемой динамики численности. - Тр. АзЧерНИРО, 1958, т. 17.
12. Попова В.П. Биология и промысел черноморской камбалы-калкана. - Тр. ВНИРО, 1954, т. 28.
13. Попова В.П. Питание камбалы-калкана в Черном море. - Тр. АзЧерНИРО, 1955, т. 16.
14. Попова В.П. Некоторые закономерности динамики численности камбалы-калкана. - Тр. АзЧерНИРО, 1964, т. 24.
15. Попова В.П. Особенности динамики жирности камбал Черного и Азовского морей. - Тр. АзЧерНИРО, 1965, т. 25.
16. Попова В.П. Некоторые закономерности динамики численности камбалы-калкана Черного моря. - Тр. АзЧерНИРО, 1966, т. 24.
17. Попова В.П. Об искусственном разведении черноморской камбалы-калкана. - Рыбное хозяйство, 1969, № 5.
18. Попова В.П. Особенности биологии размножения черноморской камбалы-калкана *Scophthalmus maeoticus maeoticus* (Pallas). - Вопросы ихтиологии, 1972, т. 12, вып. 6.
19. Потеряев Е.А. Об искусственном оплодотворении и развитии камбалы *Botius maeoticus* (калкан) - Тр. Новорос. биол. ст., 1938, т. 1, вып. 6.
20. Расс Т.С. Ступени онтогенеза костистых рыб (Teleostei) - Зоол. журн., 1965, т. 25, вып. 2.
21. Расс Т.С. О периодах жизни и закономерностях развития и роста рыб. - Изв. АН СССР, сер. биол., 1948, № 3.
22. Римш Е.Я., Чертов Л.Ф. Опыты по разведению камбалы-калкана. - В кн.: Сб. науч.-техн. информ. ВНИРО, 1968, № 11.
23. Смирнов Л.И. Порционность икротетания пелагофильных рыб Черного моря. - ДАН СССР, 1950, т. 19, № 1.
24. Ткачева К.С. О методике сбора и полевой обработки материала при изучении характера нереста черноморских костистых рыб. - Тр. АзЧерНИРО, 1969, т. 26.

К ВОПРОСУ О МОРФОФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ
КАМБАЛЫ-КАЛКАНА ЧЕРНОГО МОРЯ НА РАННИХ ЭТАПАХ ОНТОГЕНЕЗА
В СВЯЗИ С ПРОБЛЕМОЙ ЕЕ ИСКУССТВЕННОГО РАЗВЕДЕНИЯ

А.В.Чедурнов, Н.К.Ткаченко, Л.И.Ленисова
(ИНБЮМ АН УССР, Севастополь).

Камбала-калкан *Scophthalmus maeoticus maeoticus* (Pallas) - одна из наиболее ценных промысловых рыб Азово-Черноморского бассейна, однако ее биология на различных этапах онтогенеза изучена недостаточно. Вопросы размножения и роста этого вида рыб рассмотрены в работах [4-8, 11, 14-16, 18, 20, 22 и др.].

В связи с ухудшением условий воспроизводства калкана, необходимо разработать биотехнические мероприятия искусственного выращивания. С этой точки зрения наиболее важным в определении продуктивности стада рыб является ранний период развития, который определяет величину поколения. Урожай молоди определяется количеством

выметанных нерестовой популяцией половых продуктов, их качеством и условиями, в которых протекает развитие. Качество половых продуктов имеет первостепенное значение для обеспечения выживания развивающейся икры, свободного эмбриона и личинки [12]. Если морфологические особенности эмбрионально-личиночного развития камбалы-калкана изучены достаточно [4-6, 14, 20, 22], то вариабильность этих признаков и различные физиологические процессы, происходящие в раннем онтогенезе, не исследованы.

По уровню жировых запасов и скорости жиронакопления можно достаточно точно характеризовать состояние популяции в различные периоды годового цикла [24]. "Степень благополучия" организмов в процессе онтогенеза при различных условиях обитания можно также оценить величиной и характером индивидуальной изменчивости их признаков и свойств [13].

В этой работе рассмотрена изменчивость размеров личинок диаметра жировой капли у эмбрионов и личинок. Определены качественное состояние зрелых гонад, развивающихся эмбрионов и свободно плавающих личинок на этапах эндогенного и смешанного питания путем определения фракционного состава липидов. За восемь суток развития личинки не подкармливались, а существовали только за счет энергетических и пластических веществ, заложенных в желточном мешке и жировой капле. У производителей калкана прослежена динамика жировых запасов в икре в зависимости от времени нереста и порционного икрометания. Предпринята попытка определить уровень содержания энергетических веществ (липидов) в неоплодотворенной икре, а также у эмбрионов и выклюнувшихся личинок и сопоставить эти данные с выживаемостью потомства к моменту перехода на экзогенное питание. Анализ изменений жировых запасов в зрелой икре позволяет сделать предварительные выводы о подборе нерестовых самок для рыбоводных целей с учетом сроков нереста.

Для получения проб зрелой икры и инкубации ее в искусственных условиях производители камбалы-калкана отлавливались в прибрежном районе Севастополя 5 и 11 мая 1972 г. Непосредственно в полевых условиях оплодотворялась икра молоками самцов. Подробно методика получения массового количества искусственно оплодотворенной икры описана В.Н.Ивановым в статье настоящего сборника. Живая икра доставлялась в экспериментальные аквариумы, где температура воды при инкубации икры и выращивания личинок увеличивалась от 13 до 16°C, что соответствовало изменениям ее в естественной среде. Было проведено две серии опытов - в одном случае икру брали от самки размером

38, во втором - 40 см. На протяжении эмбрионально-личиночного развития камбалы-калкана в искусственных условиях брались пробы на морфологический и биохимический анализ. Размеры предличинок и разновозрастных личинок (1, 2, 3, 7- и 8-суточных) определяли окуляр-микрометром. Также измеряли диаметр жировой капли у эмбрионов на У1 этапе развития, предличинок и личинок того же возраста. Данные обрабатывались общественными статистическими методами. Для характеристики величины изменчивости признаков использовали коэффициент вариации (С).

Липиды, содержащиеся в неоплодотворенной икре, эмбрионах и личинках, экстрагировались по Фолчу [26], а затем разделялись на пять фракций (фосфолипиды, холестерин, свободные жирные кислоты, триглицериды, эфиры стеринов) методом тонкослойной хроматографии [19]. Количественное определение фракций производили колориметрическим способом на ФЭК-56. Фосфолипиды находили по методике Фиске-Саббероу, жирные кислоты - по Блору [1], холестерин и эфиры стеринов - реакцией Либерман-Бухарда, триглицериды - по Штерн и Шапиро [19]. Содержание отдельных фракций липидов (в мг% к сырому веществу) анализировали в навесках по 400 экз. живых объектов. Для контроля параллельно брали на анализ пробы, содержащие по 800 экз. организмов. При сравнении данных существенных расхождений по количественному и качественному составу липидов не обнаружено. Тем не менее полученные результаты по фракционному составу жиров икры и потомства на ранних этапах онтогенеза следует рассматривать как предварительные.

- Наряду с этим в 1971 г., в районе Карадага, собран материал (20 проб) по изменению количества жира в гонадах при созревании в нересте. Икру брали у производителей размером 40-50 см, содержание жира определяли в аппаратах Сокслета.

Одним из важнейших факторов в жизнеобеспечении поколения рыб на ранних этапах развития, наряду с внешними условиями среды, является обеспеченность половых продуктов энергетическими запасами и главным образом жирами [2, 3, 9 и др.]. Динамика содержания жира в гонадах отражает физиологическое состояние производителей и колебания условий обитания в период созревания и нереста.

Специальных работ, показывающих изменения качественного состояния икры в процессе созревания и порционного икротечения камбалы-калкана Черного моря, в литературе нет. Отмечено, что жирность гонад черноморского калкана колеблется от 2% осенью до 28% весной. Увеличение содержания жира обусловлено созре-

ванием овоцитов [15]. По нашим данным (рис. 1) от II к V стадии зрелости гонад количество жира возрастает от 2,5 до 16%. При повторности икротетания наблюдается уменьшение жира в икре. Дозревание порций, очевидно, связано с большими энергетическими затратами, что ведет к уменьшению жировых запасов икры в каждой последующей порции. Это обстоятельство, по-видимому, обуславливает резкое падение общего содержания жира в икре самок к концу нереста (рис. 2). У камбалы-калкана в разгар нереста (первая половина мая) икра более обеспечена энергетическими веществами, чем к его окончанию (первая половина июня). Количество жира в овоцитах V стадии зрелости за этот период уменьшается почти в десять раз. Для искусственного рыборазведения икру следует отбирать у производителей в начале или середине нерестового периода.

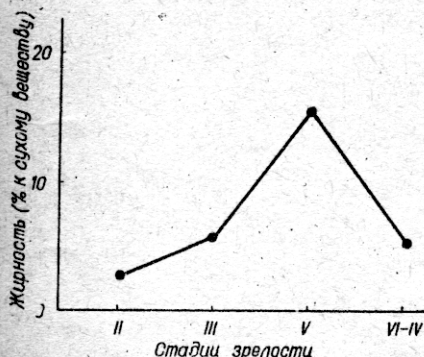


Рис. 1. Содержание жира в гонадах разных стадий зрелости.

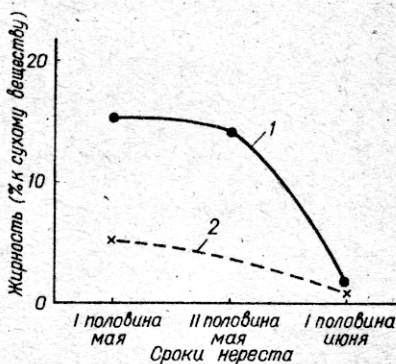


Рис. 2. Содержание жира в гонадах в различные сроки нереста:

1 — общее содержание жира в гонадах самок; 2 — количество жира в овоцитах V стадии зрелости.

Зрелые овоциты калкана по общему содержанию жировых запасов и отдельных липидных фракций характеризуются невысоким содержанием энергетических компонентов. Количество жира в икре не превышает 1,5% (минимальное значение 0,01%). В ограниченных концентрациях обнаруживаются и отдельные фракции липидов. Преобладают в процентном отношении триглицериды (85%), эфиры холестерина и свободные жирные кислоты соответственно составляют 10,6 и 4,4%, в следах определяются фосфолипиды и свободный холестерин. Рассматривая вопрос о значении жировых включений в икре, Крыжановский [9] относит камбалообразных к группе рыб, содержащих наименьшее количество

жира в овощах по сравнению с другими рыбами (сельдевые, карповые, лососевые, осетровые, акулы). Учитывая эти данные, можно предположить, что у камбалообразных, имеющих пелагическую икру с малым запасом энергетических веществ, необходимый уровень воспроизводства обеспечивается высокой индивидуальной плодовитостью самок. В частности, она достигает у камбалы-калкана до 13 млн.шт. икринок при выживаемости поколения менее 1% от выметанных половых продуктов. По данным Шатуновского [23], балтийская речная камбала, отличающаяся большей относительной плодовитостью и более мелкой икрой, характеризуется меньшей жирностью гонад. Поэтому нельзя согласиться с мнением Поповой [15] о том, что высокое содержание жира в гонадах черноморского калкана необходимо для созревания большого количества икры, а также для запаса питательного вещества у личинок на ранних стадиях развития.

Икра, взятая у самок для оплодотворения и дальнейшего искусственного инкубирования, характеризовалась также триглицеридами (в небольших количествах) и следами фосфолипидов. С развитием икры у эмбрионов на VI этапе развития преобладают фосфолипиды, тогда как остальные фракции, и прежде всего триглицериды, имеются в очень малых количествах. Вероятно, синтез фосфолипидов происходит за счет триглицеридов.

На этапах эндогенного и смешанного питания в теле личинок обнаружены незначительные количества фосфолипидов и свободного холестерина, причем к моменту гибели личинок (на 7 - 8-е сутки) наблюдается некоторое уменьшение первой фракции и накопление второй. О преимущественном распаде фосфатидов, объединенных в липопротеидный комплекс в процессе раннего индивидуального развития форели, указывает Андо [25].

Низкое содержание липидов в развивающейся икре и личинках на этапе эндогенно-экзогенного питания (3-7 суток) свидетельствует о незначительной энергетической обеспеченности потомства камбалы-калкана в раннем онтогенезе. К моменту перехода личинок на внешнее питание еще сохраняется жировая капля диаметром 0,1 мм, в которой обнаруживается холестерин. Это, на наш взгляд, находит биохимическое объяснение: при недостатке полиненасыщенных жирных кислот, которые составляют основу триглицеридов, отсутствующих практически у эмбрионов и личинок калкана, холестерин дает с насыщенными жирными кислотами сложные эфиры, очень трудно окисляемые при обмене веществ [10, 21], которые и составляют, по-видимому, основу остаточной жировой капли.

Это свидетельствует о том, что к моменту перехода личинок калкана на этап смешанного питания необходима не только значительная концентрация пищевых организмов, но и внесение корма, содержащего в достаточном количестве полиненасыщенные жирные кислоты. Эти кислоты поступают в организм только с пищей. Они необходимы при образовании клеточных мембран, оболочки нервов, соединительной ткани [10, 22]. "Уровень благополучия" организмов на ранних этапах развития может также характеризоваться индивидуальной изменчивостью морфологических и биологических признаков. За 8 суток развития камбала-калкан

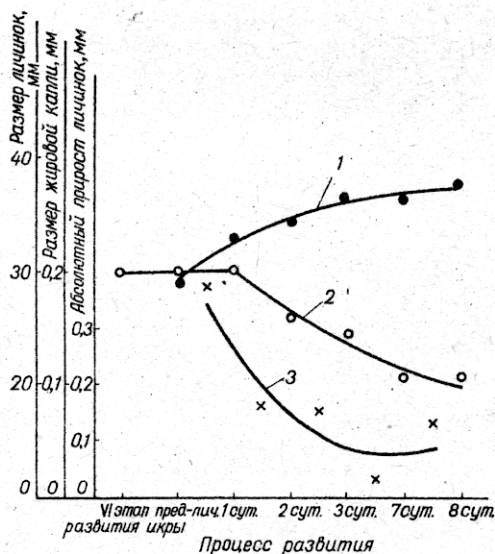


Рис. 3. Диаметр жировой капли и рост личинок в процессе раннего развития:
1 — размер личинок; 2 — диаметр жировой капли; 3 — абсолютный прирост личинок.

проходит предличиночный период развития (3 суток) и личиночный период на этапе смешанного питания (от 3 до 7 суток). На 8-е сутки личинки переходят на внешнее питание [21]. За это время свободный эмбрион (предличинка) длиной 2,9 мм вырастает до личинки 3,8 мм (рис. 3). Некоторая стабилизация в росте отмечается после того, как личинки достигнут трехсуточного возраста. Очевидно, эндогенное

питание в искусственных условиях обеспечивает наиболее интенсивный

рост в предличиночный период, когда максимальный прирост (0,37 мм) наблюдается в первые сутки активного образа жизни. В дальнейшем абсолютные приросты длины тела уменьшаются и становятся минимальными после достижения личинками этапа смешанного питания. При отсутствии необходимой пищи личинки перестают расти. К этому времени (на 6-е сутки) наблюдается полная резорбция желточного мешка. Известно, что желточный мешок является энергетическим источником пластического обмена - роста и дифференцировки органов.

Несколько специфические особенности наблюдаются в тратах жировой капли желточного мешка. Диаметр жировой капли (0,2 мм) одинаков у эмбрионов, предличинок и односуточных личинок (см. рис.3). На 2-е сутки развития жировая капля уменьшается в размере. К концу этапа смешанного питания она достигает 0,1 мм, в дальнейшем ее размер не изменяется, но при этом наблюдается, что большинство личинок опускается на дно инкубатора вследствие увеличения удельного веса тела. Через некоторое время происходит массовая гибель. Изменение величины жировой капли можно объяснить мобилизацией ее жировых отложений на энергетические затраты, связанные с увеличением подвижности личинок на этапе эндогенно-экзогенного питания. Как отмечалось ранее, "остаточная" жировая капля по своему биохимическому составу, очевидно, не может быть источником энергии.

Полученные данные о сравнительно незначительных резервах эндогенной пищи и быстром темпе их утилизации на первых этапах онтогенеза показывают, что личинки камбалы-калканы не способны к длительному голоданию и затратам энергии на поиск кормовых организмов.

Как видно из приведенных данных (таблица), на этапах эндогенного и смешанного питания с развитием организма наблюдается увеличение (почти в 20 раз) величины изменчивости диаметра жировой капли. Можно предположить, что это является отражением ухудшения обеспеченности развивающихся организмов энергетическими запасами (жирами). Особенно возрастает амплитуда вариаций этого признака ко времени наступления этапа экзогенного питания. Размеры личинок при определенном размахе колебаний не меняют своей величины изменчивости на протяжении всего исследуемого периода жизни. Эти различия в характере изменчивости рассматриваемых двух признаков можно объяснить различной степенью лабильности белкового и жирового обмена.

В данной работе рассмотрена незначительная часть проблемы индикации состояния половых продуктов в период созревания и порционного икрометания, а также потомства на ранних этапах онтогенеза камбалы-калканы Черного моря. Относительно невысокое содержание жира

Изменчивость длины тела и диаметра жировой
капли личинок в раннем онтогенезе камбалы-калкана

Развитие в раннем онто- генезе	Длина личинок, мм				Диаметр жировой капли, мм			
	$M \pm m$	σ	$\bar{L}$	n	$M \pm m$	σ	$\bar{L}$	n
У1 этап эмбри- онального раз- вития	-	-	-	-	0,2	-	-	28
Предличинка	$2,89 \pm 0,015$	0,08	2,78	29	0,2	-	-	22
Односуточная личинка	$3,27 \pm 0,014$	0,06	1,84	25	0,2	-	-	25
Двухсуточная	$3,41 \pm 0,007$	0,08	2,35	104	$0,160 \pm 0,0008$	0,0009	5,64	106
Трехсуточная	$3,60 \pm 0,08$	0,08	2,31	99	$0,140 \pm 0,0005$	0,0065	4,51	104
Семисуточная	$3,59 \pm 0,01$	0,09	2,68	44	$0,104 \pm 0,002$	0,0156	14,4	44
Восьмисуточная личинка	$3,76 \pm 0,01$	0,09	2,40	27	$0,100 \pm 0,003$	0,02	20,0	27

в зрелой икре находит отражение в бедном количественном и качественном составе липидов у эмбрионов, предличинок и личинок до перехода на экзогенное питание. Основные энергетические запасы при отсутствии внешней пищи расходуются до минимума уже к середине этапа смешанного питания, поэтому в этот период необходима интенсивная подкормка личинок. Вследствие незначительных резервов энергетических веществ и быстрых темпов их утилизации в процессе раннего развития, личинки камбалы-калкана, выращенные в искусственных условиях, не способны к длительному голоданию с момента перехода на экзогенное питание. Выживаемость, характеризующая биологическое состояние популяции на всех стадиях развития, в значительной степени определяется процессами жирового обмена.

Л и т е р а т у р а

1. Асатиани В.С. Биохимический анализ. Ч.1. Тбилиси, Груз-медиздат, 1953.
2. Афонич Р.В., Гордиенко О.Л., Солдатова Е.В. Рыбоводная оценка производителей осетра разного веса и возраста по икре, личинкам и ранней молоди. - Труды ВНИРО, 1971, т.81.
3. Баденко Л.В., Андросюк Л.Я. О влиянии физиологического состояния самок белуги на качество икры и жизнестойкость личинок. - Труды ЦНИОРХ, 1971, т. 3.
4. Водяницкий В.А., Казанова И.И. Определитель пелагических икринок и личинок рыб Черного моря. - Труды ВНИРО, 1954, т.28.
5. Дехник Т.В., Павловская Р.М. Распределение икры и личинок рыб Черного моря. - Труды АзЧерНИРО, 1950, т. 14.
6. Дехник Т.В. Ихтиопланктон Черного моря. - Автореф. докт. дис. М., 1970.
7. Зернов С.А. К вопросу об изучении жизни Черного моря. Спб., 1913.
8. Калинин Э.М. Некоторые черты онтогенеза и морфологические особенности черноморского калкана. - Автореф. канд. дис. Калининград, 1966.
9. Крыжановский С.Г. О значении жировых включений в яйцах рыб. Зоол. журн., 1960, т. 39, вып. I.
10. Лейтис С.М. Патофизиология жирового обмена. Медгиз, М., 1964.
11. Марти Ю.Ю. Материалы к биологии черноморской камбалы-калкана. - Сб. в честь Н.М. Книповича. 1939.
12. Никольский Г.В. Теория динамики стада рыб. "Наука", М., 1965.
13. Поляков Г.Д. Приспособительная взаимосвязь изменчивости популяций рыб с условиями питания. - Труды ИЖ, 1962, вып. 42.
14. Попова В.П. Некоторые закономерности динамики численности камбалы-калкана. - Труды АзЧерНИРО, 1964, т.26.
15. Попова В.П. Особенности динамики жирности камбал Черного и Азовского морей. - Труды АзЧерНИРО, 1969а, т.26.
16. Попова В.П. Об искусственном разведении камбалы-калкана. - Рыбное хоз-во, 1969б, № 5.
17. Попова В.П. Особенности биологии размножения черноморской камбалы-калкан (наблюдения в море). - Вопросы ихтиол., 1972, т.12, вып. 6.
18. Потеряев Е.А. Об искусственном оплодотворении и развитии камбалы-калкан. - Труды Новорос.биол.ст., 1938, т.1, вып. 6.

19. Прохорова Н.И., Тушикова З.Н. Большой практикум по углеводному и липидному обмену. Изд-во ЛГУ, Л., 1965.
20. Римш Е.А., Чертов Л.Ф. Опыты по разведению камбалы-калкана. - Сб. научно-техн. инф. ВНИРО, 1963, № 11.
21. Черкасова Л.С., Мержинский М.Ф. Обмен жиров и липидов. Изд. МВССО БССР, Минск, 1964.
22. Чертов Л.Ф., Балквадзе Л.Д. Морфо-экологические закономерности развития калкана. - Труды ВНИРО, 1970, т. 74.
23. Шатуновский М.И. Динамика жирности и обводненности мяса и гонад балтийской речной камбалы и ее связь с особенностями созревания гонад. - Вопросы ихтиол., 1963, т. 3, вып. 4, с. 29.
24. Шульман Г.Е. Физиолого-биохимические особенности годовых циклов рыб. "Пищевая промышленность", М., 1972.
25. Ando K. Biochemical studies on the lipids of Cultured fishes. - J. of the Tokyo University of Fisheries, 1968, vol. 54, N2.
26. Polch J. et al. Preparation of lipid extracts from brain tissue. - J. Fish Res. Board of Canada, 1951, vol. 23, N 7.

ПОЛУЧЕНИЕ ИКРЫ КАМБАЛЫ-КАЛКАНА ДЛЯ ИНКУБАЦИИ
В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ. ОПЫТ МАССОВОЙ ИНКУБАЦИИ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО МАТЕРИАЛА
В.Н.Иванов

(ИНБЮМ АН УССР, Севастополь)

Икру камбалы-калкана получали от рыб, выловленных вблизи Севастополя в районе моря от м. Херсонес до м. Лукулл. Промысловый лов калкана в этом районе начинается с марта. Сети устанавливают на глубине 70-100 м, в апреле переносят на 50-70 м, в мае - на 30-50, в июне глубина массового лова камбалы-калкана еще меньше. Наибольшее количество рыб вылавливается во второй половине апреля - первой половине мая. В марте-апреле сети поднимаются один раз в 7-10 дней. В мае, когда вода прогревается до 10-12°C, сети поднимают два раза в неделю. Если камбалу отлавливают для получения икры, сети рациональнее поднимать через 2-3 дня, так как камбала-калкан чаще попадает в сети ночью.

Текущие самки начинают встречаться в уловах во второй половине апреля. Наиболее интенсивный нерест происходит, по-видимому, в мае. Количество самцов в уловах в 2-3 раза выше, чем самок. Характерно, что вместе с текущей самкой встречаются до 3-5 самцов обычно со зрелыми гонадами. В апреле количество самок со зрелыми половыми продуктами не превышает 10-20% от общего количества отлавливаемых. В середине мая все самки могут быть текущими. Успешное получение икры для инкубации и экспериментов зависит прежде всего от удачного отлова самок, так как из большого количества самцов всегда можно отобрать зрелые экземпляры.

Подробно экологические особенности размножения камбалы-калкана, морфология икринок и эмбриогенез описаны в работах [1-3 и др.]. Икра у зрелых самок обычно течет свободно, из экземпляров длиной 40-50 см можно получить 300-500 мл икры. Пригодна для работы и икра, полученная при легком надавливании на область истыков. Незрелая икра выдавливается с трудом и, хотя бывает прозрачная, часто деформирована. Поскольку сети с камбалой поднимают один-два раза в неделю, икра у выловленных самок может оказаться перезрелой. В этом случае она приобретает белый цвет и легко отличается от нормальной. Единичные белые икринки не могут служить показателем плохого качества всей икры. По-видимому, зрелые самки камбалы-калкана могут находиться 1-2 суток в сетях, и икра за это время не теряет способности к оплодотворению и развитию. Нормальная икра, собранная в чашку Петри, имеет форму, близкую к шаровидной, прозрачна. При помещении в воду икринки быстро обводняются, приобретают форму шара и плавучесть. Процесс подъема сетей весьма трудоемок, поэтому нам приходилось проводить искусственно оплодотворение с 7 до 15 ч.

За многолетнюю практику получения нормально развивающейся икры камбалы-калкана нам не встречались текущие самцы. Поэтому оплодотворение производили всегда молоками семенников, извлеченных из рыб. На брюшной стороне камбалы делается разрез 5-10 см и извлекаются семенники с семипроводами. Попавшую на гонады кровь необходимо смыть морской водой. В чистую чашку Петри оттеживаете икра, 5-10 капель молока из зрелых семенников достаточно для оплодотворения 100-150 мл икры. Если молоки не вытекают свободно, семенники следует надрезать, внутренний, более зрелый слой, снять тупой стороной ножа и перенести в чашку Петри с икрой. Можно также порезать семенники на мелкие кусочки и подавать их рукой. Выдавленные молоки смываются 5-10 мл морской воды. Извлеченные из рыб гонады можно сохранить без воды 30-60 мин. Икра теряет способность к оплодотворению, по-видимому, через 15-20 мин.

Для нормального оплодотворения икру, перемешанную с молоками, следует подержать без воды 3-5 мин, а затем разбавить небольшим количеством воды. Используя описанную методику, можно добиться 80-90% оплодотворения. Через 10-15 мин всю массу икры можно перенести в ведро с чистой морской водой. Остатки семенников, молоко и незрелая, неоплодотворенная икра оседут на дно, а икринки, плавающие на поверхности, переносятся в чистый сосуд с морской водой для доставки в лабораторию. Обычно икру транспортируют в термосе, где на 8-10 л воды приходится до 1 млн. икринок. Через 1,5-2 ч, отбирая воду со дна резиновой трубкой, полезно сцедить 5-7 л воды вместе с

осевшими икринками и добавить свежей воды. Отход икры в первые часы развития во многом зависит от условий транспортировки. Волнение моря, вибрация от работающего двигателя, перегрев — все это неблагоприятно сказывается на выживаемости эмбрионов. Необходимо через 1,5–2 ч отцеживать воду со дна и добавлять в сосуд с икринками свежую воду.

Для инкубации икринок в лабораторных условиях мы используем воду, отобранную в 5–10 милях от берега или на месте вылова рыб. Воду фильтруем через бумажный фильтр. Инкубировать икринки можно в различных аквариумах, химических стаканах, кристаллизаторах, чашках Петри, вегетационных сосудах и т.д.

Перед рассаживанием икры по аквариумам необходимо убедиться в том, что разность температур воды в термосе и, например, кристаллизаторах не превышает 0,5–1°C. При перенесении в более теплую воду или с меньшей соленостью икринки опускаются на дно, где продолжают развиваться, но отход при этом весьма велик. Оптимальное количество икры на 1 л воды 1–3 тыс.шт. Следует отметить, что цифра эта весьма ориентировочная, так как имеет значение не только количество воды, но и величина водной поверхности.

Икру камбалы-калкана можно с успехом инкубировать без протока морской воды. Необходимо, однако, соблюдать максимальную чистоту в работе: тщательно мыть посуду, защищать аквариумы от попадания пыли, периодически отбирать погибшие икринки. При температуре 12–16°C эмбриональное развитие камбалы-калкана завершается за 4–6 суток.

Наибольшая гибель наблюдается в период выклева предличинок. При оптимальных условиях инкубации можно достигнуть 60–70% выхода личинок (от количества икры, отобранной для инкубации). Растянутый (1,5–2 суток) выклев — признак невысокой жизнеспособности предличинок.

После окончания массового выклева необходимо сменить на 2/3 воду, отцедив со дна погибших предличинок и оболочки икринок. Перенос икры на последних стадиях развития из одного аквариума в другой и пересаживание предличинок в первые 2–3 суток неблагоприятно сказывается на их выживаемости. Обычно в первые 3–5 суток гибель предличинок незначительна. Но затем начинает, по-видимому, оказываться голодание и через 7–10 суток все предличинки гибнут.

Благодаря значительной плодовитости камбалы-калкана в настоящее время можно получать в искусственных условиях 10–100 млн. предличинок за сезон. Для этого достаточно провести искусственное оплодотворение икры, полученной от 20–200 производителей. Количество

нормально развивающейся икры, которое можно получать на местах промысла камбалы-калкана, столь огромно, что необходимо, по нашему мнению, обсудить возможность увеличения численности камбалы-калкана путем выпуска искусственно оплодотворенной икры непосредственно в районе отлова рыб. Для объективной оценки этого предложения необходимо, по-видимому, провести многочисленные полевые наблюдения и определить:

- 1) зависимость количества икринок в иктиопланктонных ловах от численности камбалы-калкана в изучаемом районе;
- 2) процент оплодотворения икры камбалы-калкана в природных условиях;
- 3) количество икринок на различных стадиях развития, предличинок и личинок в иктиопланктонных ловах в изучаемом районе, что позволит оценить элиминацию развивающейся икры, предличинок и личинок.

Возможно, что эти данные в комплексе с экспериментальными будут полезны при выборе наиболее экономического пути увеличения численности камбалы-калкана в Черном море.

Л и т е р а т у р а

1. Лехник Т.В. Иктиопланктон Черного моря. "Наукова думка", К., 1973
2. Калинина Э.М. Некоторые черты онтогенеза и морфологические особенности черноморского калкана. Автореф. канд. дис. Севастополь, 1966.
3. Чертов Л.Ф., Балквадзе Л.Д. Морфо-экологические закономерности развития калкана (*Bothus taeoticus* P.). - Тр. ВНИРО, 1970, т. 74.

МЕТОДИКА ПОЛУЧЕНИЯ, ИНКУБАЦИИ ИКРЫ И ПОДРАЩИВАНИЯ ЛИЧИНОК КАМБАЛЫ-КАЛКАНА В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

В.П. Попова, В.Ф. Романенко
(АзЧерНИРО, Керчь)

Биологически обоснованные меры по регулированию промысла камбалы-калкана в Черном море обеспечивают в настоящее время ежегодные уловы ее в пределах 7 тыс. ц. Несмотря на положительное воздействие рекомендованных АзЧерНИРО мероприятий по регулированию промысла на качественный состав промыслового стада калкана, за последнее десятилетие не произошло заметного увеличения запасов этой рыбы. Поэтому необходимо искусственно воспроизводить эти запасы.

Начиная с 1964 г. АзЧерНИРО систематически ставил вопрос о проведении исследований по морскому рыбоводству. С 1968 г. исследования в этом направлении стали плановыми.

В этой статье приведены результаты исследований АзЧерНИРО по

разработке биотехники получения, транспортировки, искусственного осеменения, инкубирования икры калкана и подращивания личинок. Экспериментальные работы по инкубированию икры и получению ранних личинок выполнялись в аквариальной АзЧерНИРО и на экспериментальной базе пос. Заветное. Методика получения и искусственного осеменения икры отработывалась в море на судах. Исследования выполняли в такой последовательности:

1) наблюдения в море за условиями естественного нереста и распределением икры и личинок;

2) отлов и отбор производителей, контроль за состоянием зрелости гонад;

3) отцеживание зрелой икры и определение ее количества;

4) вскрытие самцов и отпрепарирование семенников;

5) осеменение икры;

6) отбор качественной икры и размещение ее в транспортируемые емкости;

7) транспортировка оплодотворенной икры;

8) инкубирование икры, подращивание ранних личинок и наблюдения за условиями их развития в аппаратах Вейса;

9) отбор нормально развивающихся личинок для дальнейшего подращивания.

Существует два метода сбора и инкубации икры морских рыб (американский и европейский). Первый заключается в том, что оплодотворенная икра собирается в районах естественного нереста и затем доинкубируется на рыбзаводах. Европейцы поступают иначе. При рыбоводных заводах имеются нерестовые бассейны, в которых проходит нерест производителей. Затем оплодотворенную икру собирают и доинкубируют на заводах. По существу, методы аналогичны, так как работы по инкубации проводятся с икрой естественного нереста.

По нашему методу получение икры от производителей и ее искусственное осеменение производится на судах. Для дальнейшего доинкубирования икра транспортируется на базу. Этот метод оказался наиболее эффективным для получения икры в необходимых количествах для инкубации.

Сбор и оплодотворение зрелой икры калкана производили в период массового нереста, когда до 80-90% производителей из уловов донного трала имели зрелые половые продукты. Коэффициент зрелости достигает к этому времени максимума: у самок 10,5-17%, у самцов 0,6-0,9%. Икра берется только у живых самок. Попытка использовать спящих самок не дала положительных результатов. Готовность икры к опло-

дотворению определяли по следующим признакам: доброкачественная икра прозрачная, имеет правильную шаровидную форму; ястык заполняет почти всю брюшную полость; икра легко вытекает из ястыка.

При разработке способа осеменения мы учитывали особенности строения икры и спермы — неклеякость, скорость утраты оплодотворяющей способности спермы и эффективность оплодотворяемости яиц. Поскольку ранее установлено, что активность спермы калкана в овариальной жидкости на первом этапе значительно выше, чем в воде, нами применялся "сухой" способ оплодотворения, которое начиналось с тщательного перемешивания не увлажненных водой икры и спермы. При этом осуществлялся первый этап осеменения икры калкана — проникновение спермия через микропиле в цитоплазму.

Второй этап — блокирование полиспермии. Эффективность механизма блокирования достигалась лишь при добавлении некоторого количества воды. Работы проводили в строгой последовательности и начинали с отцеживания икры.

Для взятия икры самку придерживают руками в таком положении, чтобы генитальное отверстие находилось над краем посуды (использовались простоквашницы), в которую собирают икру. После свободного выхода струей первой порции зрелой икры, слегка нажимая на стенки брюшка пальцами рук, отцеживают остальную, освобождая от икры сначала переднюю часть брюшной полости и постепенно сгоняя ее из задней части тела. Отцеживание прекращают тогда, когда приостанавливается выделение свободных икринок и появляются капли крови.

Для получения спермы делается надрез брюшной полости и осторожно извлекаются семенники. По внешнему виду хорошая сперма отличается умеренной густотой и розоватой окраской. Использовались семенники весом от 3 до 9 г. При оплодотворении икры семенники очень тщательно отжимали, чтобы молоки стекали в емкость с икрой, а остаточную часть семенников оставляли на некоторое время в оплодотворяемой массе икры. Все это тщательно перемешивали 3–4 мин круговым покачиванием емкости. В результате сперма распределялась равномерно между икринками. Затем добавляли 0,3–0,5 л воды и выдерживали икру со спермой еще 5–6 мин. Оценка результатов пяти опытов оплодотворения икры камбалы-калкана в 1972 г. при различных качественных сочетаниях спермы убеждает в преимуществе полиспермии перед моноспермией. Лучшие показатели осеменения икры получены при использовании половых продуктов двух самцов.

После окончания процесса оплодотворения икру отмывают от остатков спермы и полостной жидкости, которые попадают в сосуд при взятии

икры. Для этого осторожно по краю сосуда приливают чистую воду, икру перемешивают. После короткого отстоя воду сливают. Отмывают икру обычно за три-четыре раза, пока вода не становится чистой.

При искусственном разведении проходных и полупроходных рыб применяется объемный метод определения количества икры. Для икры морских рыб, тем более с пелагической икрой, такой метод не разработан. Одной из задач биотехники морского рыбоводства должно стать составление рабочей таблицы количества икры в единице объема. Это позволит быстро и с достаточной точностью определять общее количество полученной икры. Мы применяли следующий метод: мерным стаканом емкостью 0,1 л измеряли объем всей массы икры. Затем икру просчитывали. Объемный метод определения количества икры калкана является ориентировочным, так как диаметр икринок различен.

Процент оплодотворения икры в полевых условиях и на судах определять крайне затруднительно. Эту работу проводили в условиях аквариальной. Для определения процента оплодотворения икры калкана наиболее удобным является период развития от стадии 8-16 бластомеров до морулы. У неоплодотворенных яиц бластодиск в это время не изменяется. Подсчет оплодотворенных икринок проводится на живом материале, так как фиксация икринок вызывает помутнение протоплазмы, что затрудняет наблюдение за бластодиском.

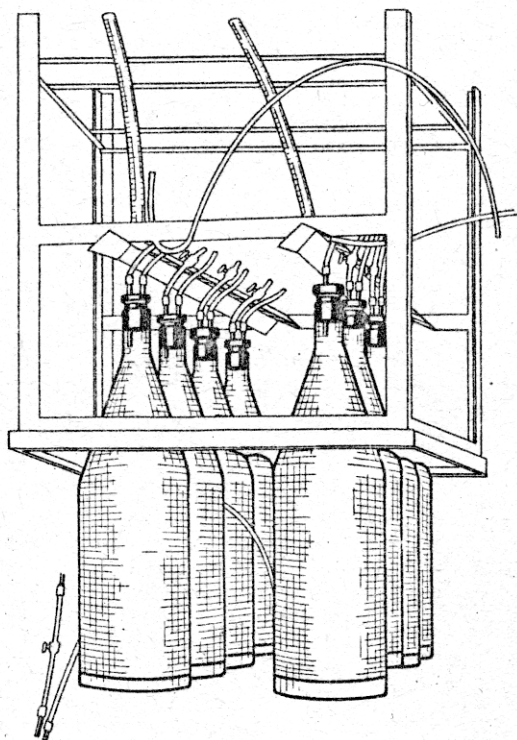
Особое внимание уделялось разработке метода транспортировки икры. Оплодотворенную икру транспортировали в инкубационных аппаратах на экспедиционных судах. Размещали ее в стеклянных темных банках емкостью 0,5-1 л. Банки помещали в два ряда в деревянный контейнер, установленный на открытом, но защищенном от ветра месте. Обязательным условием транспортировки икры калкана должно быть устранение прямого попадания солнечных лучей. Доступ воздуха к развивающейся икре должен быть свободным. Воду в банках меняют через 3-4 ч резиновой трубкой, конец которой обвязан марлей, чтобы исключить утечку икры. Развивающуюся икру транспортировали 8-10 ч. Развитие икры постоянно контролировалось.

Важный момент обработки методики транспортировки икры камбалы-калкана - выявление наиболее благоприятной плотности икры в единице объема. Нами проведены опыты по определению оптимальной плотности при транспортировке. Плотность икры в эксперименте, выполненном в 1972 г., следующая: 2 опыта по 25450 икринок на 1 л, 5 по 50900 и 3 опыта по 76350 икринок на 1 л.

Неплохие результаты получены при транспортировке икры в стек-

лянных затемненных банках с плотностью размещения до 50 тыс. и температуре 12 – 15°C. Отход икры за период транспортировки не превышал 3%. Сильное волнение моря, недостаточная отмывка икры, нерегулярная смена воды, попадание прямых солнечных лучей приводят к резкому увеличению гибели икры (до 80-90%).

После доставки икру размещали в инкубационные аппараты и другие емкости. В последние годы инкубацию икры калкана и последующее выращивание личинок осуществляли в 8-литровых аппаратах Вейса и 10-литровых аквариумах. Особое внимание (рисунок) обращали на очистку водоподающей системы и на обеспечение правильного поступления воды в аппараты.



Для инкубации икры используется вода соленостью 17-18‰. Важным фактором воздействия на развивающуюся икру и выклюнувшихся эмбрионов является температура воды. Оптимальные условия создаются при температуре 13-14°C. Необходимо строго контролировать содержание кислорода. Оно должно быть в пределах 80-90% насыщения. Обязательное условие инкубации - удаление погибших икринок и личинок. В наших опытах воду меняли два раза в сутки частично. В аппаратах с более высокой плотностью икры воду меняли чаще. В аквариумах, в которых вода менялась нерегулярно, отмечен повышенный (25-30%) отход личинок и появление личинок уродливых форм.

Для повышения содержания кислорода применяли искусственную подачу через аэраторы-распылители. Воздух следует подавать регулярно по 10-15 мин с интервалами через 2-3 ч. Погибшую икру и личинки удаляли путем частичного сброса воды через выходное отверстие (внизу) инкубационного аппарата. Погибшая икра, сконцентрированная в горловине аппарата, током воды выносится в специальную емкость, после чего фиксируется формалином для дальнейшей качественной и количественной обработки. Одновременно берется проба (100 экз.) живой икры для установления этапов развития.

Все данные о смене воды, гидрохимическом режиме, отходе икры и личинок, а также дата загрузки икры в аппараты на инкубацию, заносятся в специальный журнал наблюдений. При размещении аппаратов с икрой световой поток должен быть рассеянным. Предварительную норму плотности посадки икры в аппараты Вейса следует рекомендовать не более 5 тыс. экз.

После успешной инкубации икры проведены опыты по подрашиванию личинок. Использованы те же аппараты Вейса и круглые аквариумы, в которых инкубировалась икра. Все условия выращивания (содержание кислорода, соленость, температура, свет и др.) были одинаковыми. Высокий процент выхода (до 80%) личинок в условиях наших опытов получали при плотности икры до 20 тыс. Отход личинок калкана в период рассасывания желточного мешка с 2- до 7-дневного возраста в опытах не превышал 2-3%. С возрастом он увеличивался и с переходом на активное питание достиг 80-90%.

В 1972 г. пытались подрашивать личинки калкана, перешедшие на активное питание. Для этого в районе Керченского пролива у береговой зоны отлавливались мелкие формы зоопланктона - коловратки и копеподы. После тщательного просеивания кормовые организмы вносили в аквариумы с личинками. Установлено, что личинки положительно реагируют на внесение живых кормов - изменяется характер движения, от-

мечено нацеливание, скачки и импульсные движения. При просмотре личинок под микроскопом в пищеварительном тракте были обнаружены фрагменты и мелкие формы кормового зоопланктона. Попытка кормления личинок эмульгированным кормом из олигохет не дала положительного результата.

Предельный возраст личинок калкана, выросших в искусственных условиях, достиг 12 суток. Существенными недостатками при инкубировании икры и подрачивании личинок калкана в аппаратах Вейса являются:

- 1) малая поверхностная площадь воды в аппарате, что снижает нормы загрузки (средняя норма для щуки - 300 тыс. шт., для калкана - 15-20 тыс. экз.);
- 2) столб воды между поверхностным слоем и сливной трубкой, инкубируемой икрой калкана, практически не используется;
- 3) кормление личинок камбалы искусственными кормами загрязняет стенки аппарата.

Опыт применения аппарата Вейса для инкубации икры калкана дал некоторые положительные результаты, однако в дальнейшем, применительно к инкубации икры калкана, он требует значительного усовершенствования путем увеличения площади и сокращения высоты аппарата.

Таким образом, к настоящему времени выработаны специфические приемы и нормативы, которые в дальнейшем могут послужить отправным моментом при совершенствовании биотехники искусственного разведения морских рыб, в частности черноморской камбалы-калкана.

СПЕРМАТОГЕНЕЗ И ПОЛОВОЙ ЦИКЛ САМЦОВ КАМБАЛЫ-КАЛКАНА (SCORPINAELMUS MAEOTICUS RAILLAS)

М.Г.Таликина
(АзЧерНИРО, Керчь)

В связи с резким падением природных запасов камбалы-калкана — ценного промыслового объекта Черного моря, в АзЧерНИРО, начиная с 1969 г., проводятся работы по искусственному воспроизводству этого вида.

При решении рыбоводных задач особенно большое значение приобретает знание процессов роста и созревания половых желез. Поэтому задача настоящей работы — изучение сперматогенеза для получения характеристики репродуктивного цикла и описание шкалы зрелости самцов камбалы-калкана.

Материалом для настоящей работы послужили 126 экз. калкана, выловленных в Черном море (район Анапы) в 1970-1971 гг. Рыб подвергали полному биологическому анализу по общепринятой методике [9].

Данные биологического анализа исследованных рыб приведены в таблице. При визуальном анализе гонад учитывали форму, цвет, размеры, степень васкуляризации половых желез, а также состояние оболочек семенников. Для гистологического анализа кусочки семенников фиксировали в жидкости Буэна. В дальнейшем пробы обрабатывали стандартным способом [10]. Срезы толщиной 5-7 мк окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну. Половые железы под микроскопом изучены у 65 особей. Клетки на разных стадиях развития половых желез измеряли при увеличениях объективов 40, 90 и окуляре $\times 10$. Каждое цифровое значение в тексте - средняя величина 15-20 измерений, выполненных на срединном срезе, плюс-минус ошибка средней. Препараты фотографировали на плоскую негативную фотопленку "Фото-65" микрофотонасадкой "ФНМ-3".

Анатомическое и микроскопическое строение семенников

Семенники калкана - парные железы, расположены в каудальной части брюшной полости. Правая и левая железы не одинаковы по длине. Правый семенник несколько длиннее левого. Гонады - трехгранной формы. Срез семенника в поперечном сечении имеет вид треугольника с закругленными углами. Хвостовой отдел железы уже головного. Головной отдел заканчивается тупым закруглением. Вдоль каждого семенника по вентральной стороне проходит семенной проток. Снаружи семенники покрыты двухслойной оболочкой tunica albuginea.

По микроскопическому строению семенники калкана можно отнести к перкоидному типу, для которого характерна ориентация семенных ампул по радиусам от периферии к центру железы. Герминативная ткань семенников представлена половыми клетками, которые развиваются в стенках семенных ампул. Семявыносящий проток состоит из нескольких сближенных каналов, стенки которых выстланы эпителиальными клетками.

Наряду с соединительнотканными и герминативными элементами в межканальцевых участках и вблизи выводных протоков обнаруживаются клетки с четко контурированными ядрами овальной формы. В ядре хорошо заметно тонкогранулированное хроматиновое вещество. Эти клетки, по-видимому, аналогичны клеткам интерстициальной ткани, описанным для *Pleuronectes platessa* L. Барром [14].

Развитие половых клеток в процессе сперматогенеза

Процесс развития половых клеток можно разделить на четыре периода: размножение (от первичной сперматогонии до сперматогоний по-

Стадия зрелости	Длина тела, см	Вес тела, кг	Вес гонад, г	Гоносоматический индекс (ГСИ)	Возраст, лет	Количество проанализированных рыб (n)	Количество рыб с гистологической характеристикой семенников (n)
I	<u>26-34</u> 30	<u>0.42-1.2</u> 0,81	<u>0.2-2.0</u> 1,1	<u>0.07-0.028</u> 0,17	(I+)-3	19	7
II (впервые созревающие особи)	<u>30-41</u> 35,5	<u>0.6-1.9</u> 1,25	<u>2.2-4.0</u> 3,1	<u>0.2-0.67</u> 0,37	3-6	19	9
II (половозрелые особи)	<u>39-48</u> 43,5	<u>1.2-3.1</u> 2,1	<u>4.0-12.0</u> 8,0	<u>0.21-0.58</u> 0,36	6-9	10	6
III	<u>38-50</u> 44	<u>1.5-3.9</u> 2,7	<u>5.0-25.0</u> 15,0	<u>0.25-1.23</u> 0,48	5-10	17	6
IV	<u>38-50</u> 44	<u>1.4-3.7</u> 2,5	<u>9.0-61.0</u> 35,0	<u>0.52-2.18</u> 0,94	5-8	25	15
V	<u>36-51</u> 43,5	<u>1.4-3.2</u> 2,3	<u>8.0-65.0</u> 36,5	<u>0.5-3.2</u> 0,99	5-8	19	14
VI	<u>38-49</u> 43,5	<u>1.2-3.6</u> 2,4	<u>3.1-19.4</u> 11,2	<u>0.14-0.68</u> 0,38	5-7	17	8

Примечание: В числителе - диапазон изменения признака, в знаменателе - средняя арифметическая.

К статье М. Г. Таликиной «Сперматогенез и половой цикл самцов камбалы-калкана»

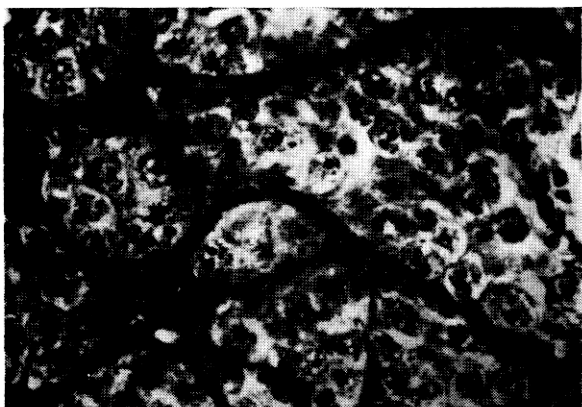


Рис. 1. Половая железа I стадии зрелости. Ув. об. 90 $\times$, ок. 6 $\times$.



Рис. 2. Половая железа II стадии зрелости:

а — «покоящиеся» сперматогонии I порядка с интерфатическими ядрами; *б* — первичные сперматогонии в период поздней профазы; *в* — делящиеся первичные сперматогонии на стадии метафазы; *г* — сперматогонияльные клетки поздних порядков. Ув. об. 90 $\times$, ок. 6 $\times$.



Рис. 3. Срез семенника II стадии зрелости.
Группа сперматогоний II порядка:

a — клетки в покоем состоянии (интерфазная фаза); *б* — клетки, в ядрах которых хроматин выглядит в виде «бляшек»; *в* — делящиеся сперматогонии на стадии метафазы. Ув. об. 90X, ок. 6X.

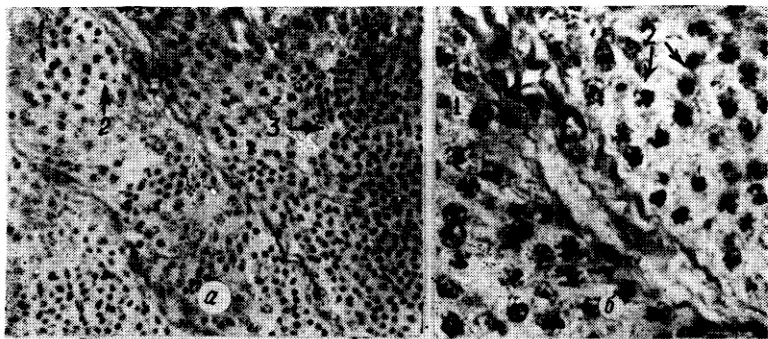


Рис. 4. Половая железа III стадии зрелости:

1 — сперматогониальные клетки; *2* — сперматоциты I порядка; *3* — сперматиды;
a — участок железы при ув. об. 40X, ок. 6X; *б* — при ув. об. 90X, ок. 6X.

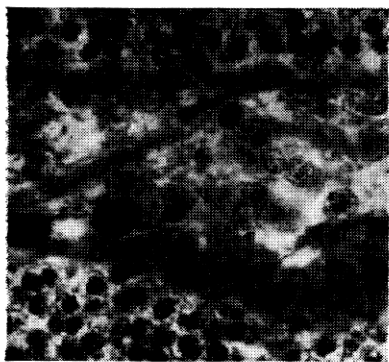


Рис. 5. Группа интерстициальных клеток в межканальцевом участке железы III стадии зрелости. Ув. об. 90×, ок. 6×.

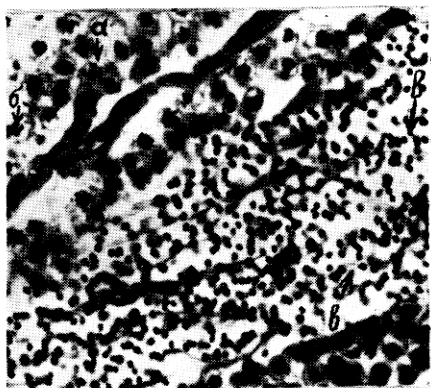


Рис. 6. Участок семенного канальца IV стадии зрелости:

a — сперматиды, хроматиновый материал которых представлен крупными глыбками; *б* — клетки с содержимым ядра «полулунной» формы; *θ* — сперматозоиды. Увел. об. 90×, ок. 6×.

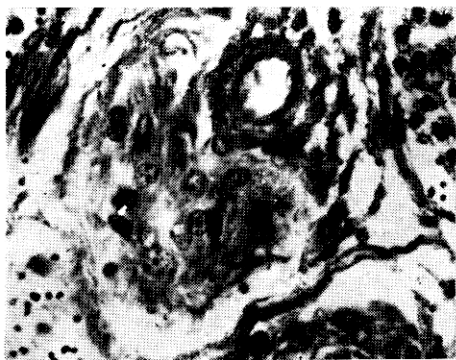


Рис. 7. Участок межканальцевой ткани семенника IV стадии зрелости. В центре расположена группа клеток интерстициальной ткани. Ув об. 90×, ок. 6×.

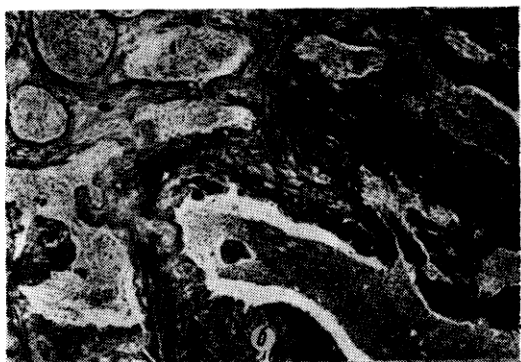


Рис. 8. Микроскопическая картина семенных ампул (а) и семявыносящих каналов (б) половой железы самца V стадии зрелости. Семенные ампулы и каналы выводного протока заполнены массой зрелых половых клеток.
Ув. об. 40 $\times$, ок. 6.

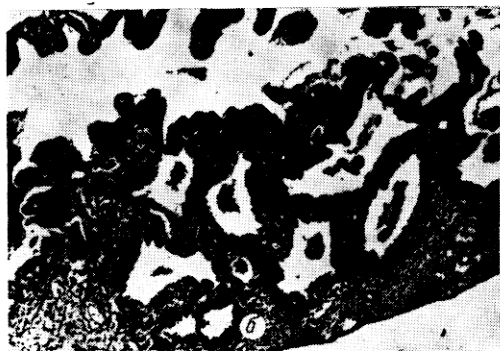
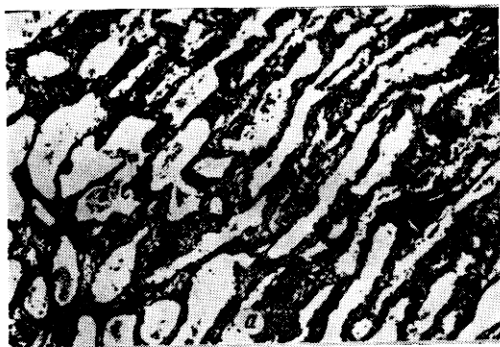
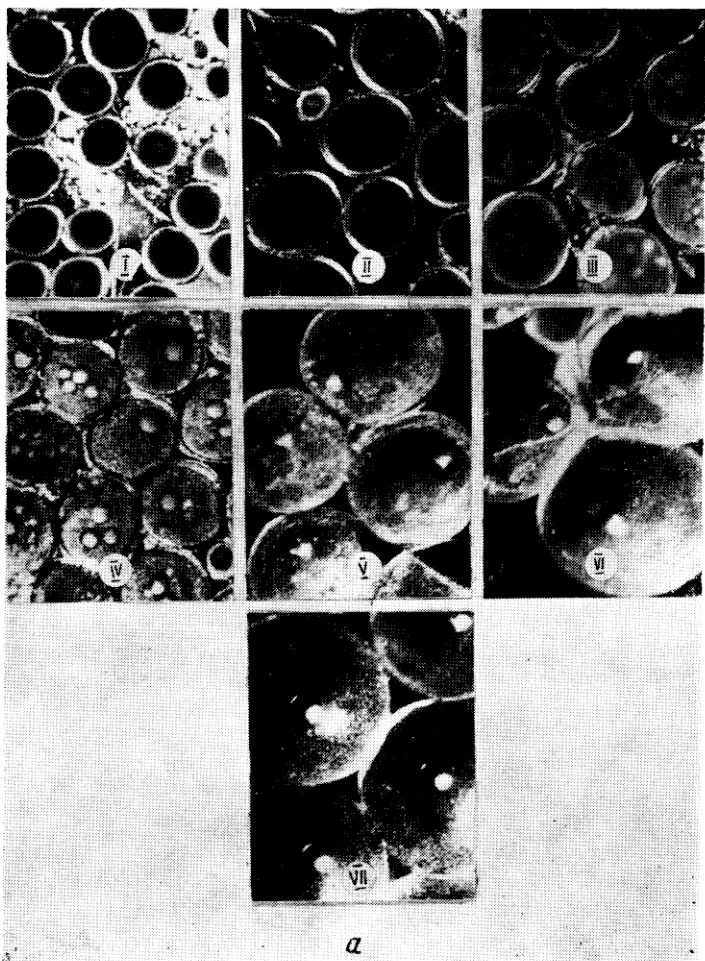


Рис. 9. Половые железы VI—II стадии — «выбой»:

a — общий вид семенных канальцев; *б* — выводной проток. Видны невыметанные зрелые половые клетки — «остаточные» сперматозоиды. Ув. об. 40X, ок. 6X.

К статье Н. К. Воробьевой, М. Г. Таликиной, А. П. Золотницкого
«Исследование созревания самок черноморской камбалы-калкана
(*Scophthalmus maeoticus* Pallas) в экспериментальных условиях»



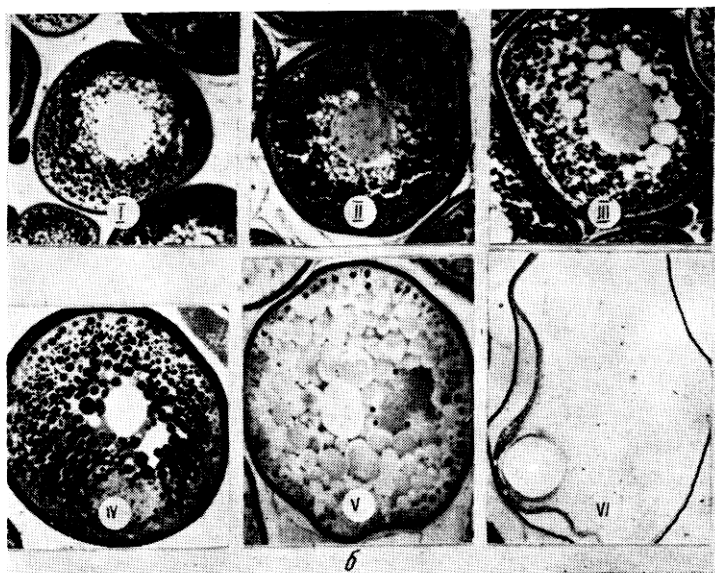


Рис. 1. Внешний вид живых (а) и гистологическая карта (б) ооцитов каждой фазы созревающих самок камбалы-калкана.

К статье В. Н. Иванова «Вопросы цитогенетики камбалы-калкана в связи с возможностями ее искусственного разведения»

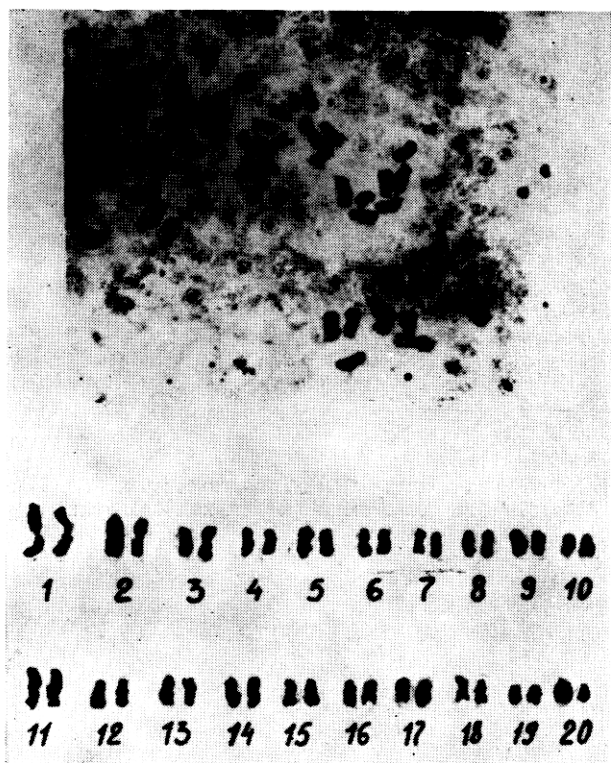


Рис. 1. Метафазная пластинка и кариотип камбалы-калкана.

следних генераций), рост (сперматоциты I порядка), созревание (сперматоциты II порядка, сперматиды) и формирование сперматозоидов (спермиогенез) [127]. Родоначальники всех последующих генераций половых клеток - первичные сперматогонии, самые крупные клетки в ряду сперматогенеза (рис. 1^{*}). В семенных ампулах они занимают пристенное положение, имеют слегка неправильную округлую форму, оболочка клеток выражена нечетко. Ядро клеток содержит одно центрально расположенное ядрышко. От него по радиусам к оболочке ядра расходятся хорошо заметные хроматиновые нити. Из клеточных компонентов наиболее интенсивно воспринимает гематоксилин ядрышко. Цитоплазма пенистая, окрашивается светло. Диаметр первичных сперматогоний $19,8 \pm 0,8$ мк, ядер $6,1 \pm 0,8$ мк.

В результате деления первичных сперматогоний, о чем можно судить по часто встречающимся фигурам митоза (рис. 2), образуются сперматогонии второго порядка. Они меньше первичных сперматогоний, диаметр их клеток $15,0 \pm 0,6$ мк, ядер $5,6 \pm 0,2$ мк. Характерным признаком клеток этого этапа развития является своеобразное расположение хроматина по периферии ядра в виде крупных скоплений. Часто эти скопления можно наблюдать в виде "бляшек" на поверхности оболочки (рис. 3). В ядре содержится одно ядрышко, занимающее пристенное положение.

В результате многократных делений число сперматогонияльных клеток увеличивается, при этом размеры их уменьшаются. После нескольких митотических делений из первичной сперматогонии образуются клетки поздних порядков, диаметр ядер которых составляет $4,0-0,1$ мк. Группы таких клеток, окруженные тонкой соединительнотканной оболочкой, образуют цисты, внутри которых продолжают развитие половые клетки. Сперматогонии последних порядков превращаются в сперматоциты I порядка. Далее происходит рост сперматоцитов I порядка, который связан с ядерными преобразованиями и известен как период синапсного пути. Первичные сперматоциты - клетки округлой формы. Большую площадь клетки занимает ядро. При прохождении стадии синapsа темнокрашенный хроматиновый материал концентрируется на одном из полюсов ядра. Это придает клеткам характерный вид, позволяющий легко отличить их от других клеток сперматогенеза. Диаметр сперматоцитов I порядка равен $9,2 \pm 0,1$ мк, ядер $3,9 \pm 0,1$ мк.

Следующим этапом развития половых клеток является период созревания. В это время происходит двукратное деление первичных сперматоцитов (мейоз). В результате первого деления образуются сперматоциты II порядка с диаметром $6,0 \pm 0,1$ мк, ядра диаметром $3,0 \pm$

* См. рис. 1 - 9 на вклейке.

$\pm 0,1$ мк. Они округлой формы с нечеткой оболочкой. От сперматочитов I порядка отличаются более светлой окраской ядерного вещества. Вслед за первым делением созревания происходит второе. В результате образуется сперматид с размерами клеток $3,0 \pm 0,1$ мк. Оболочка сперматид четко выражена. В некоторых клетках этого периода сперматогенеза хроматиновый. Материал представлен глыбками, равномерно распределенными по всему ядру (рис. 6, а). Иногда можно видеть и другое состояние сперматид, означающее собственно спермиогенез. В таких клетках содержимое ядра концентрируется в виде плотного образования полудунной формы (рис. 6, б). Развитие половых клеток завершается формированием сперматозоидов (рис. 6, в). Размер головки зрелой клетки $1,8 - 2$ мк, она интенсивно окрашивается гематоксилином. Хвостовая часть сперматозоидов хорошо заметна на срезах в виде длинных (около 30 мк) изогнутых нитей.

Стадии зрелости семенников

Стадии зрелости половых желез характеризуются определенным комплексом герминативных клеток, находящихся на разных этапах развития. Каждая стадия определяется главным образом состоянием клеток старшей генерации [12]. При выделении стадий зрелости семенников у камбалы-калкана учитывали также анализ морфологических признаков. Использованы следующие основные признаки: отношение веса половых желез (гоносоматический индекс (ГСИ)), форма гонад, выделение спермы при разрезе семенника и опливание краев разреза, легкость выделения половых клеток из генипоры. Обнаружено, что на свежих поперечных срезах, а также фиксированных семенниках, выделяются зоны с различной окраской. Микроскопический анализ показал, что каждой зоне соответствует определенный комплекс половых клеток. Этот признак использован при описании стадий зрелости семенников. Схема расположения зон приведена на рис. 10. В половом цикле самцов выделено шесть основных стадий развития половых желез, взятых нами за основу шкалы зрелости.

I стадия зрелости наблюдается у неполовозрелых особей. На этой стадии проанализированы самцы размером 26-34 см в возрасте 2-3 лет. Среднее значение ГСИ равно $0,16 \pm 0,04\%$. Внешне пол различим. Гонады малы по размеру, стекловидные, имеют слабый розовый оттенок. Семенник на поперечном срезе однородно окрашен (рис. 10, а). Микроскопически герминативная часть железы представлена сперматогониями первого порядка (см. рис. 1).

II стадия зрелости характерна для неполовозрелых и половозрелых

рыб. Размер тела встречающихся в уловах в течение всего года неполовозрелых самцов этой стадии 30–41 см, возраст от 3 до 6 лет. ГСИ равен $0,31 \pm 0,05\%$. По сравнению с предыдущей стадией развития железы мутные непрозрачные. Кровеносная система развита лучше, поэтому семенники приобретают более интенсивную розовую окраску. Грани гонад выражены неотчетливо, закруглены. Железы на поперечных срезах однородны по окраске, как и у самцов I стадии зрелости (рис. 10,а). У половозрелых рыб эта стадия встречается через значительный промежуток времени после нереста. Гонады сероватые с бледно-розовым оттенком, менее упруги, чем семенники неполовозрелых рыб. Состав половых клеток свидетельствует о протекании в семенниках II стадии зрелости процесса размножения сперматогоний. Гонадеративная ткань гонад образована первичными сперматогониями, сперматогониями II порядка и клетками более поздних поколений (см. рис. 2). В хорошо выраженной негерминативной ткани неполовозрелых и уже нерестившихся рыб встречаются клетки интерстициальной ткани. В первом случае диаметр этих клеток равен $7,1 \pm 0,2$ мк, у половозрелых $6,6 \pm 0,1$ мк.

III стадия зрелости характерна для половозрелых особей. Размер проанализированных рыб этой стадии зрелости 38–50 см, возраст 5–10 лет. В уловах самцы этой стадии встречаются в сентябре–октябре. В процессе роста вес семенников увеличивается, соответственно возрастает гоносоматический индекс. Максимальная его величина 1,28, минимальная – 0,25%.

Железы серо-матовые, с розовым оттенком, тугие, стенки напряжены. Грани гонад отчетливо выражены, края разреза не оплывают. Лезвие бритвы после надреза семенника на ранней III стадии остается чистым, в конце слегка пачкается. На поперечных срезах семенника по характеру окраски заметны две зоны: более плотная и темная (наружная) и менее плотная и светлая (внутренняя зона) (см. рис. 10,б).

Микроскопический анализ показывает, что наружная зона образована сперматогонияльными клетками разных порядков. Внутреннюю зону железы составляют семенные ампулы, в которых половые клетки находятся на более поздних этапах сперматогенеза. В них присутствуют сперматоциты I и II порядков и сперматиды. О начальном этапе III стадии зрелости можно судить по появлению в семенных ампулах первичных сперматоцитов. На более поздний этап указывает присутствие сперматид. Начиная с III стадии, семенные ампулы приобретают вид длинных лент, идущих от центра железы к периферии. Соединительнотканые стенки ампул по сравнению со II стадией зрелости растягива-

ются за счет увеличившейся в них массы клеток и поэтому утончаются. Можно также отметить, что в семенниках наряду с ампулами, содержащими цисты с асинхронно развивающимися половыми клетками, имеются такие, в которых процессы сперматогенеза во всех цистах протекают синхронно. Гистологическая картина гонад III стадии зрелости приведена на рис. 4.

Клетки интерстициальной ткани, обнаруживаемые чаще всего в центральной части железы, увеличиваются в размере по сравнению с предыдущей стадией зрелости. Средний диаметр ядер достигает $8,9 \pm 0,6$ мк. Границы клеток не различимы, цитоплазма гематоксилином окрашивается слабо. Ядро клеток округлой формы, содержит одно ядрышко, занимающее пристенное положение. Оболочка ядра и ядрышко интенсивно окрашиваются красителем (рис. 5).

IV стадия зрелости довольно продолжительна. В уловах самцы встречаются с ноября по март. Размер тела исследованных рыб 38–50 см, возраст 5–10 лет. Вес семенников и значение ГСИ соответственно возрастает. Максимальная величина ГСИ равна 2,18, минимальная 0,52%. Под микроскопом гонады непрозрачные, бело-матовые, с желтоватым отливом. Края граней закруглены, но трехгранность хорошо выражена. Края разрезов оплывают, на лезвии бритвы остается след белой массы. Если место надреза сжать, выделяется густая капля молочного цвета. По характеру расположения половых клеток в семенниках можно выделить три зоны: наружную, внутреннюю и центральную (см. рис. 10, в). В центральной зоне железы ампулы заполнены массой зрелых спермиев. Клеток более ранних стадий в пристеночном слое ампул нет, далее следует внутренняя зона. В ее ампулах содержатся клетки всех периодов развития, однако преобладают клетки периодов роста и созревания. Наружная зона, занимающая участок между *tunica propria* и внутренней зоной, образована сперматогонияльными клетками. Таким образом, в семенниках IV стадии зрелости происходят процессы сперматогенеза и спермиогенеза (рис. 6). Формирование сперматозоидов начинается в центральных ампулах и с интенсификацией этого процесса распространяется на периферические участки железы. На этой стадии развития диаметр ядер клеток интерстициальной ткани уменьшается до $7,4 \pm 0,2$ мк (на III стадии зрелости он равнялся $8,9 \pm 0,6$ мк). Морфология клеток интерстициальной ткани на данном этапе развития половых желез приведена на рис. 7.

V стадия зрелости – ("стадия текучести") указывает на начало вымета половых продуктов. Рыбы, у которых половые железы находятся на этой стадии, встречаются в уловах в апреле–мае, размер их 38–49 см, возраст от 4 до 8 лет. Значение ГСИ в среднем составляет

0,99%. Наименьшая его величина равна 0,5%, наибольшая 3,2%. Внешне семенники молочно-белые, мягкие на ощупь. При надавливании брюшка из генипоры выделяются беловатые молекулы вязкой консистенции. Свободное выделение спермы служит четким признаком текучего состояния особей. На поперечных срезах семенников по степени их окраски можно выделить три зоны, как и на предыдущей, IV стадии зрелости: наружную, внутреннюю и центральную. Однако в отличие от IV стадии зрелости на срезах гонад описываемого периода более четко выявляются наружная и центральная зоны (см. рис.10, г.). Микроскопическая картина показывает, что ампулы центральной зоны и семявыносящие каналы заполнены сплошной массой зрелых спермиев. В ампулах внутренней зоны кроме сперматозоидов содержатся группы "догоняющих" клеток, представленные в основном сперматидами. Наружная зона семенников образована первичными сперматогониями и гониями более поздних порядков. С освобождением семенных ампул от спермы происходит спадение стенок и их утолщение. Состояние семенных канальцев и выводного протока половых желез V стадии зрелости приведены на рис.8. Ядра клеток интерстициальной ткани в период нереста несколько уплощены и продолжают уменьшаться. Диаметр их $6,6 \pm 0,2$ мк.

VI стадия зрелости - "выбой". Состояние "выбоя" семенников, характерное для рыб, завершивших нерестовый период, встречается в июне-июле. Гонадосоматический индекс исследованных в этот период рыб размером 39-49 см в возрасте 4-8 лет снижается в среднем до 0,38%. Гонады отнерестившихся самцов багрово-красные, дряблые на ощупь. Край надреза семенников не оплывает, но лезвие бритвы пачкается, что указывает на присутствие "остаточной" спермы. На поперечных срезах отнерестившихся рыб четко выделяются по степени окраски две зоны: темная - наружная и светлая - центральная (рис.10, д). Последняя занимает большую площадь на поперечных срезах гонад. Микроскопически темноокрашенный участок семенников представлен сперматогонияльными клетками. Центральная зона желез образована спавшимися семенными ампулами, в которых содержится небольшое количество невыметанных зрелых клеток. Гистологическая картина семенников в посленерестовый период свидетельствует о протекании в них двух процессов: ликвидации невыметанных спермиев и развитии новой сперматогонияльной волны, дающей начало клеткам, которые будут использованы в нересте будущего года. Стенки семенных ампул спавшиеся, значительно утолщены. Пристеночный слой ампул постепенно заполняется сперматогонияльными клетками. По составу половых клеток семенники данной стадии соответствуют II стадии зрелости неполово-

зрелых рыб. Однако в отличие от неполовозрелых особей в семенных ампулах отнерестившихся самцов содержится остаточная сперма. Поэтому посленеростовое состояние рыб следует обозначать как стадию зрелости У1-П. Микроскопическая картина семенных ампул и семявыносящих каналов приведена на рис. 9. Можно отметить, что диаметр клеточных ядер остается на уровне периода нереста ($6,6 \pm 0,2$ мк). Морфологически выраженных изменений в этот период функционирования семенников в клетках интерстициума не отмечено. С завершением процессов дегенерации остаточных спермиев продолжается дальнейшее развитие начального этапа сперматогенеза - размножение сперматогоний. В августе в уловах встречаются самцы, половые железы которых находятся во II стадии зрелости. Семенники приобретают упругость за счет увеличения количества размножающихся клеток, изменяя цвет гонад от багрово-красного до сероватого с розовым оттенком.

Обсуждение результатов

Результаты выполненного исследования показывают, что семенники камбалы-калканы анатомически и микроскопически близки к семенникам перкоидного типа, описанного впервые для окуневых, а затем и для других видов рыб [12]. Кроме того, сходное строение половых желез отмечено у черного палтуса - *Reinhardtius hippoglossoides* Walb. и у морской камбалы - *Pleuronectes platessa* L. [13, 14].

Половые клетки развиваются в стенках семенных ампул. Морфология клеток различных фаз сперматогенеза мало отличается от других костистых рыб [1, 3-5, 11]. Размножение сперматогоний (II стадия зрелости) начинается в июне, сразу же после окончания нереста. Необходимо отметить, что основная масса клеток резервного фонда, т.е. первичных сперматогоний, в этот период деятельности семенников локализуется в верхних концах семенных канальцев, прилежащих к оболочке гонады. Такое расположение клеток резервного фонда свойственно для семенников перкоидного типа [2, 11], в отличие от половых желез циприноидного строения, для которых характерны первичные сперматогонии в пристенном слое во всех ампулах [3, 4, 7].

Период пролиферации сперматогонияльных клеток у половозрелых самцов камбалы-калканы длится около трех месяцев. Уже в сентябре мы наблюдали появление сперматоцитов I порядка. В сентябре-октябре в семенных ампулах идут активные процессы роста и созревания половых клеток, характеризующие III стадию зрелости. Появление сперматозоидов впервые наблюдается в ноябре. Как правило, процесс фор-

мирования спермиев раньше всего отмечается в семенных ампулах, расположенных ближе к семявыносящим каналам, распространяясь далее на периферические участки железы. В связи с этой особенностью, с наступлением нереста семенные ампулы, расположенные вблизи выводного протока, вероятно, быстрее освобождаются от зрелых половых клеток. Семенные ампулы, лежащие у выводного протока, находятся в лучших условиях питания, поскольку выводной проток лучше снабжен кровеносными сосудами [27].

Зимой в гонадах интенсивно развивается спермиогенез (IV стадия зрелости). В преднерестовом состоянии (последние числа марта) в семенниках калкана в массовом количестве находятся сперматозоиды, сперматиды и, кроме того, на периферии железы сохраняется небольшое количество цист с клетками на догоняющих стадиях сперматогенеза, за счет которых, вероятно, в период нереста будет образовано дополнительное количество зрелых клеток.

Таким образом, формирование половых клеток — наиболее длительный процесс в половом цикле самцов калкана и продолжается около 5 мес. Сходный характер временных соотношений в развитии половых клеток описан у морской камбалы [147].

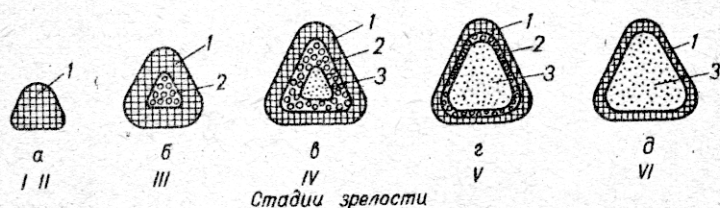


Рис.10. Схематическое изображение расположения половых клеток в семеннике на разных этапах полового созревания:

1 - сперматогонии разных генераций; 2 - сперматиды I и II порядка; 3 - сперматозоиды.

С начала апреля самцы нерестятся. Рыбы с текучими половыми продуктами встречаются в апреле и мае. Поскольку в период нереста в гонадах не наблюдается развития новой сперматогониальной волны, которая обеспечивала бы длительное функционирование семенников в этот период, то одной из причин растянутого нереста самцов, по-видимому, может быть одновременное освобождение семенных ампул от зрелой спермы, как это отмечено для самцов ерша [27]. С другой стороны, длительность нерестового периода для всей популяции объясня-

ется тем, что самцы подходят на нерест одновременно: степень физиологической подготовленности рыб к участию в нересте неодинакова.

Необходимо также отметить особенность функционирования семенников калкана, касающуюся клеток интерстициальной ткани. Эти клетки в гонадах рыб, подобно клеткам Лейдига семенников высших позвоночных, продуцируют стероидные гормоны [15, 17]. Доказано, что присутствие андрогенов в семенниках костистых рыб значительно влияет на стимуляцию сперматогенеза [16].

Гистофизиологическое исследование семенников калкана показало, что клетки интерстициальной ткани изменяются в течение годового полового цикла. Максимальная величина ядер клеток отмечена на III стадии зрелости ($8,9 \pm 0,2$ мк), т.е. в период интенсивного роста и созревания половых клеток. С наступлением IV стадии зрелости, когда в семенниках идет процесс формирования зрелых спермиев, диаметр ядер уменьшается до $7,4 \pm 0,2$ мк. Минимального значения клетки интерстициума достигают в период нереста. Размер ядер составляет $6,6 \pm 0,2$ мк. Каких-либо существенных морфологических изменений клеточных образований интерстициума в этот период функционирования семенников не наблюдается. По окончании нереста и в процессе регенерации желез величина клеточных ядер интерстициальной ткани удерживается на том же уровне и равна $6,6 \pm 0,2$ мк. С развитием новой спермато-онической волны, дающей начало генеративным клеткам будущего года, ядра клеток несколько увеличиваются. Диаметр их равен $7,3 \pm 0,2$ мк. Сходная картина изменений размера клеток интерстициальной ткани в течение репродуктивного цикла была отмечена в семенниках бычка-кругляка - *Gobius melanostomus* Pallas [6].

Таким образом, показано, что наиболее активного состояния эти клетки достигают в семенниках II и III стадии зрелости половозрелых рыб. Этот факт позволяет высказать предположение о связи клеток интерстициальной ткани с процессами размножения, роста и созревания половых клеток самцов камбалы-калкана.

В ы в о д ы

1. По анатомическому и микроскопическому строению половые железы самцов калкана близки к перкоидному типу. Половые клетки в процессе сперматогенеза развиваются по схеме, общей для костистых рыб.

2. В семенных канальцах половые клетки развиваются асинхронно. У половозрелых рыб процесс пролиферации генеративных клеток буду-

го года начинается прежде всего в центральных участках семенника. Наиболее отчетливо асинхронность сперматогенеза выражена в конце III и в начале IV стадии зрелости.

3. В половом цикле самцов калкана выделено шесть стадий развития половых желез, взятых за основу шкалы зрелости. В процессе роста и созревания гонад на их поперечных срезах по плотности окраски выделяются несколько зон. Микроскопически каждой зоне соответствует определенный комплекс половых клеток определенной стадии развития.

Наиболее длительный процесс спермиогенеза, характеризующий IV стадию зрелости. Образование сперматид и формирование сперматозоидов продолжается около 5 мес.

4. В процессе сперматогенеза наблюдается изменение размера ядер клеток интерстициальной ткани. Максимальное значение их отмечено на III стадии зрелости, в период интенсивного развития процессов роста и созревания половых клеток.

Л и т е р а т у р а

1. Буцкая А.А. Об особенностях функции семенника у рыб с различными типами нереста. - ДАН СССР, 1955, т. 100, № 4.

2. Буцкая А.А. Фолликулярный эпителий семенников и особенности его функций, связанные с типом нереста (на примере окуневых). - Зоол. журн., 1959, т. 38, № 12.

3. Кулаев С.И. Наблюдение над изменением семенников речного окуня (*Perca fluviatilis* L.) в течение годового цикла. - Русск. зоол. журн., 1927, т. 7, № 3.

4. Кулаев С.И. Годовой цикл и шкала зрелости семенников половозрелой плотвы (*Rutilus rutilus* L.) - Зап. Болшевск. биол. ст., 1939, № 11.

5. Лисовенко Л.А. Материалы к изучению сперматогенеза тихоокеанского морского окуня (*Sebastes alutus* G.) залива Аляска. - Тр. ВНИРО, 1970, т. 70.

6. Моисеева Л.Б., Пономарева В.П. Гистофизиологическая характеристика семенников и семенных пузырьков бычка-кругляка (*Gobius melanostomus* Pallas) на разных этапах полового цикла. - Вopr. ихтиол., 1973, т. 13, вып. 3.

7. Персов Г.М. Семенники севрюги в период нерестовой миграции, нереста и покоя. - Тр. лабор. основ рыбоводства, вып. 1. Л., 1947.

8. Попова В.П. Об искусственном разведении черноморской камбала-калкана. - Рыбное хоз-во, 1969, № 5.

9. Правдин И.Ф. Руководство по изучению рыб. "Пищепромиздат", М., 1966.

10. Ромейс Б. Микроскопическая техника. ИЛ, М., 1953.

11. Сакун О.Ф. Анализ функции половых желез у самок и самцов рыб в связи с характером нереста (на примере сырты *Vimba vimba* L.). - ДАН СССР, 1954, т. 98, № 3.

12. Сакун О.Ф., Буцкая А.А. Определение стадий зрелости и изучение половых циклов рыб. М., 1963.

13. Сорокин В.П., Григорьев Г.В. Сперматогенез и половой цикл

у гренландского или черного палтуса баренцевоморской популяции. - Тр. ПИРО, 1968, вып. 23.

14. Barr W.A. The endocrine control of the sexual cycle in the plaice *Pleuronectes platessa* (L.). III. The endocrine control of spermatogenesis. - Gen. Comp. Endocrinol., 1963, N 3.

15. Hoar W.S. Comparative physiology: hormones and reproduction in fish. - Ann. Rev. Physiol., 1965, vol. 27.

16. Pickford G.E. and Atz J.W. The Physiology of the Pituitary Gland of Fishes. - N.J. Zool. Soc. N.J., 1957.

17. Stanley H., Chieffi G. and Botte V. Histological and Histochemical Observation on the Testes of *Gobius paganellus*. - Zeitsch. Zellforsch., 1965, vol. 65.

ИССЛЕДОВАНИЕ СОЗРЕВАНИЯ САМОК ЧЕРНОМОРСКОЙ

КАМБАЛЫ-КАЛКАНА (*SCORPENA MACELOUS PALLAS*)

В ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Н.К.Воробьева, М.Г.Таликина, А.П.Золотницкий

(АзЧерНИРО, Керчь)

Одна из исходных задач искусственного воспроизводства рыб - получение от них качественных зрелых половых продуктов. Для успешного решения этой задачи для черноморского калкана, необходимо всесторонне изучить процесс созревания и нереста этого вида как в природных, так и в экспериментальных условиях.

Некоторые особенности биологии размножения камбалы-калкана в море описаны в работах [2-7].

Мы специально исследовали завершающий период вителлогенеза и процесс созревания от желткового ооцита до зрелого овулировавшего яйца самок данного вида, содержащихся в экспериментальных условиях.

Работа выполнена на экспериментальной базе АзЧерНИРО в пос. Заветное в апреле-мае 1972 г. Производителей камбалы отлавливали донным тралом в районе Анапы и доставляли на базу за 8-12 ч в брезентовых ванночках (каждого в отдельной) размером 500x250 мм, специально сконструированных для этой цели В.Ф.Гнатченко. Такой способ транспортировки значительно снижал травмирование рыб при доставке. Воду в ванночках меняли через 4-6 ч. На базе рыбу содержали в бассейнах емкостью 2,5-3 м³ по три-пять экземпляров в каждом при температуре 12-14°C.

Наблюдение за созреванием ооцитов проводили методом прижизненного анализа щуповых проб, предложенным Апекиным [1]. От созревающих самок брали через 4 ч, начиная с момента доставки, щуповые пробы. Ооциты из проб исследовали бинокуляром при увеличении 7x8. Положение ядра в яйцеклетках определяли на срезах, приготовленных с помощью замораживающего микротсма. Для получения размерных характеристик клеточных компонентов ооцитов различного состояния пробы

фиксируют в жидкости Буэна, заливали парафином и обрабатывали по общепринятой методике. Срезы толщиной 5-7 мк окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну. Дополнительно по методу Лоури определяли содержание белка в ооцитах различных размерных групп. Всего проанализировано 180 щуповых проб, взятых от 27 самок камбалы-калканы IV-V и V стадий зрелости в возрасте 5-9 лет, гоносоматические индексы их колебались от 13 до 19%.

Прежде чем приступить к изучению созревания, необходимо было выявить признаки, по которым можно судить о ходе этого процесса. Для этого у самок IV стадии зрелости периодически через генипору извлекали щупом ооциты и просматривали их под бинокуляром. Всякий раз отмечали изменения, происходящие в ооцитах. Установлено, что в щуповых пробах, наряду с желтковыми ооцитами, встречаются яйцеклетки, размер которых по мере созревания увеличивается, усиливается степень гомогенизации желтка и изменяется количество и величина жировых капель. Используя эти признаки, а также результаты цитоморфологического анализа, мы проследили развитие яйцеклеток от желткового ооцита до зрелого овулировавшего яйца.

Желтковые ооциты в яичниках самок IV-V, V стадий зрелости разнородны не только по размеру, но и по внешнему виду. Наиболее мелкие из них (300-500 мк) - правильной округлой формы с желтком мелкозернистым. У большинства яйцеклеток отчетливо выделяется светлое пятно овальной формы, расположенное в центре (рис. 1, 1а). В центре клетки имеется круглое ядро, на периферии которого располагается в среднем 13 ядрышек. Вокруг ядра локализованы многочисленные жировые капельки, образующие характерное светлое кольцо, которое просматривается в живых ооцитах в виде светлого овального пятна. Гранулы желтка расположены относительно друг к другу в цитоплазме свободно. Периферический участок цитоплазмы образован крупными кортикальными вакуолями полисахаридной природы (ШИК-реакция). Желтковые ооциты диаметром 500-630 мк отличаются от мелких отсутствием светлого пятна в центре клетки и отчетливо выраженной зернистой структурой желтка (рис. 1, 1а).

Из гистологических препаратов данных яйцеклеток (рис. 1, 1б) видно, что диаметр их ядра увеличивается (130 против 90 мк) и заметно возрастает количество желточных гранул. Они образуют довольно плотную массу, оттесняя периферические вакуоли к оболочке ооцита, и затемяют светлое кольцо жировых капелек вокруг ядра.

В яйцеклетках размером 630-700 мк обнаруживаются 15-20 мелких жировых капель. Структура желточных включений ооцитов - грубозернистая (рис. 1, 1а). На гистологических препаратах ооцитов этого

состояния изменений в положении ядра не наблюдается. Ядрышки по-прежнему располагаются вблизи ядерной мембраны. Жировые капли в результате их слияния укрупняются от 27 до 50 мк. Диаметр желточных гранул увеличивается вдвое и равен в среднем 27,2 мк. Гранулы желтка расположены в цитоплазме рыхло (рис.1, Шб). Переход яйцеклеток в следующее состояние характеризуется некоторым увеличением их размеров (700-800 мк), значительным укрупнением жировых капель и уменьшением их количества до одной-четырех (рис.1, IVa). Вследствие начавшегося процесса гомогенизации желтка содержимое яйцеклетки становится светлее.

Гистологический анализ ооцитов данного состояния свидетельствует о начале поляризации клетки. Ядро расположено эксцентрично (рис.1, IVб). Количество ядрышек уменьшается в среднем до восьми. Размеры жировых капель увеличиваются до 60-105 мк. На препаратах видно, что гранулы желтка в результате их слияния продолжают увеличиваться. Диаметр их равен 37 мк. Увеличение диаметра ооцитов до 800-980 мк сопровождается окончательным слиянием жировых включений в одну каплю и интенсивно протекающей гомогенизацией желтка. В живых ооцитах желток представлен в виде крупных блестящих зерен. Яйцеклетки данного состояния внешне полупрозрачны (рис.1, Va).

Ядро находится на анимальном полюсе клетки вблизи собственной оболочки ооцита (рис.1, Vб). Оно приобретает неправильные очертания. Количество ядрышек в нем уменьшается до четырех, диаметр их несколько увеличивается и равен 15 мк. Чаще всего ядрышки располагаются на периферических участках ядра. Цитоплазма - пенистая слабоокрашенная масса с незначительным количеством крупных гранул сильно вакуолизированного желтка.

Яйцеклетки размером 980-1100 мк становятся совершенно прозрачными, содержат одну жировую каплю (рис.1, VIa). Ооциты в таком состоянии еще удерживаются в строме яичника. На гистологических препаратах ооцитов данного размера ядро как морфологическое образование не выявляется. Содержимое яйцеклеток представлено слабоокрашивающейся однородной цитоплазмой с крупной жировой каплей (256 мк) на периферии клетки (рис.1, VIб).

Размеры овулировавших яиц камбалы-калкана 1100-1300 мк (рис.1, VIIa). Гистологическая картина их идентична описанной выше,

Приведенные данные визуального и гистологического анализа свидетельствуют о том, что процесс превращения желткового ооцита в зрелое овулировавшее яйцо характеризуется рядом последовательных, четко различающихся между собой состояний или фаз.

Первая фаза. Мелкие желтковые ооциты со светлым овальной формы пятном в центре. Размер 300-500 мк.

Вторая фаза. Крупные желтковые ооциты, желток уплотнен, светлое пятно отсутствует. Размер 500-630 мк.

Третья фаза. Ооциты с 15-20 жировыми каплями. Размер 630-700 мк.

Четвертая фаза. Ооциты с одной-четырьмя жировыми каплями. Размер 700-800 мк.

Пятая фаза. "Полупрозрачный" ооцит. Размер 800-980 мк.

Шестая фаза. "Прозрачный" ооцит, зрелое неоовулировавшее яйцо. Размер 980-1100 мк.

Седьмая фаза. Зрелое овулировавшее яйцо. Размер 1100-1300 мк.

Характеристики клеточных компонентов каждой фазы приведены в табл.1. Выделенные фазы охватывают два основных периода оогенеза: завершающий этап вителлогенеза и процесс созревания. Первые две фазы объединяют желтковые ооциты, находящиеся на различных этапах вителлогенеза. Третья фаза, вероятно, характеризует ооциты, завершившие этот процесс, т.е. яйцеклетки дефинитивного состояния. Об этом, с одной стороны, свидетельствует то, что в ооцитах этого состояния начинается формирование жировой капли и наблюдается изменение агрегатного состояния цитоплазматических включений (увеличение почти в два раза размеров желточных гранул), (табл.1). С другой стороны, содержание белка в ооцитах третьей фазы достигает максимальной величины - 43,6 мкг на одну яйцеклетку - и сохраняется в этих пределах (41,9 - 42,2 мкг) в ооцитах последующих фаз, включая зрелые овулировавшие яйца размером 1100-1300 мк (табл.2).

Созревание яйцеклетки начинается с началом миграции ядра к анимальному полюсу - с четвертой фазы. Процесс миграции ядра довольно длителен, так как оно как морфологически обособленная структура выявляется еще в ооцитах пятой фазы, занимая в них полярное положение. Вероятно, с завершением гомогенизации желтка происходит и растворение зародышевого пузырька, поскольку на гистологических препаратах яйцеклеток шестой фазы ядро уже не обнаруживается.

Выделенные фазы развития ооцитов применены для анализа хода созревания самок камбалы-калкана преднерестового состояния. От самок, начиная с момента доставки или спустя некоторое время, брали через 4 ч шупом пробу, состоящую из 150-200 ооцитов, просматривали их под бинокуляром, относя, в зависимости от степени выраженности признаков созревания, каждый ооцит к той или иной фазе. Вычисляли процентное соотношение ооцитов различных фаз в шуповой пробе.

Работа выполнена на четырех самках IV-V стадии зрелости. Первая

Таблица 1

Изменение клеточных компонентов в процессе роста и созревания ооцитов

Фаза	Диаметр ядра, мк	Диаметр ядрышек, мк		Коли- чество ядрышек, шт.	Диаметр желточных гранул, мк		Диаметр жировых капель, мк		Коли- чество жировых капель, шт.	Толщина оболочек, мк	n
		мелких	крупных		мелких	крупных	мелких	крупных			
I	96 $\pm$ 1	6,9 $\pm$ 0,2	10,1 $\pm$ 0,5	13 $\pm$ 0,9	6,5 $\pm$ 0,5	10,1 $\pm$ 0,6	12,2 $\pm$ 0,9	26 $\pm$ 3	58 $\pm$ 5	10,9 $\pm$ 0,6	7
II	130 $\pm$ 4	7,1 $\pm$ 0,4	11,1 $\pm$ 0,8	11 $\pm$ 0,9	5,5 $\pm$ 0,7	13,5 $\pm$ 0,5	16,9 $\pm$ 2,4	27,5 $\pm$ 4	56 $\pm$ 3	12,9 $\pm$ 0,8	9
III	131 $\pm$ 3	7,8 $\pm$ 0,5	12,2 $\pm$ 0,5	12 $\pm$ 1,2	-	27,2 $\pm$ 1,7	26,0 $\pm$ 1,3	50 $\pm$ 3	20 $\pm$ 1	16,5 $\pm$ 0,8	13
IV	132 $\pm$ 4	10,2 $\pm$ 0,7	15,1 $\pm$ 0,8	8 $\pm$ 0,8	19,7 $\pm$ 1,9	37,1 $\pm$ 1,5	59,7 $\pm$ 4,1	125 $\pm$ 6	4 $\pm$ 0,6	13,8 $\pm$ 0,6	13
У	149 $\pm$ 5	-	14,7 $\pm$ 1,3	4 $\pm$ 0,5	-	-	-	185 $\pm$ 9	1	9,3 $\pm$ 0,7	13
У1	-	-	-	-	-	-	-	236 $\pm$ 4	1	4,9 $\pm$ 0,5	13
УП	-	-	-	-	-	-	-	236 $\pm$ 4	1	4,9 $\pm$ 0,5	8

Примечание: *M* - средняя, *m* - ошибка выборочной средней, *n* - количество определений.

Т а б л и ц а 2

Количество белка (в мкг на одну яйцеклетку) в ооцитах различных фаз

Фаза	Размер, мк	К о л и ч е с т в о	
		белка, мкг	проц [*]
I	350-500	21,6 ± 3,4	4
II	500-630	31,8 ± 1,4	5
III	630-700	43,6 ± 2,3	4
IV	700-800	42,2 ± 1,3	4
V	800-900	42,0 ± 1,4	4
VI	900-1100	41,9 ± 0,5	4
VII	1100-1300	42,2 ± 1,0	4

* Каждая проба состояла из 30 ооцитов указанной размерной группы.

подопытная самка доставлена 6 мая и помещена в экспериментальный аквариум с температурой воды 12°C. Температура во время опыта не изменялась. 7 мая, через 16 ч после доставки, от этой самки было отцежено небольшое количество (35 тыс. икринок) зрелой икры. В шуповой пробе, взятой в этот момент, обнаружены ооциты трех состояний и 13,5% яйцеклеток четвертой фазы - завершения формирования жировой капли. Желтковые ооциты и яйцеклетки дефинитивного состояния в последующих шуповых пробах встречались постоянно, но так как нас в первую очередь интересовали созревающие клетки, на рис. 2 изображено изменение процентного соотношения за период наблюдения ооцитов последних четырех фаз. График показывает, что через 26 ч с момента доставки в шуповых пробах появляются ооциты пятой фазы. Количество ооцитов четвертого состояния начинает уменьшаться. Максимального значения (более 30%) число ооцитов пятого состояния достигает спустя 32 ч. В последующие часы в пробах появляются ооциты шестой фазы - зрелые неовулировавшие яйца, количество которых сохраняется примерно на одном уровне (11-15%) 16 ч. На 56-й ч наблюдения оно несколько повышается (до 21%). Зрелая овулировавшая икра была отцежена от этой самки первый раз через 40, второй - через 60 ч.

Таким образом, период полового созревания одной порции икры подопытной самки довольно длителен (около 60 ч), что обусловлено некоторой растянутостью шестой фазы, которая происходит, вероятно, вследствие задержки процесса овуляции, так как некоторое количество зрелой икры проявляется уже спустя 40 ч от начала наблюдения (см. рис. 2). Ооциты четвертой фазы (завершения формирования жировой капли и начала поляризации яйцеклетки) в шуповых пробах начинают

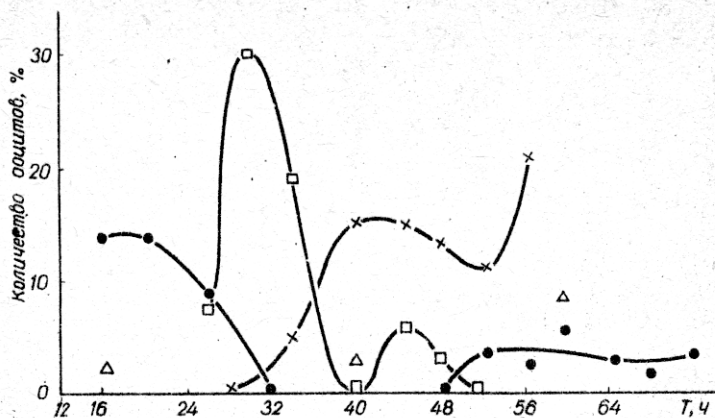


Рис. 2. Ход созревания ооцитов подопытной самки № 1:

● — количество ооцитов III фазы; ■ — IV фазы; X — V фазы;
 ▲ — количество ооцитов VI фазы.

появляться вновь через 48 ч наблюдения. Незначительное их количество (3-5%) встречается вплоть до 92 ч наблюдения, однако дальнейшего их движения не происходит. Созревание ооцитов на этой фазе останавливается, далее они подвергаются дегенерации. Наблюдение за состоянием гонад этой самки проводили 109 ч и были прерваны из-за гибели подопытной рыбы.

Вторая подопытная самка доставлена на базу 13 мая. Температура воды в аквариуме, где она содержалась, в течение всего периода наблюдения была около 13°C. В момент доставки от этой самки отцежено около 350 тыс. икринок. В шуповой пробе встречались, наряду с ооцитами первых трех состояний, около 20% клеток четвертой фазы и единичные яйцеклетки шестой и седьмой фаз — неовулировавшие и овулировавшие яйца. Максимальное количество (30%) ооцитов фазы завершения формирования жировой капли обнаруживается в шуповых пробах через 8 ч после начала наблюдения. Затем оно снижается до 15-17% и сохраняется в этих пределах на протяжении длительного периода, значительно уменьшаясь после 36 ч (рис. 3). Постепенное возрастание количества полупрозрачных ооцитов (пятая фаза) начинается с момента доставки и достигает максимального значения спустя 20 ч. Увеличение числа яиц шестого состояния (зрелой неовулировавшей икры) происходит также постепенно. Они начинают выявляться в шуповых пробах через 8 ч наблю-

дения и достигают наибольшего количества через 32 ч. Овуляция созревшей икры происходит через 36 ч, в этот момент зрелые яйца составляют около 50% щуповой пробы. Незначительное количество яйцеклеток седьмой фазы, которое встречается в более ранних щуповых пробах, относится, по-видимому, к предыдущей порции, не выведенной полностью из полости яичника. Следовательно, созревание новой порции икры у данной подопытной самки длится приблизительно 36 ч, продолжительность отдельных фаз - около 12 ч (см. рис.3).

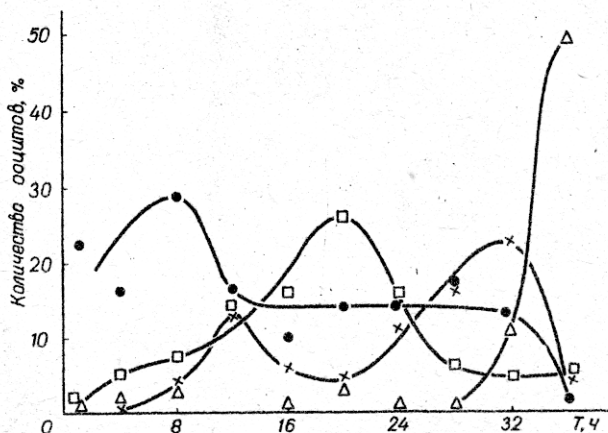


Рис.3. Ход созревания ооцитов подопытной самки № 2. Обозначения те же, что и на рис.2.

Процесс формирования одной порции икры прослежен еще у двух самок. Обе рыбы доставлены 13 мая и содержались в аквариумах при тех же условиях, что и вторая подопытная самка. Овуляция вновь созревшей икры у третьей рыбы произошла через 40, а у четвертой - через 36 ч после начала наблюдения. Процесс созревания ооцитов у этих двух особей сходен с двумя первыми.

Общая продолжительность процесса созревания ооцитов очередной порции, исследованного у четырех самок камбалы-калкана в экспериментальных условиях, составляет 36-60 ч, длительность отдельных фаз 8-24 ч и зависит, по-видимому, как от условий доставки и содержания, так и от исходного физиологического состояния рыб.

Овуляция созревшей икры у калькана представляет довольно быст-

рый процесс. По-видимому, почти вся созревшая порция икры овулирует одновременно. Об этом, с одной стороны, свидетельствует тот факт, что значительное количество овулировавшей икры в щуповых пробах встречается в очень узком интервале времени (см. рис. 2, 3). С другой стороны, самки камбалы-калкана, вероятно, из-за отсутствия необходимых условий, в экспериментальном аквариуме не нерестятся. Зрелую икру обычно отцеживали легким поглаживанием брюшка рыбы в области расположения гонад. Таким образом от подопытных самок удавалось получить от 100 до 500 тыс. икринок. Значительное количество отцеживаемой икры также заставляет предполагать, что овуляция ее осуществляется одновременно.

Пробы зрелой икры, полученной от первой и третьей подопытных самок, осеменяли спермой, взятой от содержавшихся совместно с самками самцов. Оплодотворенность проб, определенная на стадии многоклеточной морулы, составляла 90-93%. Если учесть, что наиболее высокий процент оплодотворения, который удалось получить при осеменении икры рыб, выловленных камбальными сетями не превышал 95%, то можно предположить, что икра созревших в экспериментальных условиях самок была доброкачественной.

Проследить ход созревания последующей порции икры не удалось, поскольку одна из подопытных рыб погибла через несколько часов после овуляции. У трех других, несмотря на появление в щуповых пробах ооцитов, фазы завершения формирования жировой капли, дальнейшего превращения этих яйцеклеток не происходило. Самки в таком состоянии пребывали длительное время (2-3 суток), затем в яичниках появлялись ооциты с признаками дегенерации, что было подтверждено и гистологическим анализом.

Выяснение причин остановки процесса созревания ооцитов камбалы-калкана в экспериментальных условиях - задача дальнейших исследований. Полученные данные представляют интерес с точки зрения использования их для оценки степени созревания интактных и стимулированных самок.

В ы в о д ы

1. Методом прижизненного анализа щуповых проб в яичниках самок IV-V стадии зрелости выделены критерии созревания яйцеклеток. Основными визуальными признаками созревания являются гомогенизация желтка и гидратация клетки, слияние жировых капель.

2. Использование выделенных критериев позволило выявить семь последовательных состояний (фаз) в процессе превращения желткового ооцита в зрелое овулировавшее яйцо.

3. На основании гистофизиологического и биохимического анализа получены предварительные данные, характеризующие дефинитивное состояние ооцита (размер 600-650 мк, жировых капель 15-20 шт., содержание белка 43 мкг на яйцеклетку).

4. Дан предварительный анализ хода созревания одной порции икры у самок преднерестового состояния. Показано, что длительность созревания очередной порции икры составляет 36-60 ч.

5. Полученные данные будут использованы для оценки степени созревания интактных и стимулированных самок.

Л и т е р а т у р а

1. Апекин В.С., Тренина Т.М. Опыты по стимулированию созревания и нереста кефалей. - Гидробиол. журн., 1972, т.8, № 1.

2. Виноградов К.А., Ткачева К.С. Материалы по плодовитости рыб Черного моря. - Труды Карадагской биол. ст., 1950, вып. 9.

3. Калинина Э.М. Особенности порционного икрометания черноморского калкана *Scorpthalmus maeoticus* Pall. - Вопросы ихтиологии, 1960, вып. 16.

4. Овен Л.С. Половые циклы и характер икрометания черноморских рыб. - В кн.: Размножение и экология массовых рыб Черного моря на ранних стадиях онтогенеза. "Наукова думка", К., 1970.

5. Попова В.П. Распределение камбалы в Черном море. - Тр. ВНИРО, 1954, т.28.

6. Попова В.П. Об искусственном разведении черноморской камбалы-калкана. - Рыбное хоз-во, 1969, № 5.

7. Смирнов А.И. Порционность икрометания пелагофильных рыб Черного моря. - ДАН СССР, 1950, т. 70, № 1.

ВОПРОСЫ ЦИТОГЕНЕТИКИ КАМБАЛЫ-КАЛКАНА В СВЯЗИ С ВОЗМОЖНОСТЯМИ ЕЕ ИСКУССТВЕННОГО РАЗВЕДЕНИЯ

В.Н.Иванов

(ИнБЮМ АН УССР, Севастополь)

Среди задач практической цитогенетики черноморского калкана первоочередными следует признать следующие.

1. Кариологическая характеристика *Scorpthalmus maeoticus maeoticus* Pallas (определение количества, описание морфологии хромосом).

2. Исследование изменчивости хромосомного комплекса.

3. Применение цитогенетического анализа для оценки качества производителей, икринок на различных стадиях развития, предличинки и личинок.

Интересно также сравнить хромосомные наборы всех представителей *Pleurocentriformes* Азово-Черноморского бассейна и выяснить кариологические возможности их гибридизации.

Нами исследовались хромосомные комплексы черноморской камбалы-калкана в клетках эмбрионов и предличинки. Икра, полученная от од-

ной самки и оплодотворенная молоками одного самца, инкубировалась в кристаллизаторах, в фильтрованной морской воде. За 8-10 ч до фиксации икринок в воду добавляли 1 мл 0,03%-ного раствора колхицина на 30 мл морской воды. Предличинки выдерживались в тех же концентрациях колхицина 4-5 ч. Перед фиксацией икру и предличинки помещали на 15 мин в дистиллированную воду для гипотонии. Фиксатором служила смесь абсолютного спирта и ледяной уксусной кислоты (3:1). Окрашивали целые икринки и предличинки 1%-ным ацетоорсеином 24 ч. Готовили давленные препараты из клеток бластулы, гастролы, из различных тканей предличинки. Просматривали и фотографировали препараты под микроскопом МБИ-6.

Хромосомный набор камбалы-калкана состоит из 40-42 комплексов, в состав его входят метацентрические хромосомы, субмета- и акроцентрики. Размеры их от 1,4 до 4,1 мк (рис. 1). В клетках дифференцированных тканей предличинки наблюдаются вариации количества хромосом. Среди клеток покровного эпителия наблюдаются клетки с 42, 44, 46 хромосомами, что можно объяснить перестройками кариотипа по правилу Робертсона. Подробнее хромосомный набор камбалы-калкана описан ранее [5].

С. Ногуза [5] исследовал хромосомные комплексы дальневосточных камбал *Limanda urolophaga* и *Kareius bicoloratus* (сем. *Pleuronectidae*). Кариотипы их состоят из 48 акроцентрических хромосом различного размера. У *Pleuronectes platessa* и *Pleuronichthys verticalis* (сем. *Pleuronectidae*) из Атлантического океана в кариотипе также 48 акроцентрических хромосом [4, 6]. Исключительно акроцентрики обнаружены и в наборе *Paralichthys olivaceus* (сем. *Bothidae*) - 46 хромосом [5]. В метафазных пластинках клеток морского языка - *Selea solea* насчитывается 42 хромосомы, среди которых имеются и метацентрики [4], *Xystreurys liolepis* - 48 хромосом [6].

Таким образом, среди изученных представителей *Pleuronectiformes* из Атлантики, Тихого океана и Черного моря наблюдаются отличия в количестве и морфологии хромосом у рыб различных семейств. Интересно, что изменения в кариотипе по правилу Робертсона у *Limanda urolophaga*, *Kareius bicoloratus* и *Pleuronectes platessa* возможны только в сторону уменьшения количества хромосом за счет их центрических стадий.

Уровень хромосомного мутирования в клетках, например, зародышей, может служить показателем жизнеспособности эмбриона, генетической полноценности производителей. Перестройки хромосом могут

возникать под влиянием температуры, кислородного голодания, различных химических веществ, проникающей радиации и т.д. Подробный анализ значения наследственных факторов и внешней среды в мутагенезе организмов приводится в работах [1,27].

Высокая пролиферативная активность тканей зародыша позволяет изучать перестройки хромосом в клетках на стадиях ана- и телофазы. Мы исследовали спонтанную хромосомную изменчивость в икринках камбалы-калкана, фиксированных на стадии поздней гаструлы. Икру получили от одной пары производителей. Анализировали две выборки - 100 и 82 икринки, инкубируемые в различных аквариумах. Объекты окрашивали ацетоорсеином в течение 6-24 ч и готовили давленные временные препараты. Цитологическая обработка зародышей и просмотр препаратов проведены Э.П. Колесниковой. Качественный спектр хромосомных перестроек в клетках эмбрионов камбалы-калкана обычен. Это хромосомные и хроматидные мосты, фрагменты отставания хромосом. Ввиду того, что средние выборки $10,74 \pm 0,94$ и $9,70 \pm 0,33\%$ отличались незначительно, данные были объединены в одну выборку. Гистограмма, отражающая встречаемость зародышей с различным количеством хромосомных aberrаций в клетках, помещена на рис. 2. Среднее количество эмбрионов

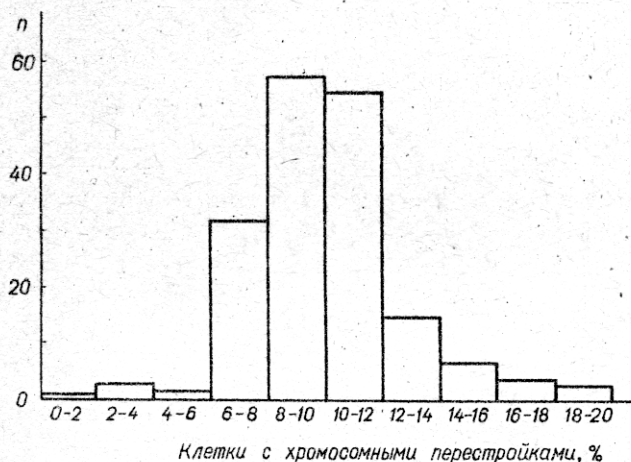


Рис. 2. Количество зародышей с различным числом клеток с aberrантными хромосомами

с aberrантными клетками $10,22\%$. Вариабильность экспериментальных данных $1,5 - 20,0\%$.

Несомненно, что при столь значительных колебаниях цитогенетических показателей жизнеспособность развивающихся икринок неодина-

кова. К сожалению, в настоящее время не возможно определить допустимую величину количества клеток с хромосомными перестройками в эмбрионах камбалы-калкана. Данные эти можно получить экспериментальным путем при сравнении выживаемости икринок и личинок, полученных от различных пар производителей.

Л и т е р а т у р а

1. Дубинин Н.П. Эволюция популяций и радиация. Атомиздат, М., 1966.
2. Дубинин Н.П., Глембоцкий Я.Л. Генетика популяций и селекция. "Наука", М., 1967.
3. Иванов В.Н. Хромосомы черноморской камбалы *Rhombus plaetis* Pallas. - ДАН СССР, 1969, т.187.
4. Barker C.J. A method for the display of chromosomes of plaice, *Pleuronectes platessa*, and other marine fishes. - *Copeia*, 1972, N 2.
5. Nogusa S. A comparative study of the chromosomes in fishes with particular considerations on taxonomy and evolution. Мем. Nippon Univ. Agriculture 3(1), Biol. Ser., 1960, vol. 3.
6. Ohno S., Atkin N. Comparative DNA values and chromosome complements of fishes. - *Chromosome*, 1966, vol. 18, N 3.

ОПЫТ СОДЕРЖАНИЯ И КОРМЛЕНИЯ ЛИЧИНОК КАМБАЛЫ-КАЛКАНА

В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

В.Е.Заика, В.Н.Иванов

(ИНБЮМ АН УССР, Севастополь)

Поведение личинок в аквариумах

Выклев личинок калкана происходит на 4-6-е сутки в зависимости от температуры. В период выклева наблюдается большой отход личинок. Выклюнувшиеся личинки большую часть времени неподвижно висят у поверхности воды желточным мешком вверх. Изредка они пытаются перевернуться, перемещаясь при этом на 5-10 мм.

Первые 2-е суток личинки не проявляют заметной реакции на свет, в возрасте 3-х суток и больше собираются в наиболее освещенной части аквариума. Это облегчает отцеживание воды и удаление мертвых личинок. В возрасте 2-4 суток у личинок наблюдаются относительно регулярные чередования периодов покоя, когда они пассивно опускаются головой вниз, и активного подъема к поверхности. Итоговая кривая вертикальных перемещений напоминает синусоиду. В зависимости от температуры и активности личинки концентрируются в поверхностном слое воды от 2 до 10 см.

При температуре 14 - 18°C измеряли время движения и покоя, скорость движения 2-4-суточных личинок. Для каждого измерения делали случайный выбор личинки. Таким образом, суммарные дан-

ные характеризуют в среднем всю группу. Проведено более 400 измерений (рис. 1-4)*.

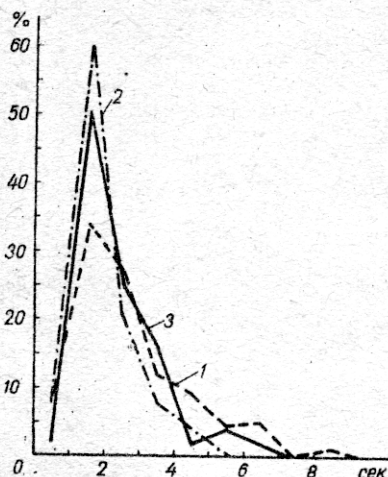


Рис. 1. Длительность непрерывного движения личинок калкана:

1 — 3-суточные личинки, температура 14°C , общее число измерений $n=100$; 2 — 4-суточные, $16-18^{\circ}\text{C}$, $n=60$; 3 — 2-суточные, 18°C , $n=50$.

Графики показывают, что чаще всего движение продолжается 1-2, изредка 8-9 сек. Скорость обычно составляет 7-9 мм/сек, хотя в отдельных случаях регистрировались величины до 20 мм/сек. За время между периодами покоя некоторые личинки могут проходить путь до 6-7 см. Продолжительность покоя колеблется в более широких пределах, чем время движения и составляет обычно 3-7 сек. Длительные наблюдения за отдельными личинками показали, что 10 сеансов движения обычно происходят за 50-70 сек. (рис. 4). Это согласуется с приведенными выше данными. Действительно, при среднем времени движения 1,5 сек и времени покоя 5 сек на 10 сеансов движения (без учета последней остановки) затрачивается 60 сек. Этот расчет, произведенный по данным рис. 1-3, согласуется с данными рис. 4. Итак, в возрасте 2-4 суток личинки проводят в движении четвертую часть времени. За 1 ч личинка тратит на движение 15 мин и проходит (в среднем) 7,2 м.

Средняя скорость движения личинок калкана в возрасте 5-6 суток и старше возрастает до 12-14 мм/сек. Движение обычно заканчивается

* На рис. 1-4 по оси абсцисс отложена величина измеряемого показателя, по оси ординат — доля случаев (%), в которых зарегистрирована данная величина.

резким броском. Чередование движения и покоя менее упорядочено. В возрасте 8-9 суток при питании водорослями, а у голодных личинок еще раньше, подвижность снижается. По-видимому, это связано с ухудшением их состояния и согласуется с приведенными далее кривыми выживания. Для сравнения укажем, что у личинок *Pleuronectes platessa* при 10°C в возрасте 4-6 суток продолжительность движения 10-20 сек, время покоя 7-10 сек. [67].

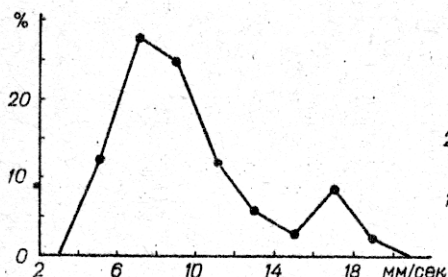


Рис. 2. Скорость движения 3-суточных личинок калкана при температуре 14°C ($n=38$).

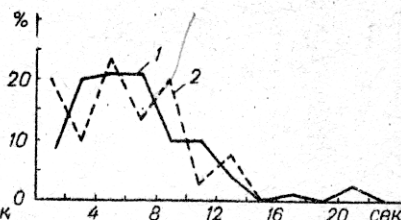


Рис. 3. Продолжительность отдыха личинок между очередными сеансами движения:

1 - 3-суточные, 14°C , $n=98$;
2 - 4-суточные, $16-18^{\circ}\text{C}$, $n=30$.

Для определения расстояния, с которого личинка замечает корм и совершает бросок, проведены длительные наблюдения. Но ни разу не удавалось наблюдать ни явную реакцию на корм, ни захват последнего, даже в опытах, когда последующее исследование кишечника показывало интенсивное питание.

Некоторые черты развития пищеварительной системы личинок калкана

Развитие пищеварительной системы у личинок *Paralichthys olivaceus* описано в работе [57]. Согласно этим данным, рот личинок открывается в возрасте 3 суток и пищеварительный тракт к этому времени разделен на две части с помощью перетяжки в задней части. Развитие глотки, желудка, пилорического отдела завершается в основном на втором месяце жизни личинок. Наблюдения над пищеварительной системой личинок калкана мы проводили на личинках, слегка придавленных покровным стеклом, при увеличениях 150-600х. На рис. 5 схематически изображен продольный разрез через пищеварительный тракт 4-суточных личинок. При температуре $16-18^{\circ}\text{C}$ у 2-суточных личинок

рот открыт, но челюстные кости еще не формируются, губы округлые. Глотка и задний отдел кишечника не имеют видимого просвета, средний отдел кишечника имеет широкий просвет. Средний отдел кишечника в этом возрасте заполнен морской водой, о чем свидетельствуют живые мелкие жгутиковые и бактерии. В 3-суточном возрасте появляется просвет в заднем отделе кишечника, который постоянно отделен от среднего перетяжкой, выполняющей функцию сфинктера. Нижняя челюсть приобретает подвижность. Добавив в воду метилгрюн или молоко, мы наблюдали через несколько секунд проникновение краски и эмульсии молока в глотку. Через 10 мин эмульсия молока появляется

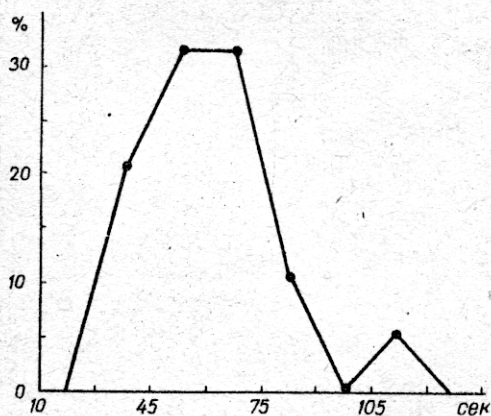


Рис. 4. Время 10 сеансов движения 3-суточных личинок, 14°C, $n=19$.

и в среднем отделе кишечника. Можно наблюдать сокращения и расслабления сфинктеров; окрашенная вода, пройдя кишечник, выбрасывается через анус.

Таким образом, в 3-суточном возрасте при 18°C пищеварительная система личинок функционирует. На этих личинках поставлены первые успешные опыты по питанию водорослями. Опыты с красителем свидетельствуют о периодическом заглатывании воды личинками. При этом личинки заглатывают бактерий и мелких жгутиковых диаметром 5-9 мк, которые постоянно встречаются у голодных личинок в возрасте 4-10 суток в среднем отделе кишечника. Обычно в кишечнике личинок видны одиночные клетки и небольшие комки неподвижных бактерий и жгутико-

вых. Но в ослабленных личинках бактерии начинают усиленно размножаться, заполняя всю полость среднего, а затем и заднего отделов кишечника. У голодных погибающих личинок может наблюдаться и спадение стенок пищеварительного тракта. При 14-16°C 4-суточные личинки

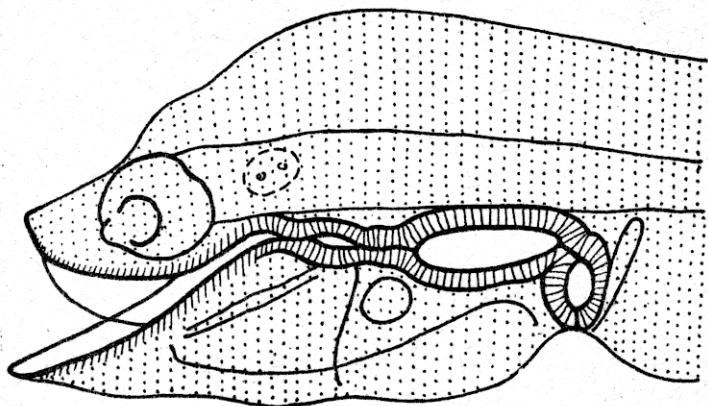


Рис.5. Схематизированное изображение пищеварительной системы 4-суточных личинок.

потребляли корм и выводили остатки. У 5-суточных видны четкие хватательные движения рта, раскрытие которого по вертикали составляет 150-200 мк.

Потребление личинками разных кормовых организмов в экспериментальных условиях

В опытах разной длительности личинкам предлагали в качестве корма организмы, отличающиеся размерами и подвижностью. Описаны результаты экспериментов, в ходе которых испытано 14 видов растительных и животных организмов. Наиболее показательны результаты 6-часового опыта с 4-суточными личинками. Сравнивалось потребление 8 видов водорослей, в том числе *Prochloron micans* при четырех концентрациях (табл.1). Из предложенных водорослей лучше всего потребляли *Glenodinium foliaceum* и *Prochloron micans*. При одинаковой концентрации (1 тыс/мл) личинки лучше использовали *G.foliaceum*. Виды водорослей в табл.1 перечислены в порядке снижения их

Таблица 1

Сравнительные данные о потреблении 8 видов водорослей
4-суточными личинками за 6 ч при температуре 18°C и
освещенности 8 тыс. лк

Вид корма	Раз- мер клеток, мк	Ско- рость движе- ния, мм/сек	Концен- трация в сосуде, тыс./мл	Число иссле- дован- ных ли- чинок	Количество клеток водорослей в кишечнике					
					0	I-10	II-20	2I-50	5I-100	100
<i>Prorocentrum micans</i>	39,4	0,03	9	10	0	0	3	I	2	4
"	39,4	0,03	4,5	13	0	2	2	2	I	6
"	39,4	0,03	2	12	3	I	I	I	I	5
"	39,4	0,03	I	16	3	8	5	0	0	0
<i>Glenodinium foliaceum</i>	34,5	0,012	I	12	I	6	I	I	2	I
<i>Peridinium trochoideum</i>	35,7	0,031	1,3	15	5	4	4	2	0	0
<i>Goniaulax polyedra</i>	36,7	0,025	2	15	5	8	I	I	0	0
<i>Gyrodinium fissum</i>	35,4	0,03	I	15	3	12	0	0	0	0
<i>Exuviaella cordata</i>	23,0	0,026	3	13	II	2	0	0	0	0
<i>Amphidinium klebsii</i>	14,8	-	6	16	13	3	0	0	0	0
<i>Gymnodinium kovalevskii</i>	22,4	-	39	II	8	3	0	0	0	0

потребления личинками. Показательно, что *Gyrodinium fissum* более крупный, чем *Glenodinium foliaceum* и *Prorocentrum micans* (в то же время вполне доступный по размерам личинкам), потреблялся весьма слабо. Три вида, помещенные в табл. I последними, практически не потреблялись, несмотря на высокие концентрации. Возможно, это связано с небольшими размерами данных водорослей. Потребление того или иного корма в ходе кратковременного опыта не говорит о пригодности данного корма, так как не исключается возможность слабой усвояемости или вредных последствий питания им. Поэтому часть личинок была оставлена в тех же сосудах с кормом на несколько суток.

В аквариумах с *Glenodinium foliaceum* и *Prorocentrum micans* личинки оставались живыми дольше, чем в сосудах с другими водорослями. Это свидетельствует о том, что питание личинок *G. foliaceum* и *P. micans* способствовало поддержанию жизни. Это подтверждают и результаты экспериментов по выживаемости личинок в двух четырехлитровых аквариумах. В первый поместили 307 однодневных личинок и содержали без корма. Выживаемость их иллюстрирует кривая I на рис. 6. Во второй аквариум при идентичных ус-

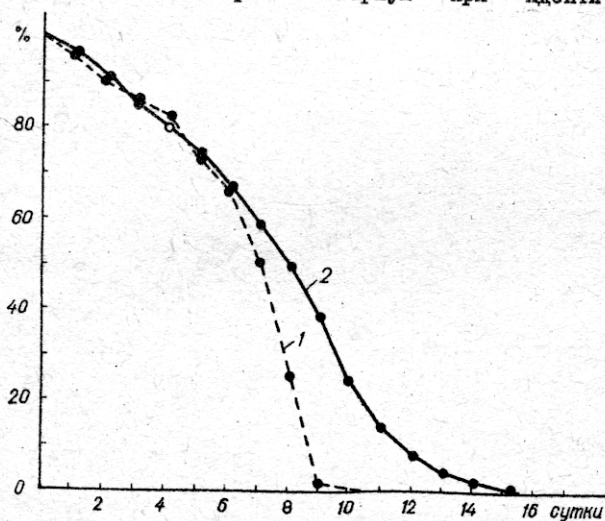


Рис. 6. Кривые выживания личинок после выклева:

- 1 - без пищи; исходное число личинок 307 экз.;
2 - кормом служили водоросли *Prorocentrum* и *Glenodinium*; исходное число личинок 397 экз.

ловиях раз в 2 суток добавляли 30-50 мл *Prorocentrum micans* в концентрации 15-20 тыс. клеток в 1 мл и та-

кое же количество *Glenodinium foliaceum* с концентрацией 10-30 тыс. клеток в 1 мл. Выживаемость личинок в этом случае выше: две личинки дожили до 17 суток (кривая 2 на рис.6). Характер гибели личинок в обоих аквариумах в первые 5-6 суток эксперимента сходен.

Procentrum micans использовали как корм во многих опытах. Потребление менялось в зависимости от освещенности, концентрации, но личинки изо дня в день питались этими водорослями. Так, наполненность четырехсуточных личинок, получивших впервые корм (*P.micans*) 4 мая, следующая (средняя для питающихся): 5 мая 4 клетки на личинку; 6 мая 17; 8 мая 24; 10 мая 22 (температура 14-16°C).

С другой стороны, неоднократно в опытах (при освещенности 100-200 лк и температуре 14-16°C) личинкам предлагали *Gyrodinium fissum* и смесь *G.fissum* и *Gymnodinium kovalenskii*, смесь *G.fissum* и *P.micans*. Как в первые часы опыта, так и в последующие дни результаты оказывались неизменными: *G.kovalenskii* встречался лишь в виде единичных клеток в кишечниках не более чем у 10% личинок, *G.fissum* - немного чаще, но не более 9 клеток в личинке. В смеси *G.fissum+P.micans* потреблялся только второй вид. По визуальным наблюдениям *G.fissum* плохо переваривается в кишечнике личинок.

Помимо перечисленных в табл. I видов, перидиниевых, личинкам в возрасте 4 суток при освещенности 1000 лк были предложены диатомовые водоросли *Ditylum* sp., *Coscinodiscus* sp. и *Chaetoceros curvisetus*. Цепи *Ch.curvisetus* старались разбить на небольшие звенья. В этом возрасте раскрытие рта личинок приблизительно равно 200 мк, поэтому результаты опытов с крупными диатомовыми свидетельствуют о предельных размерах потребляемого корма. Наблюдения под микроскопом МБС-I показали определенные попытки личинок захватить *Coscinodiscus*, но размеры клеток оказались слишком большими. За 4 ч ни одна из 24 личинок не проглотила ни одной клетки.

19 личинок поместили на 3,5 ч в аквариум с *Ch.curvisetus*. В конце опыта у трех личинок обнаружили цепочки из двух клеток в ротовой полости или в глотке, у одной - цепочка из четырех клеток в ротовой полости. Из 10 личинок, 2 ч находившихся в чашке с *Ditylum*, у двух обнаружено по одной клетке в ротовой полости, у двух - по две разрозненные половины клетки в среднем отделе кишки. Очевидно, обладающие нитевидными выростами клетки *Chaetoceros* и *Ditylum* застревают в ротовой полости и глотке личинок, что затрудняет питание этими водорослями.

5- и 6-суточным личинкам в качестве корма предлагали велигеры мидий (максимальный диаметр 110 мк). При температуре 17,5°C у не-

которых личинок через 1 ч в кишечнике было до 4 велигеров; через 2 ч у 50% личинок пища была в кишечниках (до 11 велигеров). К сожалению, этот корм мы получили лишь однажды и в количестве, не достаточном для широкого использования в опытах.

Личинкам в 7-суточном возрасте при температуре 19,5°C предложили науплиусов усонюгих раков, имеющих в поперечнике до 270 мк (включая шипы). Личинки в это время были малоактивные (наблюдался большой отход). Попыток захватить корм мы не наблюдали. Личинки, исследованные через 2 ч 35 мин, науплиусов в кишечниках не содержали.

Желательно оценить максимальную вместимость (емкость) пищеварительной системы личинок. В 4-суточном возрасте при температуре 18-19°C, освещенности 8000 лк через 6 ч питания клетками *Progo-centrum* при концентрации корма 9 тыс./мл 40-46% личинок имели более 100 клеток и около 20% - более 200 клеток в кишечнике. При такой наполненности более точный подсчет с помощью использованной методики (без препарирования кишечников) невозможен.

По этим данным можно оценить максимальную скорость потребления водорослей. Среднее время между очередными захватами пищи составляло не более 1,5 мин. Если же учесть, что за 6 ч экспозиции и при интенсивном питании, по-видимому, немалое число клеток было уже выведено из кишечника, то среднее время между захватами пищи составляло около 1 мин, и такой режим держался 6 ч.

Время пребывания пищи в кишечнике

Исследуя личинок первый час после того, как им предложен корм, можно видеть, что заглоченные пищевые объекты быстро попадают в средний отдел кишечника. В ротовой полости и глотке пища регистрируется редко и отдельными (одиночными) частицами: здесь она не скапливается. Первое появление пищевых частиц в заднем отделе мы наблюдали однажды через 40 мин после начала питания. Как правило, пища появляется в заднем отделе через 2 ч после начала питания. Это наблюдалось у 3-5-суточных личинок при температуре 16-19°C при употреблении велигеров мидии и *Progo-centrum*.

При исследовании личинок, питающихся длительное время, пища регистрируется преимущественно в среднем отделе кишечника; в заднем отделе она встречается нерегулярно и в небольших количествах. Следовательно, пища почти все время находится в среднем отделе и лишь перед дефекацией небольшими порциями переводится в задний отдел, где долго не задерживается. Наличие мощного закрытого сфинк-

тера между средним и задним отделами препятствует постепенному и непрерывному перемещению пищи к анусу. Поскольку пища встречается в заднем отделе кишечника через 2 ч после начала питания, то первая дефекация, по-видимому, происходит приблизительно через 2 ч после начала питания.

Наблюдения показали, что если личинки по каким-то причинам прекращают питаться, то через 17-24 ч в их кишечниках пища не обнаруживается, даже если ранее они содержали десятки пищевых частиц.

С 3-суточными личинками при 18-19°C был поставлен опыт по выяснению скорости освобождения кишечника от пищи. Личинки 2 ч питались *Procosentrum* при освещенности 1000 лк. К концу экспозиции из 8 исследованных личинок 7 было с пищей, при средней наполненности (для питающихся) 17,4 клеток водоросли на личинку. После

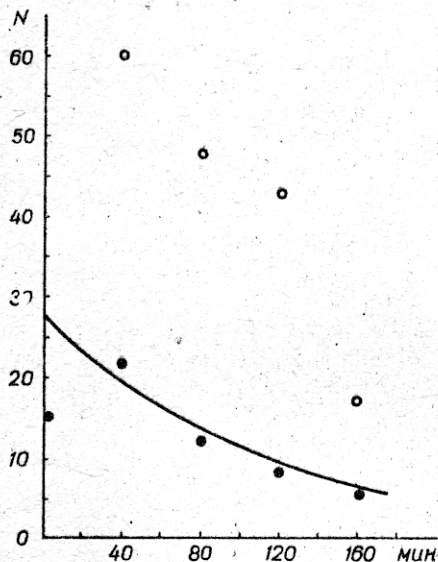


Рис. 7. Характер уменьшения численности водорослей в кишечнике личинок после прекращения питания:

● — средняя наполненность кишечника для питавшихся;
○ — максимальная наполненность.

этого 40 личинок перенесли в воду без корма и поместили в темноту. Далее 10 личинок исследовали через 40, 80, 120 и 160 мин. Результаты этих исследований приведены на рис. 7, где отражено изменение средней наполненности для питающихся (т.е. не учтены личинки без пищи) и максимальное количество корма, встречаемое у личинки в выборке.

Используя данные по средней наполненности кишечника у личинок, методом наименьших квадратов построили кривую по модели Рашевско-го [17]. Эта модель предполагает, что после прекращения питания скорость изменения количества пищи в кишечнике ($\frac{dx}{dt}$) пропорциональна наполненности (x)

$$\frac{dx}{dt} = -\mu x; \quad x = x_0 e^{-\mu t},$$

где x — исходная наполненность; μ — коэффициент пропорциональности. Вычисленное значение $\mu = 8,6 \cdot 10^{-3}$. В этой модели показатель $1/\mu$ отражает среднее время пребывания порции пищи в кишечнике. Получаем $1/\mu = 117$ мин. Согласно модели, пища в среднем находится в кишечнике 2 ч, что согласуется с приведенными выше сведениями. Попытки определить время переваривания корма по наблюдениям за содержанием кишечника дали неоднозначные результаты. При температуре 19°C через 25 мин после начала питания личинок (корм *Progosentrum*) в кишечниках встречаются отдельные полупустые клетки, через 35 мин — пустые. Через 50 мин количество пустых клеток увеличивается. При 17°C пустые клетки *Progosentrum* встречали через 90 мин, пустые створки велигеров — через 110 мин после начала питания. В то же время большая часть пищи, встречающаяся в заднем отделе кишечника, находится в начальных стадиях разложения, со значительным количеством хлорофилла и плазмы.

В описанном выше опыте по скорости выведения пищи через 160 мин после прекращения питания большинство клеток в кишечниках не были пустыми, хотя средняя наполненность к этому времени составляла 5,4 клетки на личинку. Наблюдения показали также, что *Gyrodinium fis-*
 ium переваривается гораздо хуже, чем *Progosentrum*. Хотя иногда обнаруживали пустые клетки *Gyrodinium*, но, как правило, они в кишечниках регистрируются сохранившими исходную яркую окраску хлоропластов и не обнаруживают явных признаков разрушения.

У личинок *Palaeoligetes olivaceus* время переваривания пищи снижается с возрастом: 10-суточные личинки переваривают корм за 3-4 ч [17].

Реакция личинок на свет в связи с питанием

Кратковременные опыты по реакции личинок на свет проводили в кристаллизаторе с черными стенками, который накрывали стеклянной крышкой, разделенной на 4 сектора, в разной степени затененные слоями полиэтиленовой пленки и бумаги. Если 2-3-суточные личинки содержались (температура $16-18^\circ\text{C}$) при освещенности 100-150 лк, а затем помещались под лампу такой мощности, что в секторах 1-4 создавалась

освещенность соответственно 1000, 750, 400 и 100 лк, то через 10 мин большинство личинок оказывалось в секторе 4, а через 1-2 ч (после некоторого привыкания) - приблизительно поровну распределялись в секторах 3-4. Если после этого максимальную освещенность уменьшали до 150 лк, то за 0,5 ч многие личинки собирались в наиболее освещенный сектор 1.

Влияние освещенности на скорость потребления пищи четко выявляется по результатам 24-часового опыта, поставленного на 3-4-суточных личинках при температуре 18-19°C и концентрации корма (*Procosentrum*) 200 экз./мл (табл.2).

Таблица 2

Влияние уровня освещенности на скорость потребления
пищи личинками

Время экспозиции, ч	2			24		
Освещенность, лк	13000	1000	200	13000	1000	200
Число исследованных личинок	18	16	16	23	14	10
Процент питающихся	56	19	12	83	64	60
Средняя наполненность (для питающихся)	3,4	2	1	8	4,1	3,3
Максимальная наполненность	15	2	1	28	11	9

Освещенность в 13 тыс. лк не только не угнетает 3-4-суточных личинок, но приводит к наиболее высокому показателю интенсивности питания, по сравнению с освещенностью в 1000 и 200 лк. Наконец, опыты длительностью 6 ч по выяснению влияния концентрации *Procosentrum* на скорость питания, в которых обнаружена весьма высокая скорость потребления пищи, были поставлены при освещенности 8 тыс. лк на 4-суточных личинках.

Личинки *Paralichthys olivaceus* начинают питаться утром с увеличением освещенности и прекращают рано вечером [47]. Но если аквариумы освещены искусственно, то личинки питаются до полуночи.

Данные разных авторов по длительному выращиванию личинок *Pleuronectes platessa paralichthys olivaceus* в экспериментальных условиях показывают, что наиболее благоприятным кормом являются науплиусы артемии, либо другая животная пища сходных размеров [2-57].

Наши опыты по содержанию и кормлению личинок черноморского калкана показали, что в возрасте до 2 недель они не способны заглатывать науплиусы артемии. Необходимо, по-видимому, при выращивании личинок черноморского калкана последовательно использовать

водоросли и мелких животных (размером до 100 мк), а позже науплиусы артемии. Наиболее сложный этап работы - массовое разведение мелкого животного корма: коловраток, науплиальных стадий копепод, велигеров мидий и т.д.

Л и т е р а т у р а

1. Тен В.С. О трофическом взаимодействии примитивных пар хищник-жертва у водных организмов. - В кн.: Структура и динамика водных сообществ и популяций. "Наукова думка", Киев, 1967, стр.13-43.
2. Шелбурн Дж.Е. Искусственное разведение морских рыб. М., "Пищевая промышленность", 1971.
3. Nordeng H., Bratland P. Feeding of plaice (*Pleuronectes platessa* L.) and cod (*Gadus morhua* L.) larvae. - J. Conseil, 1971, vol. 34, N 1, p. 51-57.
4. Yasunaga Y. Studies on the feeding habit and growth of the plaice *Paralichthys olivaceus*, in the larval stage. - Bull. Tokai reg. fish. res. lab., 1971, vol. 68, p. 31-44.
5. Yasunaga Y. The development of the digestive gland of the plaice larva, *Paralichthys olivaceus*. - Bull. Tokai reg. fish. res. lab, 1972, vol. 69, p. 75-90.
6. Wyatt T. Some effects of food density on the growth and behaviour of plaice larvae. - Mar. Biol., 1972, vol. 14, N 3, p. 210-216.

ПЕРСПЕКТИВА МАССОВОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МОРСКИХ КОПЕПОД В КАЧЕСТВЕ ЖИВОГО КОРМА ДЛЯ РЫБ

Л.И.Сажина

(ИНБЮМ АН УССР, Севастополь)

Культивирование водных беспозвоночных получило широкое развитие в связи с возрастающей потребностью искусственного разведения рыб. Введение в эксплуатацию крупнейших гидросооружений, расположенных в непосредственной близости от устьев рек, возрастающее радиоактивное, нефтяное и бытовое загрязнение - все это изменило условия естественного воспроизводства рыбных запасов. Поэтому необходимо создавать искусственные водоемы и рыбозаводы для выращивания морских рыб, что требует мощной кормовой базы. Многолетняя практика прудового и форелевого хозяйства показала, что наиболее высокие результаты можно достичь применяя живые корма.

"Мы можем ожидать значительных успехов как в экспериментальном, так и в полевом культивировании морских организмов в текущем десятилетии", - сказал Отто Кинне. Он считает, что все морские организмы рано или поздно могут служить объектами искусственного разведения.

Неудачи следует объяснить или плохой разработкой методики, или недостаточностью финансирования этих работ [9].

Трудность культивирования животных в массовом количестве заключена в переходе от многочисленных удачных экспериментов лабораторного содержания к промышленному разведению. Особенно трудно культивировать веслоногих рачков — основного корма рыб-планктофагов вследствие крайней чувствительности к малейшим изменениям окружающей среды. Трудность содержания копепод в лаборатории — большое препятствие для изучения их экологических и биологических особенностей, поэтому культивирование этих организмов в массовых масштабах крайне затруднительно.

В настоящее время выявлены общие принципы содержания и разведения рачков в лабораторных условиях. Эти принципы способствуют выработке технологии массового разведения планктеров для использования их в качестве живого корма личинок рыб в морских рыбоводческих хозяйствах. Полученный сдвиг в культивировании можно охарактеризовать как переход от чашечного метода содержания организмов на уровень сложных установок с контролируемыми условиями среды. Особенно хорошо это видно при сравнении работ, представленных в методике культивирования беспозвоночных животных, изданной в Нью-Йорке в 1937 г. (*Culture methods for invertebrate animals*, New York, 1937) и работ, доложенных в Киле в 1969 г. Если раньше беспозвоночные содержались в чашках с объемом воды 250–500 см³ и длительность культивирования не превышала нескольких дней, то объем камер для содержания животных в установках, разработанных в последние годы, увеличился до 100–200 л, а длительность наблюдений возрасла до 3–6 лет.

В 1958 г. длительное содержание копепод в лабораторных условиях считалось неразрешимой проблемой. Так, Рае [12] доказывал невозможность длительного культивирования типичных океанических копепод из-за возникших проблем смены воды, обеспечения пищей, массовой гибели во время линек. А в 1966 г. Циллу и Вильсон [14] опубликовали сообщение о годичном содержании в лаборатории *Acartia tonsa* и последовательном получении 12 генераций. Муллин и Бруко [17] смогли получить 7 генераций *Rhincalanus nasutus* и *Calanus helgolandicus*. Наконец, в 1968 г. Коркетт и Урри [7] опубликовали данные о шестилетнем содержании *Pseudocalanus elongatus* при различных температурах и концентрациях пищи.

Дальнейшие многочисленные наблюдения показали, что температура, соленость, свет, кислород оказывают решающее влияние на выживае-

мость и репродукционную активность копепод в культивируемых условиях. Кроме того, большие затруднения в разведении пелагических копепод оказывает чрезмерное развитие микроорганизмов в культурах. Для устранения микроорганизмов, в культуры добавляли антибиотики или применяют предварительную стерилизацию посуды. Оказалось, что некоторые материалы, употребляемые для постройки аквариумов и протоков, отрицательно влияют на выживаемость морских копепод. Бисокотоксичными оказались поливиниловые хлориды и натуральная резина. В контакте с морской водой нейтральными оказались стекло-пирекс, полиэтилен, полипропилен, тефлоны, поликарбонаты, полистеролы [6].

В настоящее время имеются сведения об удачном культивировании копепод в лабораторных условиях.

Методика культивирования, примененная Муллином и Бруксом, сравнительно проста. Рачков содержали в 19-литровых сосудах с профильтрованной морской водой при 12°C. Для питания регулярно добавляли смесь диатомовых водорослей: *Cyclotella nana*, *Thalassiosira fluviatilis*, *Ditylimum brightwellii*, иногда *Coscinodiscus walleisii*, из расчета от 1 до 5 мг С/л. В пищевую смесь, употребляемую копеподитными стадиями и взрослыми особями, добавляли чистую культуру науплиусов *Artemia salina*. Вода в сосудах перемешивалась винтом, прикрепленным около дна и вращающимся со скоростью 2 об/мин. Одновременно в воду проводили пузырьки воздуха для аэрации. Ежедневно сифоном сливали большую часть воды из каждого сосуда. Оставшуюся воду вместе с организмами выливали в кристаллизатор, определяли под микроскопом стадии развития рачков и вместе с водой перемещали в чистый сосуд со свежей средой. Развитие бактерий предотвращали введением сульфата стрептомицина или пенициллина "G" в количествах 50 мг/л. Исходным материалом при культивировании послужили 50-60 рачков III и IV копеподитных стадий. Всего получено 7 генераций, установлена продолжительность развития одной генерации, определены плодовитость, скорость роста, темп выедания водорослей.

Не менее интересные результаты получены Катонем [8]. Выведение культуры *Eurytemora affinis* он начал с 20 половозрелых самок, взятых из планктона залива Вудс-Хоул. Рачков содержали в 3-литровых сосудах при 15 и 22°C. В данном случае оправдал себя метод изолирования самок, выдержанных некоторое время в стерильной среде. Пищей служили водоросли, очищенные от бактерий из расчета 100 тыс. клеток/мл: *Isochrysis galbana*, *Cyclotella nana*, *Platymo-*

nas sp., *Skeletonema costatum*. С количественным ростом популяции организмы отсаживали в другие сосуды. За два года популяция достигла 10 000 экз., помещающихся в нескольких 5-литровых сосудах. Каждные две недели рачков отфильтровывали, меняли воду, добавляли новую пищу. Выяснены продолжительность развития одной генерации, плодовитость и влияние температуры и солености на процессы размножения.

Итальянский ученый Нассонье [11], культивируя пелагическую гарпактициду *Euterpina acutifrons* 6 лет, получил 100 генераций. Рачков помещали по 10-15 экз. в колбы Эрленмейера объемом 20 л. *E. acutifrons* обладает высоким темпом размножения, коротким периодом развития (23 дня) и в конце культивирования концентрация в каждом сосуде достигала 10 000 экз./л. Пищей служили: *Flagellata* - *Platymonas suecica*, *Dicrateria* sp., *Platymonas* sp., *Dinoflagellata* - *Gymnodinium* sp., *Diatomea* - *Phaedactylum tricornutum*. Морскую воду профильтровывали через бумажный фильтр, автоклавировали при 12°C и 0,5 ат, добавляя антибиотики (0,1 мг/л пенициллина или 37 мг/л компонента ЕДТА). Воду аэрировали с помощью электрической помпы. В термостатной комнате, где были установлены сосуды, 12 ч поддерживали постоянную температуру (18°C) и слабое освещение. Среду культуры меняли регулярно раз в неделю или в месяц, отсасывая сифоном. Определяли влияние концентрации пищи на скорость роста и развития.

Наиболее удачный метод культивирования применен Циллу [13] с помощью разработанной им замкнутой циркуляционной системы. Схема этой установки довольно проста. Рачков *Acartia clausi* и *A. tonsa* длительное время содержали при высокой плотности. Морская вода, очищенная через фильтр, поступает в 2 культуральных танка объемом по 100 л. Из танков она поступает в башню (foam separation), в которой насыщается воздухом и растворенным органическим веществом. Далее через стеклянный фильтр она поступает в нижний резервуар, откуда помпой накачивается в верхний резервуар, снова протекая через два фильтра (15 и 0,45 мкм). Пищу давали два раза в неделю в виде смеси *Phadomona baltica* и *Isocryptus galbana* в количестве 100 тыс. экз./л. Температура была постоянной и равна 15°C, освещение 1500 лк. Культивирование, начатое с 40 экз. в каждом танке, за 10-14 мес. привело к увеличению численности до 38 000 экз./л. Одно погружение 190 см³ кристаллизатора захватывало около 1000 рачков различных стадий.

Таким образом, для успешного культивирования копепод необходимо следующее.

1. Достаточный объем воды (не менее 30-50 мл на организм).
2. Постоянный температурный, солевой, кислородный и световой режимы.
3. Обеспеченность пищей.
4. Отсутствие бактерий (стерильность среды).

В Институте биологии южных морей АН УССР разработана методика длительного содержания в лабораторных условиях черноморских копепод [2] и созданы установки с автоматически контролируемыми температурами. Знание жизненных циклов черноморских копепод [3-5] позволяет рекомендовать для массового культивирования три вида: *Pontella mediterranea*, *Acartia clausi*, *Oithona nana*.

Pontella mediterranea Claus

Крупный рачок интенсивной синей окраски обитает в гипонейстоне Черного моря летом. В процессе онтогенеза длина тела науплиусов последовательно изменяется от 0,16 до 0,88 мм, копеподитов - от 0,88 до 2,16 мм. Средняя длина самок 2,85, самцов 2,44 мм. Половозрелые самки откладывают яйца непосредственно в воду по 35-40 шт. с интервалом в двое суток. Яйца светлые, гладкие, диаметром 0,13-0,14 мм. Максимальная продолжительность половой активности самок не менее 1,5 мес., поэтому число кладок одной самкой не превышает 22, и ее индивидуальная плодовитость в среднем равна 880.

Продолжительность полного цикла развития рачка в экспериментальных условиях определена при 21-23°C. В условиях Черного моря *P. mediterranea* Claus образует 4-5 генераций, если предположить, что интенсивность размножения теплолюбивых видов равномерна на всем протяжении существования популяции в море. Потенциальная плодовитость *P. mediterranea* равна $7 \cdot 10^{10}$. Под потенциальной плодовитостью принимается общее число потомков, которое может появиться от одной самки и ее потомства на протяжении 1 года, если условия размножения популяции оптимальные и гибель практически отсутствует, а соотношение полов 1:1. Средний вес тела одной самки, умноженный на потенциальную плодовитость (350,7 тыс.) дает представление о колоссальных возможностях получения оырой биомассы. Приведенная цифра безусловно завышенная, она только определяет порядок величин, так как какой-то процент гибели популяции, конечно, будет. С наступлением неблагоприятных условий самки *P. mediterranea* откладывают

покоящиеся яйца. Плотная оболочка, окружающая яйцо, предохраняет его от влияния неблагоприятных условий и способствует выживанию вида с улучшением их.

Acartia clausi Giesbrecht

Массовый рачок эпиланктонного комплекса обитает в море круглый год. Наибольшая численность рачка в летние месяцы достигает 8020 экз./м³, сохраняется высокой весной (4428 экз./м³), осенью и зимой.

Длина тела науплиусов последовательно увеличивается от 0,12 до 0,24 мм, копеподитов от 0,24 до 0,99 мм. Средняя длина тела самок 1,20, самцов 1,18 мм. Каждая половозрелая самка откладывает около 20 яиц с 5-6-дневной периодичностью. Яйца светлые, гладкие диаметром 0,08 мм. Максимальная продолжительность половой активности самок 2,5-3 мес., в течение которого она делает 13-15 кладок. Следовательно, индивидуальная плодовитость *A. clausi* составляет 260 яиц. Длительность развития одной генерации около 1 мес. в лабораторных условиях при 20-22°C. В Черном море *A. clausi* образует 9 генераций. Длительность отдельных генераций неодинакова в году. Каждая новая генерация летнего и осеннего периодов появляется через 1 мес., зимнего - через 2, весеннего - через 1,5 мес. Потенциальная плодовитость этого рачка выражается числом $21 \cdot 10^{18}$, при пересчете на биомассу она дает 103-110 т сырого вещества в год.

Oithona nana Giesbrecht

Мелкий циклопоидный рачок эпиланктонного комплекса круглогодично обитает в планктоне Черного моря. Это наиболее многочисленный представитель планктона, достигающий максимального количества в период осеннего размножения (15 743 экз./м³). Зимой численность его снижается до 6194 экз./м³, оставаясь довольно высокой в другие времена года. Длина тела науплиусов последовательно изменяется от 0,05 до 0,15 мм, копеподитов от 0,15 до 0,46 мм. Средняя длина тела самок 0,52, самцов 0,49 мм. Самки вынашивают яйца в двух мешках, прикрепленных к генитальному сегменту. Число яиц в одном мешке в среднем равно 10. Яйцевые мешки образуются через 5-6 суток. Продолжительность половой активности самок равна 2,5 мес. и, как правило, не превышает 3 мес., в течение которых самка образует 13 пар яйцевых мешков. Индивидуальная плодовитость рачка равна 260. Продолжительность развития одной генерации 1,5 мес. в экспериментальных условиях при 11-14°C. В Черном море рачок образует 7-8 генераций. В летнее время генерации образуются через каждый месяц, осенью и вес-

ной через 40 дней, зимой через 2 мес. Потенциальная плодовитость вида выражается $12 \cdot 10^{14}$, что в пересчете на сухой вес равняется 360 т сухой биомассы.

Основное значение в питании личинок черноморских рыб, как правило, имеют только 2-3 вида. У большинства видов "излюбленные" формы - науплиальные личинки копепод, копеподитные и половозрелые формы *Oithona nana*. Суммарные рационы личинок разных видов колеблются от 4 до 48% от веса тела. Самой высокой интенсивностью питания характеризуются личинки ставриды. Максимальное потребление корма личинкой ставриды длиной 5 мм равно 44,7% от веса тела, что составляет 0,21586 мг сырого веса [17]. С ростом личинок относительное потребление пищи уменьшается.

Таким образом, ракообразные, сравнительно благополучно переносящие экспериментальные условия, обладают высоким темпом воспроизводства и могут быть прекрасным кормом для рыб-планктофагов.

Л и т е р а т у р а

1. Дехник Т.В., Лука Л.А., Калинина Э.М., Овен Л.С., Салехова Л.П., Синюкова В.И. Размножение и экология массовых рыб Черного моря на ранних стадиях онтогенеза. "Наукова думка", Киев, 1970.
2. Сажина Л.И. Методика лабораторного содержания массовых пелагических *Copepoda*. - Зоол. журн., 1968, т. 47, № 11.
3. Сажина Л.И. Плодовитость массовых пелагических *Copepoda* Черного моря. - Зоол. журн., 1971а, т. 50, № 4.
4. Сажина Л.И. Годичный цикл развития массовых *Copepoda* в Черном море. - Гидробиол. журн., 1971б, т. 7, № 5.
5. Сажина Л.И. Соотношение полов и продолжительность жизни черноморских веслоногих рачков - *Copepoda* (Crustacea) в лабораторных условиях. - Вестн. зоол., 1972, № 3.
6. Bernhard M., Zotteri A. The importance of avoiding chemical contamination for a successful cultivation marine organisms. - Helgoländer Wiss. Meeresunt., 1970, vol. 20.
7. Corkett C.J., Urry D.L. Observations on the keeping of adult female *Pseudocalanus elongatus* under laboratory conditions. - Journ. Mar. Biol. Ass., 1968, vol. 48, N 1.
8. Catona S.K. Growth characteristics of the *Copepoda Eurytemora affinis* and *E. herdmanni* in laboratory cultures. - Helgoländer Wiss. Meeresunt., 1970, vol. 20.
9. Kinne O. International Symposium "Cultivation of marine organisms and its importance for marine biology". Opening and closing address. - Helgoländer Wiss. Meeresunt., 1970, vol. 20, N 1-4.
10. Mullin M., Brooks E. Laboratory culture, growth rate and feeding behavior of a planktonic marine Copepod. - Limnol. and Oceanogr., 1967, vol. 12, N 4.
11. Nassogne A. Influence of food organisms on the development and culture of pelagic copepods. - Helgoländer Wiss. Meeresunt., 1970, vol. 20.

12. Rae K.M. Parameters of the marine environment. Perspectives in marine biology. Univ. Calif. Press, Berkeley, 1958.

13. Zillioux E.J. A continuous recirculating culture system for planktonic copepods. - Marine Biol., 1969, vol. 4, N 3.

14. Zillioux E., Wilson D. Culture of a planktonic Calanoid Copepod through multiple generations. - Science, 1966, vol. 151, N 3713.

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие	8
Попова В.П. Исследования биологии камбалы-калкана в связи с вопросами ее искусственного воспроизводства	5
Чепурнов А.В., Ткаченко Н.К., Денисова Л.И.К вопросу о морфофизиологической изменчивости камбалы-калкана Черного моря на ранних этапах онтогенеза в связи с проблемой искусственного разведения	12
Иванов В.Н. Получение икры камбалы-калкана для инкубации в лабораторных условиях. Опыт массовой инкубации экспериментального материала	21
Попова В.П., Романенко В.Ф. Методика получения, инкубации и подращивания личинок камбалы-калкана в экспериментальных условиях	24
Таликина М.Г. Сперматогенез и половой цикл самцов камбалы-калкана (<i>Scorpthalmus maeoticus</i> Pallas)	30
Воробьева Н.К., Таликина М.Г., Золотницкий А.П. Исследование созревания самок черноморской камбалы-калкана (<i>Scorpthalmus maeoticus</i> Pallas) в экспериментальных условиях	42
Иванов В.Н. Вопросы цитогенетики камбалы-калкана в связи с возможностями ее искусственного разведения	51
Заика В.Е., Иванов В.Н. Опыт содержания и кормления личинок камбалы-калкана в лабораторных условиях	54
Сажина Л.И. Перспектива массового культивирования морских копепод в качестве живого корма для рыб	66

Академия наук Украинской ССР
Ордена Трудового Красного Знамени
Институт биологии южных морей им. А.О.Ковалевского

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ МОРСКОЙ АКВАКУЛЬТУРЫ

Выпуск I

Черноморская камбала-калкян *Scophthalmus maoticus maoticus* (Pallas) как объект искусственного разведения

Печатается по постановлению ученого совета
Института биологии южных морей им. А.О.Ковалевского АН УССР

Редактор Т.В.Кацовенко
Оформление художника Е.И.Муштенко
Художественный редактор Н.И.Возный
Технический редактор Р.Э.Хазирова
Корректор Л.С.Опенько

Подписано к печати 7.ШІ 1975г. ВФ 00971. Бумага тип. № 3, 60x84 1/16.
Усл. печ. листов 4,3. Уч.-изд. листов 4,73. Тираж 500. Зак. № 5-185.
Изд. № 724И. Цена 28 коп.

Издательство "Наукова думка". Киев, Реяна, 3.
Киевская типография научной книги республиканского производственного
объединения "Полиграфкнига" Госкомиздата УССР. Киев, Реяна, 4.