

УДК 637. 512. 7

Наджафов Дж.А., Гасанова А.Т.*Азербайджанский медицинский университет (г. Баку, Азербайджан)***МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПИГМЕНТАЦИИ ГЛАЗ
И НАБУХАНИЕ ИКРЫ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ (*SALMO GAIRDNERI*
RICHARDSON, 1836) В РАННЕМ ЭМБРИОГЕНЕЗЕ**

Аннотация. В работе впервые изучается пигментация глаз и набухание икры радужной форели (*Salmo gairdneri Richardson, 1836*) в раннем эмбриогенезе. Материалы собраны в Чухур-Кабалинском форелевом рыбозаводе, где разводят этих рыб. Начиная с оплодотворения и до вылупления прослежено, как происходит процесс пигментации глаз и набухание икры во время развития зародыша. Установлено, что и пигментация глаз, и набухание икры зависит от факторов внешней среды, особенно от температуры воды. Наиболее высокая степень набухания оплодотворенных икринок отмечается между четырёх- и пятинедельными сроками развития.

Ключевые слова: онтогенез, икра рыб, оплодотворение, эмбриогенез, органогенез, радужная форель.

Dj. Nadjafov, A. Qasanova*Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan***MORPHOLOGICAL FEATURES OF PIGMENTATION OF EYES
AND SWELLING OF RAINBOW TROUT EGGS (*SALMO GAIRDNERI*
RICHARDSON, 1836) IN EARLY EMBRYOGENESIS**

Abstract. We study the pigmentation of eyes and swelling of eggs of rainbow trout (*Salmo gairdneri Richardson, 1836*) in early embryogenesis. The research is performed by using the data of the Chukhur-Kabala fish factory in Azerbaijan. From the beginning of fertilization till the getting out from the egg the process of pigmentation of the eyes and swelling of the eggs during the development of the embryo is traced. It is found that the quality pigmentation of eyes and swelling of eggs depends on environmental factors, especially on the water temperature and oxygen saturation. The maximum degree of swelling of fertilized eggs occurs in the period between fifth and sixth weeks.

Key words: ontogenesis, egg, fertilization, pigment, embryogenesis, organogenesis, rainbow trout, swelling.

В онтогенезе любого организма ранний период развития является очень ответственным периодом, так как именно в этот период закладывается фундамент жизненно полезных морфологических признаков. По-

© Наджафов Дж.А., Гасанова А.Т., 2014.

сле оплодотворения яйца (в данном случае икры) последовательно происходит дробление, гастрюляция, образование бластулы, морулы. Ранний период эмбриогенеза завершается органогенезом. Переход к каждому этому структурному образованию сопро-

ждается приобретением новых морфологических признаков. Не исключается и ранний эмбриогенез радужной форели (*Salmo gairdneri* Richardson, 1836), который является объектом наших исследований. Следует отметить, что в ихтиологической литературе этот вопрос освещен крайне недостаточно [2-6; 11], морфологические особенности пигментации глаз и набухания икры радужной форели (*Salmo gairdneri* Richardson, 1836) в раннем эмбриогенезе никем не исследованы. Цель и задачи нашего исследования заключались в выявлении срока пигментации глаз и набухания икры радужной форели в раннем эмбриогенезе.

Одним из первых признаков развития икры радужной форели является пигментация глаз оплодотворенной икры. Спустя несколько времени после оплодотворения в икринках замечается пятно пигментов. Если в икринках не замечается пигмент, то можно предположить следующее: или икра не оплодотворилась, или же развитие икры под влиянием каких-то отрицательных факторов внешней среды задерживается, что в конечном итоге привело к гибели икры. Пигментация глаз зародышей радужной форели характеризует не только степень развития, но также устойчивость и выживаемость самого зародыша к окружающей среде в раннем эмбриогенезе. Нами сделана попытка выявить сроки начала и интенсификации пигментов глаз радужной форели во время инкубации. Кроме того, было исследовано набухание икры (рост и развитие) со дня оплодотворения до выклева, а также приспособление развивающегося зародыша к изменяющимся условиям обитания.

Материалы и методика исследования

Материалы исследования были собраны в течение 2010-2012 гг. на Чухур-Кабалинском форелевом рыбозаводе, где разводится ручьевая радужная форель. С этой целью, начиная с момента оплодотворения, через каждые 6 дней брались икринки радужной форели и фиксировались в 4 % нейтральном формалине. Икра была получена от зрелых и здоровых производителей (без инъекций каких-либо гормональных препаратов) легким нажатием на брюшко рыбы и сбором икринок в сухую посуду – таз. В таз отцеживали икру от 4-6 самок, после чего её осеменяли молоками от 3-4 самцов. После перемешивания с помощью пучка гусиных перьев, через 2-3 минуты в таз добавляли воду, затем икру снова перемешивали и отмывали от полостной жидкости и сгустков крови. При это икра становилась чистой, а икринки не склеивались друг с другом, как это сделано в ряде подобных работ [1; 2; 7; 8]. Оплодотворенную икру оставляли в покое на 2-3 часа и за это время происходило её первичное набухание.

Перед оплодотворением и после него икру по определенным возрастам взвешивали на электронных весах марки AOSAI, а потом измеряли диаметр под микроскопом фирмы MOTIC. В каждой возрастной группе взвешивали и измеряли диаметры как минимум 10-ти икринок. Такой подход дал основание изучить увеличение относительной массы икринок во время их развития и выявил корреляцию с выживаемостью эмбрионов на стадии пигментации после оплодотворения. Степень набухания икринок устанавли-

ливается следующим образом: через 2-3 часа после оплодотворения, через день, а потом каждую неделю до выклева измеряются диаметры развивающихся икринок и вычисляется разница по отношению к исходному материалу (к неоплодотворенной икре). Полученная разница определяет степень набухания. Температура воды измеряется ежедневно в 7, 13 и 19 ч. Температура воды при инкубации должна составлять не менее 3-4 °С и не более 13-14 °С.

Результаты исследования и их обсуждение

В течение первых суток в оплодотворенных икринках радужной форели между желтком и наружной оболочкой возникает перивителлиновое пространство, занимающее 3,4-15,4 % диаметра икринки, и затвердение прозрачной зоны, из которой образуются оболочки оплодотворения. Икра становится прозрачной (рис. 1А); поверхность всей исследованной икры светлая, размер и форма икринок четко отличаются друг от друга. Следовательно, размер икры зависит от

запаса питательных веществ, находящихся внутри икры, и она способствует нормальному развитию зародышей. В икре на этой стадии еще нельзя заметить какой-либо пигмент (видимо, происходит первичное дробление икры). При вскрытии зародышей видно, что бластомеры уплотняются и отодвигаются к периферии. Образуется бластула, внутри которой имеется полость – бластоцель; желток образует впаивание навстречу накрывающей его бластодерме.

Известно, что яйцо (икра) костистых рыб, в том числе и радужной форели, по характеру распределения в них желтка относится к числу теллецитального типа, а по характеру дробления – к меробластическому типу (неполное дискоидальное дробление). Примерно через 16-18 часов при температуре 6-8 °С начинается стадия дробления. К концу первого дня после оплодотворения в икринке появляется зародыш в виде прозрачной зародышевой полоски, лежащей на желтке. Происходит закладка головного и туловищного зачатков, причём головной конец заметен резче хвоста. На ани-



А



Б

Рис. 1. Икра радужной форели (пигменты ещё не замечены):
А – оплодотворенная икра, Б – однедельно инкубированная икра.

мальном полюсе икринки появляется куполообразный зародышевый диск (бластодиск). Икра особо чувствительна к внешним воздействиям в периоды дробления бластодиска, обрастания и начала формирования эмбриона, образования хвостовой почки и отделения хвоста. Тело зародыша утолщается и увеличивается в размерах, хвостовой отдел оканчивается перед головным, немного не доходя до него. Формируются головной, туловищный, хвостовой отделы тела и основные органы и системы органов: нервная, мышечная, кишечник и т.д. Примерно через 28-30 часов после оплодотворения в головном отделе хорошо виден мозг, причем заметно разделение его на передний и задний отделы, четко различимы слуховые пузырьки; глаза продолговатой формы, ещё не имеющие пигмента. В туловищном отделе происходит сегментация хорды.

Через *неделю* после оплодотворения в икре замечаются следующие морфологические особенности: по-прежнему икра ярко светится, местами замечаются изолированные желтки. На более крупных икринках (рис. 1Б) видны контуры изогнутых зародышей. В данном возрасте икринки значительно отличаются друг от друга по размеру. Кроме того, они отличаются и по цвету, так как мелкие икринки, в отличие от крупных, ярко светятся (видимо, они отстают в развитии). При дальнейшем размножении клеток анимального полюса происходит обрастание желтка: бластомеры как бы сползают в сторону вегетативного полюса, постепенно накрывая его; образуется зародышевый узелок, формируются зародышевые пласты, а из них зачатки органов.

В *двухнедельном* возрасте (рис. 2А)

в некоторых икринках замечается дуговая борозда, изредка в стенках желточного мешка видны кровеносную сосуды. Следует отметить, что уже начинается пигментация глаз, а икринки физически становятся значительно тверже. Это доказывает, что зародыши прочно защищены от воздействий окружающей среды. После вскрытия некоторых икринок в двухнедельном возрасте наблюдается сегментация туловища и хвоста. Зародыш настолько увеличивается, что хвостовой отдел начинает заворачиваться по поверхности желтка, образуя спираль. В головном отделе просматриваются обонятельные ямки, глазные бокалы, хрусталики, отолиты. В глазах появляется точечный меланин, свидетельствующий о начале пигментации.

Развитие *трехнедельной* икры радужной форели можно характеризовать следующим образом. Без каких-либо увеличительных приборов видно (рис. 2Б), что из 9-ти икринок на фотографиях в четырех ярко бросаются в глаза черные пигменты, а в одной икринке это особенно заметно. Полученные данные показывают, что между инкубированными икринками в отношении степени развитости имеются определенные эмбриологические градиенты. Кроме того, начинается массовая пигментация глаз всех инкубированных икринок. В этом возрасте появляются пигментные клетки над кишечной трубкой, которые впоследствии покрывают головку зародыша, спинной и хвостовой отделы и желточный мешок. Пигментные клетки (меланофоры) крупные, лежат близко друг к другу (группами). Практически во всех икринках замечаются кровеносные сосуды желточного мешка.



А



Б

Рис. 2. Появление пигментов в икре: А – двухнедельно инкубированная икра, Б – трехнедельно инкубированная икра.

Следом начинает функционировать эмбриональная дыхательная система. Так как дефинитивные органы дыхания ещё не сформированы, то дыхательную функцию выполняет сеть кровеносных сосудов: Кьювьеровы протоки (лежащие на передней части желточного мешка), нижняя хвостовая вена (в хвостовом отделе тела), сеть сегментальных сосудов в плавниковой кайме (в анальной её части). В токе плазмы крови появляются форменные элементы; заканчивается сегментация тела; усиливается пигментация глаз. Исследование инкубации *четырёхнедельной* икры радужной форели (рис. 3А) показывает, что практически во всех икринках довольно ясно видна пигментация глаз, однако, как в предыдущем возрасте, степень пигментации глаз отдельных икринок отличается друг от друга. У довольно сильно пигментированных икринок достаточно хорошо развиваются и кровеносные сосуды в желточных мешках, видимо, у этих икринок обмен веществ и газообмен происходит на высоком уровне.

Результаты морфологических описаний ранних стадий зародыша радужной форели говорят о наличии прямой корреляции между пигментацией глаз

и образованием кровеносных сосудов в желточных мешках. Поэтому до стадии пигментации глаз инкубацию возможно проводить при температуре несколько ниже, а после этой стадии – выше 10 °С. На стадии пигментации глаз эмбрион хорошо просматривается через оболочку, у него образуются печень, ротовая щель, на теле становятся заметными меланофоры, образуется анальное отверстие, затем рост эмбриона продолжается, появляются зачатки брюшных и непарных плавников.

Морфологическая особенность развития *пятинедельной* икры (рис. 3Б) отмечена следующим образом. Обращает на себя внимание большой желточный мешок грушевидной формы и прямая (не изогнутая) хорда. Голова немного пригнута вниз, в её передней части, ближе к глазам, имеются углубления – обонятельные ямки. Хорошо видны сегменты, неодинаковые по величине, они постепенно уменьшаются к заднему концу тела. По спине зародыша тянется вдоль тела плавниковая кайма, переходящая на хвост, далее – на брюшную сторону и оканчивающаяся на желточном мешке. Одним из главных факторов, влияющих на скорость развития эмбриона, являет-



А

Б

В

Рис. 3. Интенсификация пигментов глаз у зародышей радужной форели:

А – четырёхнедельно инкубированная икра, Б – пятинедельно инкубированная икра,
В – шестинедельно инкубированная икра.

ся температура. Причем повышение температуры до соответствующего предела вызывает ускорение развития эмбриона. При слишком высокой для данного вида рыб температуре наблюдается преждевременное вылупление эмбрионов. Это связано с ранним частичным перевариванием защитной оболочки икры протеолитическими ферментами или с преждевременным её разрывом при интенсивном движении зародышей. Другой причиной преждевременного вылупления может служить более интенсивный рост грибков при высокой температуре.

Шестинедельный возраст является последним исследованным возрастом в отношении пигментаций глаз икры радужной форели. Как видно (рис. 3В), пигменты зародышей довольно заметны, органогенез приближается к завершению. Пигментация глаз практически завершена, по-видимому, этот орган готов функционировать, причем переход к экзогенному питанию требует активного движения личинок и правильную ориентацию к питанию. Этот возраст характерен еще тем, что у всех икринок наблюдаются признаки начала выклева.

При изучении диаметра икры радужной форели на Чухур-Кабалин-

ском рыбозаводе нами установлено, что диаметр неоплодотворенной икры в среднем составляет 3-4 мм. После оплодотворения по мере роста диаметр икринок постепенно изменяется. По данным ряда авторов [9; 10; 13; 15] диаметры неоплодотворенных икринок зависят прежде всего от возраста производителей, от их кормления, от упитанности и от условий их содержания. Для нормального развития икринок среди факторов внешней среды наиболее важное значение имеет температура, под влиянием которой инкубация икринок радужной форели достаточно сильно изменяется. Нами прослежена продолжительность инкубации икры радужной форели под влиянием температуры окружающей среды. Установлено, что срок инкубации оплодотворенных икринок имеет обратную коррелятивную зависимость от температуры воды: с повышением температуры соответственно уменьшается продолжительность инкубации (табл. 1). Оптимальная температура для инкубации икры радужной форели составляет 6-10 °С. Кроме того, установлено, что температура воды 16 °С и выше губительно влияет на выживаемость икринок радужной форели.

Таблица 1

**Зависимость продолжительности инкубационного периода
от температуры воды**

Температура, °C	2	4-4,5	5-6	6,5-7	7-7,5	9-10	11-12	13-14	15-16
Время инкубации, в сутках	102	81	56	45	39	32	26	25	20

Набухание икры является одним из наиболее важных признаков, характеризующих нормальное развитие зародыша радужной форели. Поэтому было изучено изменение средней массы, диаметр и степень набухания икринок у радужной форели на Чухур-Кабалинском рыбзаводе. Как видно из данных (табл. 2), средняя масса неоплодотворенных икринок составляет 140 мг, а после оплодотворения – 145 мг, при одинаковом диаметре – 3,4 мм. Через день средняя масса оплодотворенных икринок увеличивается на несколько мг и составляет 150 мг, а диаметр икринок увеличивается на 0,1 мм, при этом степень набухания становится равной 2,9 %. Спустя неделю разница диаметра развивающихся икринок

по сравнению с однодневными увеличивается еще на 0,1 мм и, соответственно, становится 3,6 мм, а масса – 152 мг; степень набухания становится 5,8%. Масса двухнедельной икринки увеличивается на 3 мг, а диаметр икры по сравнению с исходной нарастает на 0,4 мм. Степень набухания развивающихся икринок увеличивается и составляет 11,6%. Рост трехнедельных икринок несколько ослабляется, видимо, на них отрицательно сказывается низкая температура, которая отмечается в данном возрасте (см. табл. 2). Аналогичные результаты получены в четырехнедельном возрасте, где средняя масса, как и предыдущем возрасте, была 160 мг, а диаметр практически был одинаков (3,9-4,0 мм).

Таблица 2

**Средняя масса, диаметр и степень набухания икринок
радужной форели (*Salmo gairdneri* Richardson, 1836)**

Возраст	Средняя температура воды при набухании	Средняя масса икринок, в мг	Диаметр икрино, мм	Разница в диаметре икринок при набухании, в мм	Степень набухания икры, в %
До оплодотворения	5°C	140	3,4	-----	-----
Оплодотворение	7°C	145	3,4	0,0	0,0%
Однодневные	7,5°C	150	3,5	0,1	2,9 %
Однонедельные	5°C	152	3,6	0,2	5,8 %
Двухнедельные	4°C	155	3,8	0,4	11,6 %
Трёхнедельные	4°C	160	3,9	0,5	14,2 %
Четырёхнедельные	4°C	160	4,0	0,6	17,1 %
Пятинедельные	6°C	165	4,4	1,0	28,5%
Шестинедельные	7,5°C	170	4,6	1,2	34,2 %

Замедление роста икринок в трех- и четырехнедельном возрасте связано не только с температурными факторами [12; 14], но и с общим развитием зародыша. Этот факт согласуется с общими закономерностями эмбриогенеза: в то время, когда зародыш сильно растет, развитие замедляется, а когда развитие усиливается, замедляется рост. Сильный скачок наблюдается между четырех- и пятинедельными возрастами, где средняя масса увеличивается от 160 до 165 мг, а диаметр – от 4,0 до 4,4 мг, при этом степень набухания тоже заметно растет: от 17,1% до 28,5%. Видимо, чередование развития с ростом положительно сказывается на увеличении общего роста и на степени набухания икринок. В шестинедельном возрасте средняя масса икринок увеличивается, как и в предыдущем промежутке, на 5 мг, а диаметр (по сравнению с исходными неоплодотворенными икринками) увеличивается на 1,2 мг. Степень набухания при этом составляет 34,2%.

Исследование морфологических особенностей пигментации глаз и набухания икры радужной форели (*Salmo gairdneri Richardson, 1836*) в раннем эмбриогенезе на Чухур-Кабалинском рыбозаводе показывает наличие эмбриогенетических градиентов между инкубированными икринками. Пигментация начинается после двухнедельного возраста инкубации, усиливается между возрастами четырех и пятинедельного сроков. Окончательное формирование глаз происходит в шестинедельном возрасте. Кроме того, установлено, что оптимальной температурой для нормального развития икринок является 6-10°C. Средняя масса икры увеличивается пропорционально по возрастающим срокам, од-

нако высокий темп роста наблюдается между двухнедельным и трехнедельным возрастами, а также в последнем сроке отрезка развития. Наиболее высокая степень набухания оплодотворенных икринок отмечается между четырех- и пятинедельными сроками развития.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Васнецов В.В. Этапы развития костистых рыб // Очерки по общим вопросам ихтиологии. – М.: Изд-во АН СССР, 1953. – С. 207–217.
2. Кулиев З.М. Биология и искусственное разведение гейгельской форели. – Баку: Элм, 1980. – 138 с.
3. Кулиев З.М. Форели (*Salmo Fario linne*) Азербайджана (морфометрия, экология и охрана). – Баку: Гюнеш, 2005. – 112 с.
4. Новоженин Н.П. Разведение радужной форели в водоемах с естественным температурным режимом // Рыбное хозяйство: пресноводная аквакультура (аналитическая и реферативная информация) [Вып. 2]. – М.: ВНИИиПКИ экономики, информации и автоматизированных систем управления рыбного хозяйства, 2002. – С. 2–13.
5. Павлов Д. С. Методы оценка качества спермы рыб // Вопросы ихтиологии. – 2006. – Т. 46 (№ 3). – С.384-392.
6. Кулиев З.М. Морфологическая характеристика форели р. Шамкирчай // II Закавказская конференция морфологов и Всесоюзные симпозиумы по организации нервных стволов и базальным мембранам: тезисы, 26-29 сентября 1978 г., – Баку, 1978. – С. 358.
7. Хойски Д., Войнарович А., Мат-Поульсен Т. Руководство по искусственному воспроизводству форели в малых объемах. – Будапешт: ФАО, 2012. – 21 с.
8. Крыжановский С.Г., Теоретические основы эмбриологии // Жур. усп. соврем. биол. – 1950. – Т. 30, вып. 3 (6). – С. 382–413.

9. Якимов А.В. Некоторые сведения о раннем онтогенезе ручьевой форели (*Salmo trutta morpha fario* L.) в условиях КБР // Актуальные вопросы экологии и охраны природных экосистем южных регионов России и сопредельных территорий. – Краснодар: КубГУ, 2001. – С. 142-144.
10. Якимов А.В. Экология и биология ручьевой форели (*Salmo trutta morpha fario* L., 1758) в условиях Центрального Кавказа (в пределах Кабардино-Балкарии): автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ростов-н/Д, 2002. – 24 с.
11. Якимов А.В. Сведения об эмбриогенезе и раннем постэмбриогенезе ручьевой форели (*Salmo trutta ciscaucasicus* Dorofeeva) // Вестник АН ЧР. – 2012. – № 2 (17). – С. 106-113.
12. Якимов А.В., Хагухов А.М. О некоторых итогах комплексного изучения ручьевой форели (*Salmo trutta morpha fario* L.) в бассейне среднего течения Терека // Прикаспийский регион: человек и природная среда (материалы заочной научной конф., 20 июня 2001 г.) – Элиста: КалмГУ, 2003. – С. 63-65.
13. Ciereszko A. A lack of consistent relationship between distribution of lipid droplets and egg quality in hatchery-raised rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* / A. Ciereszko, M. Wojtczak, G.J. Dietrich et al. // Aquaculture. – 2009. – Vol. 289. – P. 150-153.
14. Lahnsteiner F., Patzner R.A. Rainbow trout egg quality determination by the relative weight increase during hardening: a practical standardization // J. A. Ichthyol. – 2002. – Vol. 18. – P. 24-26.
15. Mansour N. Morphological characterization of Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, eggs subjected to rapid postovulatory aging at 7°C / N. Mansour, F. Lahnsteiner, M.A. McNiven et al. // Aquaculture. – 2008. – Vol. 279. – P. 204-208.