

УДК [597-146.5:57.086.13]:[639.3.034:556.114]
ББК [28.693.32-6:28.071.24]:[28.082.1:47.285]

А. М. Тихомиров, А. В. Фирсова

ДЕЙСТВИЕ ВОДЫ НА ЯЙЦЕКЛЕТКИ РЫБ РАЗНЫХ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ ГРУПП

A. M. Tikhomirov, A. V. Firsova

EFFECT OF WATER ON THE FISH OVUM OF DIFFERENT ECOLOGICAL GROUPS

Обобщены исследования авторов о строении женских половых продуктов рыб, принадлежащих к разным экологическим группам (литофильная, фитофильная, пелагофильная). Дается анализ влияния воды на яйцеклетки рыб, а также её роли в их жизнедеятельности. Установлено, что по внешнему строению яйцеклетки рыб разных экологических групп существенно различаются между собой. Однако внутреннее строение их во многом сходно. Так, по периферии у икринок всех трех типов располагаются жировые вакуоли, а в центре находятся желточные вакуоли. Показано, что при контакте с водой неоплодотворенные яйцеклетки начинают изменять свое строение. Внешне эти изменения проявляются по-разному у разных видов рыб: у некоторых рыб икринки становятся клейкими (белуга, карп), у других они набухают и увеличиваются в размерах в несколько раз (толстолобик). Происходящие внутренние перестройки органелл и дальнейшее дробление во всех случаях сходны. Вследствие этого возможно считать доказанным, что вода при контакте с яйцеклетками исследованных видов рыб является источником активации внутренних перестроек, в результате которых жировые вакуоли смещаются к микропиле, а желточные вакуоли, сливаясь, укрупняются.

Ключевые слова: икра, вода, внутренние перестройки, карп, толстолобик, белуга, желточные вакуоли, жировые вакуоли, криоконсервация, экологические группы рыб.

The researches of the authors about the structure of female sexual products of the fishes belonging to different ecological groups (lithophile, phytophile, and pelagophile) are generalized. The analysis of influence of water on ova of fishes and also its role in their vital activity is given. It is established that an ovum of fishes of different ecological groups significantly differ among themselves in the external structure. However, their internal structure is in many respects similar. So all three types of eggs have fatty vacuoles on the periphery and there are ovular vacuoles in the center. It is shown that during the contact with water impregnated ova start changing the structure. Externally these changes are shown differently in different types of fishes: some eggs (beluga, carp) have glutinosity, and others become swelled and increased in size in several times (silver carp). Occurring internal reorganizations of organoids and further crushing in all cases are similar. Thus, it is possible to take for granted that water at contact with ova of the studied species of fish is a source of activation of internal reorganizations, as a result of which fatty vacuoles are displaced to a micropyle, and ovular vacuoles, merging, are integrated.

Key words: eggs, water, internal reorganizations, carp, silver carp, beluga, ovular vacuoles, fatty vacuoles, cryopreservation, ecological groups of fish.

Введение

Вода – неотъемлемый источник жизни. Это вещество обладает уникальными свойствами, благодаря которым обеспечивает деятельность всего живого на Земле. Вместе с тем не всегда вода является благом. Так, при кристаллизации вода, как метастабильная система, разрушает животные и растительные клетки [1].

Из основ биологии клетки известно, что клетки на 70–90 % состоят из воды, однако это неверно. Необходимо понимать, что вода, как «универсальный» растворитель, не может существовать в клетках отдельно, она создает так называемые биологические суспензии, которые в твердом состоянии ведут себя иначе, чем чистая вода. И тем не менее, согласно А. Н. Невзорову [1], в некоторых животных и растительных клетках существует небольшое количество (до 15 %) «свободной незамерзающей» воды, необходимой для обеспечения окислительно-восстановительных реакций при их жизнедеятельности. Вот эта вода и является источником разрушения мужских половых клеток рыб при криоконсервации. Для защиты последних разработаны составы криозащитных сред, которые успешно применяют при создании коллекций генофонда рыб.

Однако задача глубокой заморозки яйцеклеток рыб до сих пор не решена, т. к. криобиологи считают, что в икринках рыб также находится «свободная незамерзающая» вода. Однако они не оценивают роль воды в их жизнедеятельности, которую необходимо учитывать при разработке методов криоконсервации икринок.

С. Г. Крыжановский [2], на основании изучения особенностей эмбрионального и постэмбрионального развития рыб, а также характера нереста, установил следующие экологические группы рыб: литофилы (откладывают икру на каменистых и гравийных грунтах), фитофилы (на растительном субстрате), пелагофилы (выметывают икру в толщу воды, и весь период эмбрионального развития икра находится в плавающем состоянии), псаммофилы (нерестятся на участках с песчаным дном, откладывая икру на подмытые корни растений по краям зарослей), остракофилы (откладывают икру в мантийную полость двустворчатых моллюсков). С. Г. Крыжановский выделяет также несколько промежуточных форм.

Несмотря на существующее разнообразие способов оплодотворения у рыб, связанное с их биологией и адаптациями к условиям окружающей среды, мы выделяем и рассматриваем действие воды на икру трех типов рыб, культивируемых в России: литофилы, фитофилы и пелагофилы.

Целью исследований являлось изучение и сравнение строения женских половых продуктов рыб, принадлежащих к разным экологическим группам, а также изучение роли воды в их жизнедеятельности, что является основой для разработки методики криоконсервации.

Материал и методы исследований

Работы проводили в лаборатории «Криотехнологии в аквакультуре» Астраханского государственного технического университета в 2012–2013 гг. в периоды нерестовых кампаний. Заготовку икры белуги (литофильный тип) осуществляли на ООО «Астраханская рыболовная компания «Белуга», яйцеклетки карпа (фитофильный тип) и белого толстолобика (пелагофильный тип) – на Волжском рыболовном заводе ООО «Биоресурсы». Половые продукты от производителей белуги получали прижизненно, путем подрезки яйцеводов, икру от карпа и толстолобика – методом сцеживания.

Строение нативных яйцеклеток регистрировали под биноклем с верхней подсветкой и фотографировали с использованием видеоприставки «Микро-Viev» ТСА-5К на всех стадиях работ. Пробы с икрой (по 100–150 шт.) помещали в чашки Петри и заливали их технологической водой из рыболовных бассейнов. Контрольные партии оплодотворяли спермой соответствующих видов рыб. Через 15 минут вновь регистрировали состояние яйцеклеток. За выходной показатель принимали количество приклеенных икринок после активации, согласно методике Е. М. Коханской [3]. Исследования всех видов рыб проведены в трех повторностях. Различия между результатами опытных и контрольных партий оценивали с применением *t*-критерия Стьюдента.

Результаты исследований и их обсуждение

Икра белуги имеет округлую форму диаметром до 4 мм. Цвет яиц коричневатого-серый. Яйцеклетка одета тремя оболочками – двумя желточными и поверхностной студенистой [3, 4].

Икра карпа имеет зеленоватый цвет, очень клейкая, т. к. в природе она прикрепляется на корни растений или другие предметы, расположенные под водой. По сравнению с икрой осетровых икра карпа мелкая. Зрелые икринки имеют диаметр 1,0–1,5 мм [4].

Толстолобик нерестится на течении в местах с водоворотами. Икра пелагическая, в воде набухает и увеличивается в размерах. Икринки белого толстолобика не имеют определенного цвета, они, скорее, прозрачные. Диаметр неоплодотворенной яйцеклетки 1,0–1,2 мм, после набухания увеличивается до 5 мм [2].

Таким образом, изучив внешнее строение яйцеклеток рыб разных экологических групп, можно сделать вывод о том, что их яйцеклетки существенно различаются между собой по цвету и размеру. Однако их внутреннее строение во многом сходно. Так, по периферии у яйцеклеток рыб всех трех групп располагаются жировые вакуоли – энергетические депо, роль которых – обеспечение эмбриогенеза. В центре находятся желточные вакуоли, обеспечивающие энергетические затраты при развитии свободных эмбрионов. Можно заметить, что вакуоли заполняют всю клетку равномерно (рис. 1).

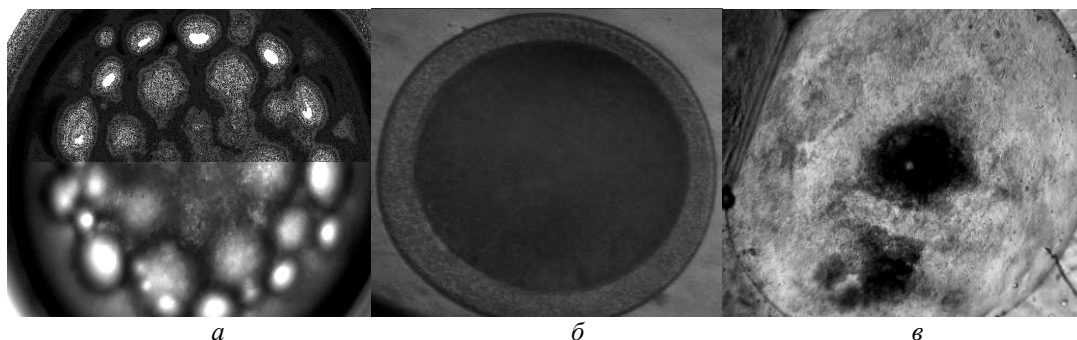


Рис. 1. Нативная икра: *а* – белуга; *б* – карп; *в* – толстолобик

По истечении 10–15 минут после помещения опытной и контрольной партий икры в воду наблюдали, что икринки белуги и карпа становятся клейкими. Среднее количество приклеенных икринок составило $95 \pm 0,5 \%$ в опытной группе, $97 \pm 0,5 \%$ – в контрольной. Икра толстолобика находилась в чашке Петри в плавающем состоянии. Достоверные различия в опытных и контрольных партиях отсутствуют. В то же время во всех партиях яйцеклеток происходят перестройки органелл. Жировые вакуоли смещаются к одной из сторон клетки – к месту нахождения микропиле, а желточные вакуоли сливаются и укрупняются (рис. 2).

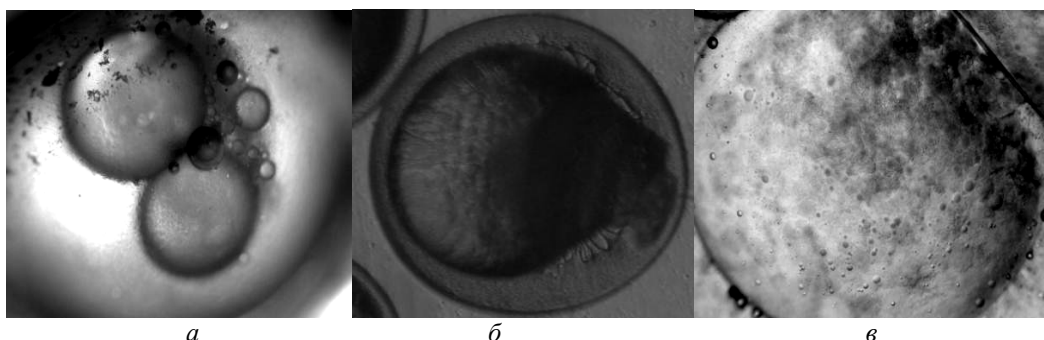


Рис. 2. Яйцеклетки после контакта с водой: *а* – белуга; *б* – карп; *в* – толстолобик

Возможно, это происходит в результате того, что вода является активатором и дает начало для подготовки икринки к оплодотворению. Жировые вакуоли, высвобождая воду, обеспечивают таким образом прохождение биохимических процессов, необходимых для оплодотворения клетки, вследствие чего им необходимо переместиться в район микропиле до оплодотворения [4].

Спустя еще 24 часа было зарегистрировано, что неоплодотворенные икринки начинают дробиться, а затем погибают. Это означает, что хотя яйцеклетки изучаемых нами видов рыб относятся к разным экологическим группам, действие воды на них оказалось одинаковым. Таким образом, вода провоцирует перестройку органелл внутри яйцеклеток.

Заклучение

Таким образом, в ходе исследований показано, что неоплодотворенные яйцеклетки всех экологических групп при контакте с водой начинают изменять свое строение.

Внешне эти изменения проявляются по-разному у разных видов рыб: у некоторых икринки становятся клейкими (белуга, карп), у других набухают и увеличиваются в размерах в несколько раз (толстолобик). Происходящие внутренние перестройки органелл и дальнейшее дробление во всех случаях сходны.

Таким образом, можно считать доказанным, что вода при контакте с яйцеклетками исследованных видов рыб является источником активации внутренних перестроек, в результате которых жировые вакуоли смещаются к микропиле, обеспечивая энергетические затраты эмбриогенеза, а желточные вакуоли, сливаясь, укрупняются и становятся энергетическим депо на стадии свободного эмбриона.

Результаты исследований позволяют выдвинуть следующую гипотезу: для защиты яйцеклеток рыб от разрушений при криоконсервации нельзя использовать традиционные составы криопротекторов, т. к. это водные растворы, а при заморозке необходимо предотвратить контакт икры с водой.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Невзоров А. Н. О внутреннем механизме кристаллизации метастабильной жидкой воды и об его эффектах, влияющих на внутриоблачные процессы / А. Н. Невзоров // Изв. АН РАН. Физика атмосферы и океана. 2006. Т. 42, № 6. С. 830–838.
2. Крыжановский С. Г. Экологические группы рыб и закономерности их развития / С. Г. Крыжановский // Изв. Тихоокеан. науч.-исслед. ин-та рыбн. хоз-ва и океанографии. 1948. Т. 27. С. 3–114.
3. Мильштейн В. В. Осетроводство / В. В. Мильштейн. М.: Легкая пром-сть, 1982. 152 с.
4. Детлаф Т. А. Развитие осетровых рыб (созревание яиц, оплодотворение, развитие зародышей и предличинки) / Т. А. Детлаф, А. С. Гинзбург, О. И. Шмальгаузен. М.: Наука, 1981. 224 с.

REFERENCES

1. Nevzorov A. N. O vnutrennem mekhanizme kristallizatsii metastabil'noi zhidkoi vody i ob ego effek-takh, vliiaushchikh na vnutrioblachnye protsessy [On internal mechanism of crystallization of metastable liquid water and on their effects influencing the intracloudy processes]. *Izvestiia AN RAN. Fizika atmosfery i okeana*. 2006, vol. 42, no. 6, pp. 830–838.
2. Kryzhanovskii S. G. Ekologicheskie gruppy ryb i zakonomernosti ikh razvitiia [Ecological groups of fishes and the peculiarities of their development]. *Izvestiia Tikhookeanskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta rybnogo khoziaistva i okeanografii*, 1948, vol. 27, pp. 3–114.
3. Mil'shtein V. V. *Osetrovodstvo* [Sturgeon breeding]. Moscow, Legkaia promyshlennost', 1982, 152 p.
4. Detlaf T. A., Ginzburg A. S., Shmal'gauzen O. I. *Razvitie osetrovykh ryb (sozrevanie iaits, oplodotvorenii, razvitie zarodyshei i predlichinok)* [Development of sturgeon (egg maturing, fecundation, ontogenesis of embryo and prelarvae)]. Moscow, Nauka Publ., 1981. 224 p.

Статья поступила в редакцию 10.09.2013

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Тихомиров Андрей Михайлович – Астраханский государственный технический университет; канд. биол. наук; ведущий научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории криотехнологий в аквакультуре; tixomirov41@mail.ru.

Tikhomirov Andrey Mikhailovich – Astrakhan State Technical University; Candidate of Biology; Leading Researcher of the Research Laboratory of Cryotechnologies in Aquaculture; tixomirov41@mail.ru.

Фирсова Ангелина Валерьевна – Астраханский государственный технический университет; магистрант кафедры «Аквакультура и водные биоресурсы»; firsik1991@mail.ru.

Firsova Angelina Valerievna – Astrakhan State Technical University; Master's degree Student of the Department "Aquaculture and Water Bioresources"; firsik1991@mail.ru.