

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Фундаментальной биологии и биотехнологии
институт

Водных и наземных экосистем
кафедра

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

подпись инициалы, фамилия
« _____ » _____ 20 18 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Морфо-экологическая характеристика сибирской миноги *Lethenteron kessleri*

(Anikin 1905) реки Енисей

тема

06.04.01. - Биология

код и наименование направления

06.04.01.04. - Гидробиология и ихтиология

код и наименование магистерской программы

Научный руководитель

подпись, дата

доцент, к.б.н. С.М. Чупров

должность, ученая степень
инициалы, фамилия

Выпускник

подпись, дата

Л.А. Меньшикова

инициалы, фамилия

Рецензент

подпись, дата

доцент, к.б.н. О.М. Исаева

должность, ученая степень
инициалы, фамилия

Красноярск 2018

Реферат

Магистерская диссертация по теме «Морфо-экологическая характеристика сибирской миноги *Lethenteron kessleri* (Anikin 1905) реки Енисей» содержит 72 страницы текстового документа, 38 иллюстраций, 15 таблиц, 55 использованных источников.

Ключевые слова: сибирская минога, *Lethenteron kessleri*, пескоройка, инкубация, метаморфоз, Енисей.

Цель работы: Изучение некоторых аспектов биологии сибирской миноги рек Енисей, Кача, Березовка.

В данной работе представлена морфо – экологическая характеристика сибирской миноги и ее личинок. Проведена инкубация икры сибирской миноги в искусственных условиях и прослежен метаморфоз пескоройки с 1 по 78 сутки развития. В данной работе проведено сравнение сибирской миноги реки Енисей с миногой реки Ангара и реки Енисей 2015 года. Выявлен половой диморфизм между самцами и самками сибирской миноги, а также возрастная изменчивость у половозрелых миног и личинок сибирской миноги. Анализ питания личинок миноги сибирской из реки Березовка показал, что анализ биомаркерных жирных кислот позволяет более полно описать источники питания пескороек и половозрелых миног. В работе была описана минога с хищным питанием, пойманная в Красноярском водохранилище.

Оглавление

Введение	4
1. Обзор литературы.....	5
1.1 Биологическая характеристика сибирской миноги	6
1.2 Таксономический статус миноги сибирской (<i>Lethenteron kessleri</i>)	9
1.3 Роль миног в изучении эволюции.....	10
1.4 Эмбриональное развитие и инкубация миног	11
2. Материалы и методы исследования	15
2.1 Инкубация и метаморфоз сибирской миноги	15
2.2 Морфометрический анализ сибирской миноги	18
2.3 Анализ питания пескороек.....	20
3. Результаты и обсуждения	22
3.1 Эмбриональное развитие и метаморфоз сибирской миноги.....	22
3.2 Морфометрические признаки сибирской миноги ... Error! Bookmark not defined.	
3.2.1 Меристические признаки сибирской миноги Error! Bookmark not defined.	
3.2.2 Пластические признаки миноги сибирской	Error! Bookmark not defined.
3.2.3. Пластические признаки пескоройки.... Error! Bookmark not defined.	
3.2 Характеристика питания личинок миноги сибирской из реки Березовка классическим ихтиологическим методом и методом исследования состава жирных кислот мышечной ткани.	Error! Bookmark not defined.
3.3 Минога Красноярского водохранилища	Error! Bookmark not defined.
Выводы	23
Благодарности	25
Список использованных источников	26
ПРИЛОЖЕНИЕ А	31
ПРИЛОЖЕНИЕ Б.....	Error! Bookmark not defined.

ПРИЛОЖЕНИЕ В**Error! Bookmark not defined.**

ПРИЛОЖЕНИЕ Г**Error! Bookmark not defined.**

Введение

На данный момент сибирская минога (*Lethenteron kessleri*) является малоизученным видом. Имеются противоречивые данные таксономического статуса сибирской миноги. Образ жизни недостаточно изучен. Сибирская минога не относится к паразитической форме. Не имеет промыслового значения. Отсутствуют данные по инкубации, развитию, метаморфозу сибирской миноги. В отдельных водоемах личинки миноги - пескоройки, могут иметь значительную численность. В таких водоемах минога является объектом питания тайменя, ленка, щуки, налима.

В Красноярском водохранилище с 2016 года фиксируются случаи нападения миноги на обездвиженную в сетях рыбу (песядь). Эта минога требует отдельного изучения, в связи с тем, что сибирская минога, обитающая в водоемах Красноярского края, не является паразитическим видом.

Миноги представляют собой ценный объект изучения в связи с тем, что они являются живыми представителями самого древнего рода позвоночных бесчелюстных животных. Зарубежные ученые уделяют большое внимание изучению миног, в основном паразитическим формам, которые наносят большой ущерб рыболовству и прудовому рыбоводству. Миног изучают в Японии, Испании, США, Канаде, России и других странах. Большинство работ посвящено изучению миног в Великих озерах.

Целью работы является изучение некоторых аспектов биологии сибирской миноги рек Енисей, Кача, Березовка.

В задачи исследования входило:

1. Провести инкубацию икры сибирской миноги в искусственных условиях;
2. Изучить метаморфоз сибирской миноги;
3. Провести морфологический анализ миноги р. Енисей;
4. Провести морфологический анализ пескороек р. Енисей;
5. Провести анализ питания личинок миноги сибирской классическим ихтиологическим методом;
6. Провести анализ питания личинок миноги сибирской методом исследования состава жирных кислот мышечной ткани;
7. Представить характеристику миноги, пойманной в Красноярском водохранилище.

1. Обзор литературы

1.1 Биологическая характеристика сибирской миноги

Систематическое положение сибирской миноги:

1. Тип – *Chordata*
2. Подтип – *Craniata*
3. Надкласс – *Petromyzontomorphi*
4. Класс – *Petromyzontida*
5. Отряд – *Petromyzontiformes*
6. Семейство – *Petromyzontidae*
7. Подсемейство - *Lampetrinae*
8. Род – *Lethenteron*
9. Вид – *Lethenteron kessleri* (Anikin, 1905) [1].

Семейство представлено 24 видами. В России встречаются представители 6 родов с 9 видами. На территории Красноярского края миноги обитают в реке Енисей и его притоках, в верховье Красноярского и Саяно-Шушенского водохранилищ [2].

В отличие от рыб, у миноги отсутствуют обособленные челюсти, в скелете отсутствует костная ткань (пожизненно сохраняется хорда) [3].

Развиваются миноги с превращением. Начало метаморфоза происходит в конце июля - начале августа и завершается в конце октября - середине ноября [4]. Личинка миноги – пескоройка, отличается от взрослой миноги меньшими размерами, отсутствием воронки и роговых зубов, недоразвитыми и почти незаметными глазами. У пескороек тело удлинено цилиндрическое, подковообразный рот, усаженный разветвленными ворсинками, верхняя и нижняя губы не сросшиеся. С увеличением длины тела спинные плавники становятся хорошо заметными. Отверстия жаберного аппарата располагаются в борозде, последнее, седьмое отверстие, обычно, оформлено более чётко [5].

Обитают пескоройки в илистом грунте на глубине 5 см и более, преимущественно по береговой линии с прибрежной растительностью [6]. Питаются личинки сибирской миноги детритом и водорослями. Соотношение органических остатков и водорослей в их питании не постоянно и меняется в зависимости от возраста и времени года. Самые мелкие личинки кормятся планктонными организмами и сестоном, оседающим на грунт, и подводные предметы. Пескоройки старших возрастных групп питаются органическим веществом, в котором встречаются зеленые, сине - зеленые и диатомовые водоросли [5]. На личиночной стадии минога проводит большую часть жизни.

Тело у миноги червеобразное, слизистое, чешуя отсутствует. Рот в виде воронки, внутренняя поверхность которой усажена роговыми зубами. Имеются 2 спинных плавника. По бокам от головы 7 жаберных отверстий. Фото миноги представлено на рисунке 1. На нижнечелюстной пластинке от 5 до 9 зубов, чаще 7: по бокам по 3 хорошо развитых зуба (средний 3-х вершинный, крайние 2-х вершинные). Ротовая воронка миноги представлена на рисунке 2. Окраска тела от темно-серой до темно-коричневой с металлическим блеском. Нерестится сибирская минога на 5 году жизни в конце мая – начале июня на песчаных и мелкогалечных грунтах при температуре воды 12-15 °С (Рисунок 3) [7]. Длина половозрелой миноги от 13 до 25 см. Минога является моноциклическим видом. Половозрелые особи миноги не питаются, используя накопленные запасы жира [2,3,7].



Рисунок 1 - Минога сибирская (*Lethenteron kessleri*) (фото С.М. Чупров)

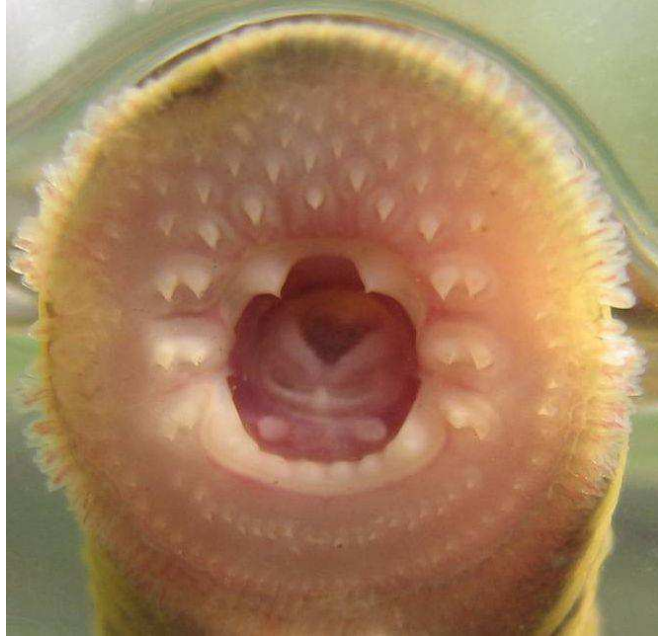


Рисунок 2 – Ротовая воронка сибирской миноги (фото А.В. Назаров)



Рисунок 3 – Нерест сибирской миноги (фото С.М. Чупров)

Сибирская минога (*Lethenteron kessleri*) не относится к паразитической форме. Образ жизни недостаточно изучен. Вид не имеет промыслового значения [48].

1.2 Таксономический статус миноги сибирской (*Lethenteron kessleri*)

Имеются противоречивые данные о таксономическом статусе сибирской миноги [8]. Все миноги делятся на 3 таксона: одна группа в северном полушарии (такие роды, как *Petromyzon*, *Ichthyomyzon*, *Lethenteron*, и *Lampetra*), и две группы (*Geotria* и *Mordacia*) в Южном полушарии [9].

V.D. Vladycov и F. Kott (1979) считают, что миног Сибири можно объединить в один вид – *Lethenteron japonicum* (Martens), ареал которого охватывает Западную и Восточную Сибирь, Северную Америку и прилегающие к ним острова Тихого и Северного Ледовитого океана [5]. Кучерявый А.В. считает, что вид *Lethenteron camtschaticum* (Tilesius 1811) включает в себя три формы миног: дальневосточную ручьевую, сибирскую и тихоокеанскую [10].

C.B. Renaud (2011) признал 1 паразитический вид – *Lethenteron camtschaticum* (Tilesius, 1811) (стволовой вид) и 6 непаразитических видов: *Lethenteron alaskense* (Vladykov & Kott, 1978), *Lethenteron appendix* (DeKay, 1842), *Lethenteron kessleri* (Anikin, 1905), *Lethenteron ninae* (Naseka, 2009), *Lethenteron reissneri* (Dybowski, 1869) и *Lethenteron zanandreaei* (Vladykov, 1955) [11].

Японские ученые, молекулярно - генетическими исследованиями подтвердил, что 3 вида рода *Lethenteron*- *L. camastchaticum* (Tilesius,1811), *L.reissneri* (Dybovski, 1869), *L. kessleri* (Anikin,1905), не имеют генетических отличий и их следует относить по приоритету к одному виду - *Lethenteron camtschaticum*, но они пришли к выводу, что все миноги Дальнего Востока и Сибири рода *Lethenteron* объединяются в один вид – *L. reissneri* (Dybowski, 1869). Следует отметить что Y. Yamazaki, R. Yokoyama и др. считают, что все миноги имеют 2 формы: проходную (крупную, способную к паразитизму) и местную (мелкую, обитающую в мелких реках) [5].

C.V. Renaud and A. M. Naseka в своих исследованиях пришли к выводу, что *Lethenteron reissneri* отличается от паразитарных *Lethenteron camtschaticum* [11].

1.3 Роль миног в изучении эволюции

Максимальное развитие бесчелюстных приходится на девонский период. До настоящего времени сохранились представители только двух классов бесчелюстных: миноги (*Cephalaspidomorpha*) и миксины (*Mixini*) [3]. Миног используют в различных областях исследования, таких как биомедицина, регулирование численности видов, эволюционных исследованиях, а также в области экологического моделирования водных экосистем [12].

Миноги являются живыми представителями самого древнего рода позвоночных бесчелюстных животных. В статье В. Fernandez-Lopez и др. описывается исследование сетчатки глаза личиночной и взрослой стадий миноги с помощью иммуноцитохимических методов. Обнаружены сходства в предшественниках клеток современных позвоночных и миног, но также обнаружены важные различия в преобразованиях клеток в фоторецепторы [13].

J. Ericsson и G. Silberberg проводили исследования, которые подтвердили сходство нейронов миноги и млекопитающих. Исследования показали, что стриарные нейроны миноги имеют некоторые из признаков стриарных нейронов млекопитающих [14].

Самыми ранними ископаемыми миног является *Priscomyzon*, возраст которых достигает 360 миллионов лет. Эти ископаемые особи имели малые размеры (4 см), по сравнению с нынеживущими, но некоторые структуры в строении (круглая ротовая воронка, 7 жаберных отверстий) характерны также для миног, живущих в настоящее время [9].

Миноги относятся к круглоротым (*Cyclostomata*) и являются наиболее примитивными бесчелюстными среди морских животных. Миног повсеместно называют «живыми ископаемыми», так как обнаружения окаменелостей показали, что они существовали 360 миллионов лет назад, а их строение осталось практически неизменным.

Исследование миног началось с середины XIX века. С развитием современных молекулярных методов, миног стали использовать как модели для изучения позвоночных, так как миноги считаются прямыми предками современных позвоночных. На примере миног строят модели для изучения эволюции нервной, эндокринной, иммунной систем, а также используют как молекулярные ископаемые древней генетической информации [15].

Кроме того, миног используют как сравнительную модель для изучения иммунной системы позвоночных. Миноги обладают двумя основными иммунными клетками, похожими на Т и В лимфоциты, предположительно эволюционировавшие в лимфоциты позвоночных [15,16].

В статье С.Т. Atemiya описывается исследование иммунной системы миноги, основанное на генетическом подтверждении сходства с иммунной системой позвоночных животных. Были рассмотрены анатомические структуры миноги, которые проявляют лимфо-гемопоэтические свойства, с целью использования в современных молекулярных исследованиях [17].

1.4 Эмбриональное развитие и инкубация миног

Дробление яйца миноги полное, неравномерное. В результате дробления образуется целобластула. Бластула миноги, отличается от бластулы низших хордовых своей многослойностью, что характерно для всех позвоночных. В анимальном полушарии стенка бластулы миноги состоит из двух-трех слоев, а в вегетативном полушарии из шести - семи слоев. У миноги имеется передняя губа бластопора, но сколько-нибудь заметной инвагинации не происходит. Формируется узкий щелевидный гастроцель.

Вслед за этим за счет размножения, но главным образом, вследствие интеркаляции смещающихся в медиальном направлении клеток, образующих спинную губу, она растет в заднем направлении, прикрывая при этом не гастроцель, как у ланцетника, а энтодермальный зачаток, образованный клетками вегетативного полушария. Перед спинной губой бластопора расположены клетки, которые впоследствии дифференцируются как клетки хорды. Центральная область вегетативного полушария занята клетками презумптивной энтодермы, тогда как анимальное полушарие занимают эктодермальные клетки. Боковые и задняя губы бластопора образуются на завершающей стадии гастрюляции, окончательно закрывая зачаток энтодермы. Дальнейшее развитие состоит в дифференциации нервной трубки, хорды, мезодермы и кишечника [18].

Жизненный цикл и развитие миног никогда не были исследованы в лабораторных условиях, все исследования проводились на пойманных особях [19].

В связи с особенностями морфологии и биологии миног их вылов имеет ряд трудностей, с чем связаны малые объемы материала для исследования [8].

Для вылова тихоокеанских миног используют промысловые траления донными и разноглубинными тралями. Большие объемы миног были выловлены на значительном удалении от дна, в связи с чем, наиболее эффективным способом признали вылов разноглубинными тралями [20].

В реках, относящихся к бассейну Волги и Дона вылов миног осуществлялся мелкочейистой волокушей (длина 4 м, ячейка 6 мм) и бреднем (длина 10 м, диаметр ячейки 8 мм). В наиболее глубоких реках использовали ставную сеть. Эти способы дают наиболее точные результаты и наибольшие объемы вылова. Но такой способ лова обедняет фауну рек, так как происходит вылов всех обитающих в исследуемых водоемах видов рыб. В очень мелких участках лов производят сачком [21].

S. Silva и др. для вылова миног использовали «electrofishing method», который заключается в помещении анода на поверхность водного участка, на котором производится вылов. Производится 8-10 очередей непрерывного постоянного тока, происходят всплески миног, которых собирают сачком. Выходное напряжение должно быть отрегулировано - 100-500 В, достигая 1 ампера, чтобы снизить влияние на другие виды, обитающие в водоеме [22].

C. S. Mateus, P. R. Almeida и N. Mesquita в своем исследовании также использовали миног, пойманных электрическим методом лова [23].

Главный фактор, влияющий на сроки развития, выживание, рост, а также на строение и питание личинок миног является температура воды. В эксперименте R. Rodriguez-Munoz и др., при температуре $< 7^{\circ}\text{C}$ были достигнуты только самые ранние стадии развития эмбрионов. Пороговым значением для завершения полноценного эмбрионального развития является температура воды между 11 и 15°C . В интервале $15-23^{\circ}\text{C}$ существенных различий в эмбриональном развитии не наблюдалось, но сильные различия появились после начала внешнего питания личинок, заключающиеся в показателях выживаемости, которые были обратно пропорциональны температуре инкубации.

Авторы этой статьи пришли к выводу, что оптимальная температура воды для инкубации миноги $\approx 15^{\circ}\text{C}$, так как наибольшая выживаемость личинок после перехода на экзогенное питание наблюдалась при этой температуре. При температуре воды 23°C , все личинки погибли в течение 3 месяцев [24].

K. Aronsuu и J. Tertsunen, в своем эксперименте, постепенно увеличивали температуру воды при выдерживании особей перед нерестом от 1 до 15°C (на $1-2^{\circ}\text{C}$ в день). При нересте температуру поддерживали в пределах 15°C [25].

В эксперименте икру искусственно оплодотворяли и инкубировали при температуре 12°C [26].

М. J. Hansen считает, что для правильного и наиболее эффективного воспроизводства миног необходимы следующие условия:

- Непрерывный, однонаправленный поток воды;
- подходящий песок и гравий (диаметром 0.9-5.1 см);
- скорость потока воды (0,5-1,5 м / с);
- глубина (13-170 см);
- температура воды (10 – 26 °С)

Когда температура воды прогрелась до 15 °С, самцы миног начали строить гнезда (1- 3 дня). Инкубация длилась 2 недели. Успешное развитие эмбрионов произошло только у 6,3 % от всей инкубируемой икры [27].

М. К. Richardson и G. M. Wright в 2003 году проводили исследования по инкубации и развитию на морской миноге (*Petromyzon marinus*). Половые продукты получали прижизненным методом, путем сцеживания. Полученную икру оплодотворяли и инкубировали при температуре воды 18,4°С. Эмбрионы каждый день отбирали по 15-20 штук и фиксировали 4-х процентным формальдегидом. Исследования построены на основе статьи Píavis, 1961 г. Метаморфоз пескороек исследовали до 70 дня развития [28].

В Ленинградской области воспроизводством речной миноги (*Lampetra fluviatilis*) занимается Лужский производственно-экспериментальный лососёвый завод (ПЭЛЗ) – структурное подразделение ФГБНУ «Севзапробвод». А.Д. Павлов и Д.М. Саидов проводили опыты по скрещиванию речной миноги из реки Луга в искусственных условиях. Из 12 самок удалось взять икру только у двух миног. Икру брали прижизненным методом. Для проведения опытов по скрещиванию, сперма хорошего качества получалась как при сцеживании самцов, так и путём препарирования брюшной полости. Икра, имеющая незначительную клейкость, инкубировалась в чашках Петри, объемом 250 мл. От двух порций икры удалось получить некоторое количество свободных эмбрионов, которые в дальнейшем использовались для биотестирования [29].

2. Материалы и методы исследования

Отлов половозрелых миног производился 01.06.2017 на реке Кача, представленной на рисунке 4, в районе поселка Памяти 13 борцов.



Рисунок 4- Река Кача (фото автора)

Отлов осуществлялся вручную с глубины 0,2-0,6 метра с помощью капроновой ткани, которая надевалась на руку. Живых миног помещали в пластиковые пакеты, наполненные водой из реки, после чего миног перевозили в университет и пересаживали в дезинфицированные бассейны с аэрированной водой. Фото бассейна представлено на рисунке 5. Предварительно бассейн дезинфицировали метиленовым синим (3-х процентным), воду в бассейнах предварительно отстаивали 2 суток, Температура воды в бассейне составляла 17 °С.

2.1 Инкубация и метаморфоз сибирской миноги

Для взятия половых продуктов были отобраны 3 самки и 24 самца сибирской миноги. На основании работ А.С. Гинзбурга, по оплодотворению у рыб, и работ В. Стеффенса, по методам выращивания рыб, была разработана методика для искусственного воспроизводства сибирской миноги в искусственных условиях [30, 31]. Икра у миног была взята 02.06.2017 в 10:00 часов. Температура воды в бассейне составляла 18 °С. Миног протирали марлей от воды, после чего выдавливали икру в сухую чистую чашку Петри. На одну самку использовали половые продукты от 8 самцов. Самцов миног также протирали марлей от воды и выдавливали сперму от 8 самцов в колбу с водой (10 мл), перемешивали и добавляли содержимое колбы к икре и быстро перемешивали. Через минуту к оплодотворенной икре добавляли крахмал для обесклеивания и перемешивали. Спустя 10 минут икру промывали от крахмала и помещали в самодельный инкубационный аппарат, сделанный по типу аппарата Вейса [32]. На рисунке 6 представлен инкубационный аппарат.



Рисунок 5- Бассейн для содержания миног после вылова (фото автора)

Температура воды в инкубационном аппарате измерялась 3-4 раза в сутки в течение всего инкубационного периода. Каждый день отбирали

инкубируемые икринки миноги для определения стадии эмбрионального развития. В первый день инкубации икринки отбирали каждые два часа, в последующие дни инкубации икринки отбирали 2 раза в сутки. Обеззараживание икры от сапролегнии производилось на 2 и 7 сутки инкубации метиленовым синим (200 мг/м³). Инкубация длилась 10 суток.



Рисунок 6 – Аппарат для инкубации икры, сделанный по типу аппарата «Вейса» (фото автора)

Выклев личинки начался 12.06.2017. В течение недели каждый день отбирали 5 личинок миноги для отслеживания развития органов и систем,

измерения длины. Развитие органов и систем наблюдали с помощью бинокля, длину измеряли штангенциркулем. В течение последующего месяца личинок отбирали через день, в дальнейшем 1 раз в неделю.

2.2 Морфометрический анализ сибирской миноги

Миноги для исследования были выловлены в реке Енисей во время нереста в 2015 году. Для морфометрического анализа были отобраны 80 взрослых миног, 45 пескороек, зафиксированных в 4% водном растворе формальдегида.

Морфометрический анализ производился по схеме, представленной на рисунке 7 (Ю.В Лошакова и И.Б. Книжин (2015 год)) [33], и включал в себя измерение меристических и пластических признаков миног.

Пластические признаки измеряли следующие:

TL-абсолютная длина тела; H-высота тела; aV1-расстояние от конца рыла до первого жаберного отверстия; V1-V7-длина жаберного аппарата; aV7-длина головы с жаберным аппаратом; V1-C - расстояние от первого жаберного отверстия до конца тела; V7-C -расстояние от последнего жаберного отверстия до конца тела; aD-антедорсальное расстояние; aA- антеанальное расстояние; D1-D2 промежуток между первым и вторым спинными плавниками; ID1-длина основания первого спинного плавника; ID2- длина основания второго спинного плавника; hD1- высота первого спинного плавника; hD2- высота второго спинного плавника; IC1-длина спинной части хвостового плавника; a-C - расстояние от анального отверстия до конца тела; V7-a - расстояние от последнего жаберного отверстия до анального отверстия; ao-длина рыла; o- диаметр глаза; o-V1-расстояние от заднего края глаза до первого жаберного отверстия; d-диаметр ротового диска; io-ширина лба; an - расстояние от конца рыла до носового отверстия.

Измерения пластических признаков проводили штангенциркулем (с точностью до 0,1 мм); массу определяли при помощи электронных весов (с точностью до 0,01 г).

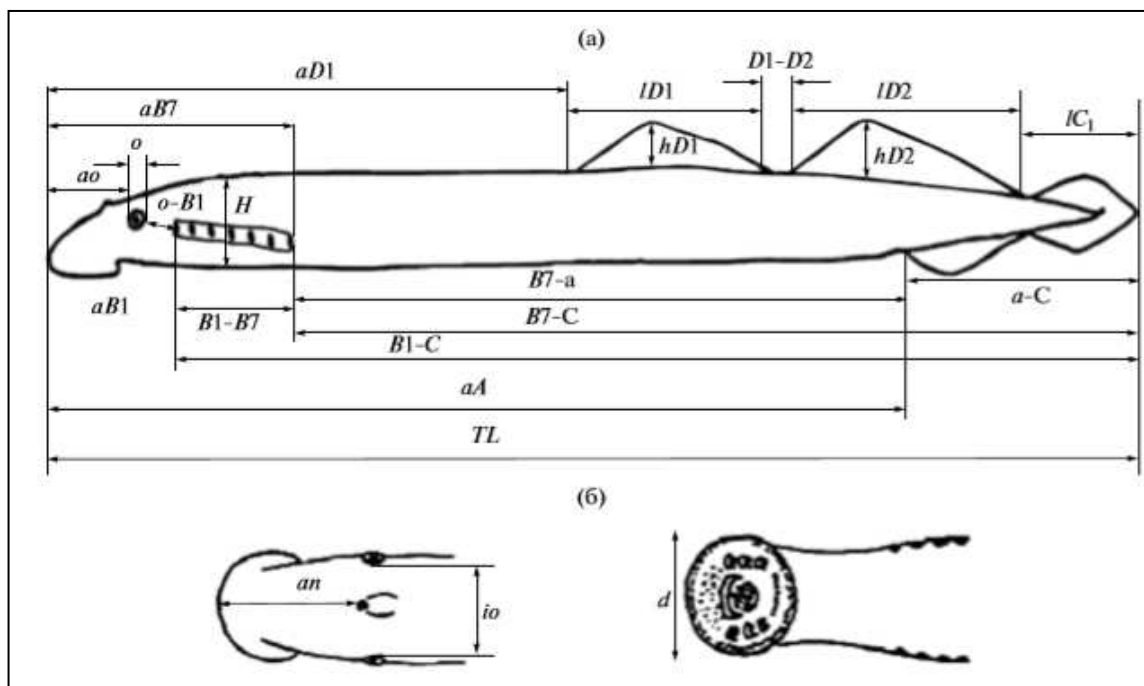


Рисунок 7- Схема измерений пластических признаков сибирской миноги (по Ю.В Лошаковой и И.Б. Книжину (2015 год)) [33]

Исследование меристических признаков, заключалось в подсчете числа зубов и их вершин, с использованием бинокулярного микроскопа МБС – 10, на нижнечелюстной и верхнечелюстной пластинках, верхней губе, а так же число вершин внутренних боковых зубов, как на правой и на левой стороне ротовой воронки. Схема измерения меристических признаков представлена на рисунке 8.

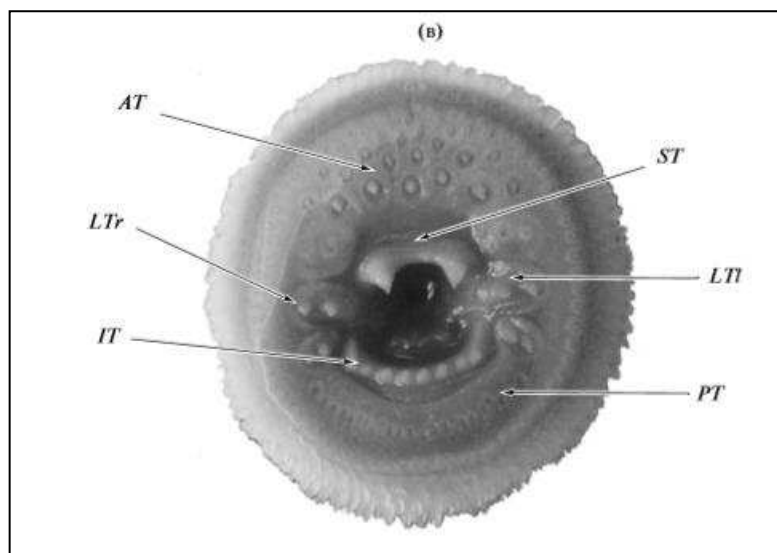


Рисунок 8 - Схема измерения меристических признаков (по Ю.В Лошаковой и И.Б. Книжину (2015 год))

2.3 Анализ питания пескороек

Для анализа питания было взято 30 экземпляров пескороек, отловленных в р. Березовка в сентябре 2016 года (Рисунок 9). Нерестящиеся особи были отловлены в июне 2016 года. Питание анализировалось двумя способами: классическим ихтиологическим методом и методом анализа биомаркерных жирных кислот.

При анализе питания классическим ихтиологическим методом пескоройки вскрывались, у них извлекался и вскрывался кишечный тракт. Пищевой комок и отдельные кормовые объекты взвешивались. Водоросли помещали в камеру Горяева и определяли принадлежность к отделам [34,35]. Роль компонентов питания определялась по их массе относительно всего пищевого комка.

Анализ жирных кислот позволяет сделать более точные выводы о рационе исследуемых объектов. Для анализа биомаркерных жирных кислот было отобрано 10 пескороек и 5 взрослых особей. Для анализа брали мышечную ткань миноги, расположенную над хордой.

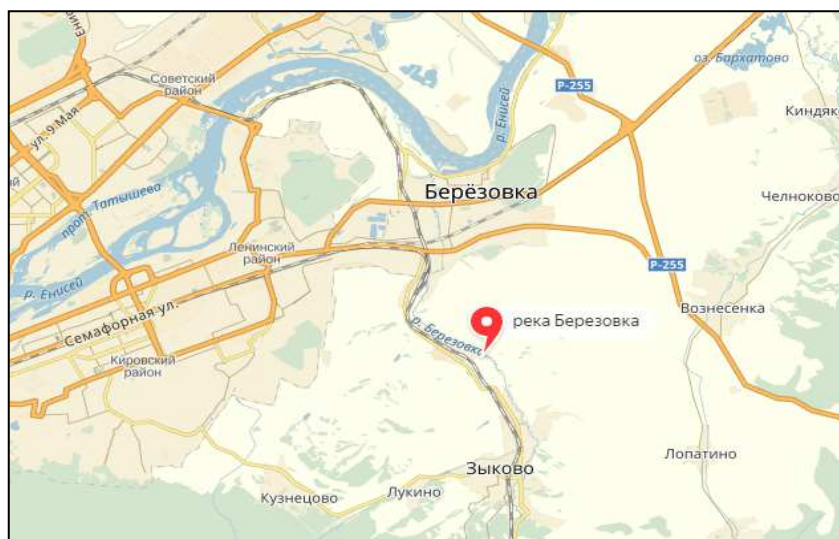


Рисунок 9- Место сбора пескороек р. Берёзовка в июне, сентябре 2016 года (Яндекс.Карты)

Определение состава МЭЖК (Метилловые эфиры жирных кислот) проходило на газовом хроматографе, оснащённом спектрометрическим детектором (модель 6890/5975С; Agilent Technologies, Santa Clara, USA) и капиллярной колонкой HP-FFAP (длина колонки 30 м, внутренний диаметр 0,25 мм).

Определение состава МЭЖК состояло из нескольких этапов. Первый этап подготовки проб к хроматографическому анализу – это экстракция и гомогенизация. Второй этап подготовки – метанолиз. Во время процесса метанолиза происходит переэтерификация ТАГ (триацилглицеринов) и этерификация СЖК (свободных жирных кислот) внутреннего стандарта. На этом этапе из смеси липидов выделяются жирные кислоты. После метанолиза готовые пробы хранят в морозилке до анализа. Получившиеся МЭЖК (метилловые эфиры жирных кислот) идентифицировали на газовом хроматографе [36].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с помощью программы STATISTICA и MS "Excel" 2007.

3. Результаты и обсуждения

3.1 Эмбриональное развитие и метаморфоз сибирской миноги

В настоящее время отсутствуют данные по инкубации, развитию и метаморфозу сибирской миноги (*Lethenteron kessleri*). Отлов половозрелых миног производился на реке Кача 01.06.17. Взятие половых продуктов было 02.06.17 в 10:00. Для искусственного оплодотворения были отобраны 3 самки и 24 самца. После оплодотворения икра помещалась в инкубационный аппарат, сделанный по типу аппарата Вейса. Инкубация длилась 10 суток.

[изъято 38 страниц]

Выводы

1. Впервые проведена инкубация икры сибирской миноги в искусственных условиях. Для взятия половых продуктов были отобраны 3 самки и 24 самца сибирской миноги. Инкубация икры миноги длилась 10 суток, при температуре воды 18-23,8 °С.
2. Был прослежен метаморфоз личинок сибирской миноги с 1 по 78 сутки развития. Длина пескороек изменилась от 5 мм, в день выклева, до 20,5 мм на 78 сутки развития.
3. У сибирской миноги реки Енисей выражен половой диморфизм. Достоверные отличия между самцами и самками наблюдаются по 14 признакам из 22 исследуемых. Выявлена возрастная изменчивость морфологических признаков миноги (13 признаков). С увеличением длины тела миноги уменьшается процентное соотношение признаков, связанных с жаберным аппаратом и плавниками, но происходит увеличение признаков, связанных с длиной тела. Выявлены отличия признаков у миноги из р. Енисей и р. Ангара: у самцов по 2-м признакам и по одному признаку у самок, из 4-х исследуемых. Наличие достоверных отличий можно объяснить тем, что р. Енисей и р. Ангара отличаются по гидрологическому режиму.
4. При сравнении двух возрастных групп пескороек, была выявлена возрастная изменчивость по 7 признакам из 11: расстояние от конца рыла до первого жаберного отверстия (aB1); длина жаберного аппарата (B1-B7); - длина головы с жаберным аппаратом (aB7); промежуток между первым и вторым спинными плавниками (D1-D2); расстояние от анального отверстия до конца тела (a-C); расстояние от последнего жаберного отверстия до конца тела (B7-C); расстояние от первого жаберного отверстия до конца тела (B1-C). Сравнение пескороек из р. Енисей за разные годы достоверных отличий не выявило.
5. Анализ содержимого кишечника визуальным методом и методом анализа биомаркерных жирных кислот показал ведущую роль

- диатомовых водорослей в питании пескоройки. Так же оба анализа показали наличие в рационе зеленых водорослей и бактериопланктона.
6. Визуальный анализ компонентов питания не выявил турбеллярий и гаммарусов в питании пескороек, анализ жирных кислот позволил определить эти компоненты в составе питания пескороек. Согласно литературным данным, половозрелая минога перед нерестом не питается, анализ жирных кислот пищи сибирской миноги выявил в составе компонентов бактерии, диатомовые и зеленые водоросли, что может служить подтверждением питания миноги в нерестовый период.
 7. Представлена характеристика миноги, пойманной в Красноярском водохранилище. Анализ количества и расположения зубов ротовой воронки миноги из Красноярского водохранилища и реки Енисей не выявил отличий. Процент ДГК (10%) в мышечной ткани миноги водохранилища близок к хищным - морской и тихоокеанской миногам. Кроме того, соотношение фракций жирных кислот и высокое содержание ЭПК в мышечной ткани миноги из Красноярского водохранилища указывает на хищный характер питания в отличие от непаразитической сибирской миноги.

Благодарности

В заключении хотелось бы выразить благодарность всем тем, кто оказал поддержку и помощь в написании данной работы, а именно:

Чупрову Сергею Михайловичу, за помощь на всех этапах выполнения работы, а так же за замечания и ценные советы в ходе работы.

Рудченко Анастасии Евгеньевне, за помощь в исследовании состава жирных кислот мышечной ткани миног.

Исаевой Ольге Михайловне, за написание рецензии к данной работе.

Список использованных источников

1. Нельсон Д.С. Рыбы мировой фауны: Пер. 4-го перераб. англ. изд./ Предисловие и толковой словарь Н.Б. Богуцкой, А.М. Насеки, А.С. Герда // М.: Книжный дом «ЛИБРОКОМ». 2009. - 880 с.
2. Вышегородцев А.А. Красноярское водохранилище / А.А. Вышегородцев, И.В. Космаков, Т.Н. Ануфриева, О.А. Кузнецова // Новосибирск: Наука. – 2005, с. 84-85.
3. Вышегородцев, А.А. Рыбы бассейна Енисея / А.А. Вышегородцев, И.В. Зуев. – Сибирский государственный технологический университет. – Красноярск. - 2002.- с. 40 – 42.
4. Claude B. Renaud. Lampreys of the world. An annotated and illustrated catalogue of lamprey species known to date / FAO Species Catalogue for Fishery Purposes No. 5 // Claude B. Renaud Canadian Museum of Nature Ottawa, Canada.- 2011.- P. 72-73
5. Yamazaki, Y. Taxonomy and molecular phylogeny of *Lethenteron* lampreys in eastern Eurasia / Y. Yamazaki, R. Yokoyama, M. Nishida, A. Goto // Journal of fish biology. – 2006. - № 68. – P.251-269.
6. Мясищев, Е. В. Технология заводского выращивания молоди миноги для последующего выпуска в естественные водоёмы / Е. А. Мясищев // Инф. пакет. Сер. Аквакультура. Проблемы и достижения ВНИЭРХ., №7. – С. 32
7. Чупров, С.М. Атлас бесчелюстных и рыб водоемов и водотоков Красноярского края / С.М. Чупров // Сибирский федеральный университет.- Красноярск.- 2015.- с. 126-128.
8. Карпенко, В.И. О видовом составе миног в озере Азабачье (Камчатка) /В.И.Карпенко // Вестник камчатского государственного университета. – 2013.- №25.-С.41-50.
9. Green, S.A. The Lamprey: A jawless vertebrate model system for examining origin of the neural crest and other vertebrate traits / S.A. Green, M.E. Bronner //NHS Public Access. -2007. – P. 535-541.

10. Кучерявый, А.В. Структура сообщества миног Камчатки /А.В. Кучерявый //Чтения памяти Владимира Яковлевича Леванидова. -2014.- №6.- С.348-359
11. Renaud, C.B. Redescription of the Far Eastern brook lamprey *Lethenteron reissneri* (Dybowski, 1869) (*Petromyzontidae*) / C. B. Renaud A.M. Naseka // ZooKeys.- 2015. - №506.- P.75-93.
12. Румянцев, Е.А. Эволюция фауны паразитов рыб в озерах. Петрозаводск: Изд-во КарНЦРАН, 1996. С. 171.
13. Fernandez-Lopez, B. Spatiotemporal Pattern of Doublecortin Expression in the Retina of the Sea Lamprey / B. Fernandez-Lopez, D. Romaus-Sanjurjo, P. Senra-Martinez, R. Anadon, A. Barreiro-Iglesias, M. C.Rodicio // Frontiers in Neuroanatomy. - 2016. – P. 1-13.
14. Ericsson, J. Striatal cellular properties conserved from lampreys to mammals / J.Ericsson, G. Silberberg, B.Robertson, M. A. Wikström, S. Grillner // The journal of Physiology. – 2011. - № 589(Pt 12). – P. 2979–2992.
15. Smith, J. J. Sequencing of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) genome provides insights into vertebrate evolution / J. J. Smith, and others // HHS Public Access. – 2013. - № 45 (4). – P. 415-421.
16. Cauley, D. W. Lampreys as Diverse Model Organisms in the Genomics Era / D. W. McCauley, M. F. Docker, S. Whyard, W. Li // BioScience.- 2015. - № 65. – P.1046- 1056.
17. Amemiya, C. T. Evolution and development of immunological structures in the lamprey / C. T. Amemiya, N. R. Saha, A. Zapata // HHS Public Access.- 2007. - № 19(5). – P. 535-541.
18. Дондуа А. К. Биология развития. – Санкт-Петербург.- 2004.- с.189-190.
19. Shimeld, S. M. Evolutionary crossroads in developmental biology: cyclostomes (lamprey and hagfish) / S. M. Shimeld, Phillip C. J. Donoghue // Development. – 2012. - № 139. – P. 2091-2099.
20. Орлов, А.М. Сравнительный анализ распределения двух видов анадромных паразитических миног в Северной Пацифике / А.М.Орлов// Труды ВНИРО. - 2015. – Т.154.- С.39-56 Вышегородцев, А.А. Рыбы бассейна Енисея / А.А.

- Вышегородцев, И.В. Зуев. – Сибирский государственный технологический университет. – Красноярск. - 2002.- с. 40 – 42.
21. Медведев, Д.А. Материалы к распространению рыб и миног в реках Тамбовской области / Д.А. Медведев, О.Н. Артаев, А.Б. Ручинов и др. // Вестник Тамбовского университета. Серия: естественные и технические науки. - 2010. – Т15 №5. – С. 1541-1545.
22. Silva, S. Single pass electrofishing method for assessment and monitoring of larval lamprey populations / S. Silva, R. Vieira-Lanero, S. Barca and others // *Limnetica*. - 2014. - № 33(2). – P.217-226.
23. Mateus, C. S. European Lampreys: New Insights on Postglacial Colonization, Gene Flow and Speciation / C.S. Mateus, P. R. Almeida, N. Mesquita and others // *PLoS One*.- 2016. -№ 11(2). – P. 1-22.
24. Rodriguez-Munoz, R. Effects of temperature on developmental performance, survival and growth of sea lamprey embryos / R. Rodriguez-Munoz, A.G. Nicieza // *Journal of fish biology*.- 2001. - № 58. – P.475- 486.
25. Aronsuu, K. Selection of spawning substratum by European river lampreys (*Lampetra fluviatilis*) in experimental tanks / K. Aronsuu, J. Tertsunen // *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*. - 2014. - № 1. – P. 41-50.
26. Campo-Paysaa, F. Evolution of retinoic acid receptors in chordates: insights from three lamprey species, *Lampetra fluviatilis*, *Petromyzon marinus*, and *Lethenteron japonicum* / F. Campo-Paysaa, D. Jandzik, Y. Takio-Ogawa and others // *EvoDevo*. – 2015. - № 6, P. 1-15.
27. Hansen, M. J. Population ecology of the sea lamprey (*Petromyzon marinus*) as an invasive species in the Laurentian Great Lakes and an imperiled species in Europe / M. J. Hansen, C. P. Madenjian, J. W. Slade and others // *Reviews in Fish Biology and Fisheries*. – 2016. – P. 509-535.
28. Richardson, M. K. Developmental Transformations in a Normal Series of Embryos of the Sea Lamprey *Petromyzon marinus* (Linnaeus)/ M. K. Richardson, G. M. Wright // *Journal of Morphology*.-2003.-P.348-363.

29. Павлов, А.Д. Опыт резервирования производителей речной миноги (*Lampetra fluviatilis*) осеннего хода в искусственных условиях (УЗВ), с последующим получением от них половых продуктов / А.Д. Павлов, Д.М. Саидов // Всероссийский научно исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии.- Москва.- с.421-422.
30. Стеффенс, В. Индустриальные методы выращивания рыбы: Пер. с нем./ науч. Ред. А. Канидьев. –М.: Агропромиздат, 1985. –384 с.
31. Гинзбург, А.С. Оплодотворение у рыб и проблема полиспермии /А.С. Гинзбург. Автореферат диссертации.- Москва.- 1967.- 24 с.
32. Чебанов М.С, Руководство по искусственному воспроизводству осетровых рыб /М.С. Чебанов, Е.В. Галич // Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН.- Анкара.- 2013.- С.106-112.
33. Лошакова, Ю. В. Морфологическая характеристика и особенности экологии Непаразитической резидентной формы миноги рода *Lethenteron (petromyzontidae)* бассейна реки ангара / Ю. В. Лошакова, И. Б. Книжин // Вопросы ихтиологии. – 2015. – Т. 55. – № 2. – С. 146–155.
34. Комаренко, Л.Е. Пресноводные диатомовые и сине-зеленые водоросли водоемов Якутии/ Л.Е. Комаренко, Н.И. Васильева. - М.: Наука, 1975. – 423 с.
35. Комаренко, Л.Е. Пресноводные зеленые водоросли водоемов Якутии/ Л.Е. Комаренко, Н.И. Васильева. - М.: Наука, 1978. - 480 с.
36. Budge, S. M. Studying trophic ecology in marine ecosystems using fatty acids: a primer on analysis and interpretation / S. M. Budge, S. J. Iverson, H. N. Koopman// University of North Carolina at Wilmington, U.S.A.- 2006.- P. 759-801.
37. Рахконен, Р. Здоровая рыба. Профилактика, диагностика и лечение болезней / Р. Рахконен, П. Веннерстрем, П. Ринтамяки и др. // НИИ охотничьего и рыбного хозяйства.- Nuukuraino, Helsinki .- 201.- с.96-98.
38. Каталог кормов для осетровых *Corpens*. – 2015. – 16 с.

39. Нейш, Г. Микозы рыб / Г. Нейш, Г. Хьюз.- М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984.- с.7-18.
40. Кузнецов Е.А. Морфо - экологическая характеристика сибирской миноги *Lethenteron kessleri* (Anikin, 1905) реки Енисей и некоторых её притоков / Магистерская диссертация.- Красноярск.- 2016.- 63 с.
41. Муранов, А.П. Ресурсы поверхностных вод СССР / А.П. Муранов, Ангаро - Енисейский район. Том 16. Выпуск 1. Енисей.-1973.- 721 с.
42. Вуглинский, В. С. Водные ресурсы и водный баланс крупных водохранилищ / В.С. Вуглинский.- Монография. - Л.: Гидрометеиздат,1991. - 222с.
- 43.Симов, В.Г. Ресурсы поверхностных вод СССР /В.Г.Симов, Ангаро - Енисейский район. Том 16. Выпуск 2. Ангара.- 1972.- 568 с.
44. Кутикова, Л. А. Определитель пресноводных беспозвоночных Европейской части СССР / Л. А. Кутикова, Я. И. Старобогатов. – Ленинград: Гидрометииздат, 1977. – 512 с.
45. Napolitano, G.E., 1999. Fatty acids as trophic and chemical markers in freshwater ecosystems. In: Arts, M.T., Wainman, B. C. (Eds.), Lipids in freshwater ecosystems. Springer-Verlag, New York, pp. 21-44.
46. Makhutova, O. Content of polyunsaturated fatty acids essential for fish nutrition in zoobenthos speciesn/ O. Makhutova, S. Shulepina, T. Sharapova,O. Dubovskaya, N. and all. // Freshwater Science. – 2016. 35 p.
47. Dgebuadze, Y.; Analysis of fatty acid composition revealed differences in the diets of tadpoles of two amphibian species / Y. Dgebuadze, N. Sushchik, I. Bashinskiy // Reports Biochemistry and Biophysics.- V. 472 (1).- 2017.- P. 31-34.
48. Атлас пресноводных рыб России /Под ред. Ю. С. Решетникова. М.: Наука, 2002.- с.29-31.
49. M. Gladyshev, N. Sushchik , A. Tolomeev, Y. Dgebuadze. 2018. Meta-analysis of factors associated with omega-3 fatty acid contents of wild fish. Rev Fish Biol Fisheries . Режим доступа [<https://doi.org/10.1007/s11160-017-9511-0>]

50. Vasconi, M. Fatty acid composition of freshwater wild fish in subalpine lakes: a comparative study / M. Vasconi, F. Caprino, F. Bellagamba, and all // *Lipids*.- 2015.- P. 283-302.
51. A. A. Dissanayake, Chemical characterization of lipophilic constituents in the skin of migratory adult sea lamprey from the Great Lakes Region / Dissanayake A. A., Wagner C. M., Nair M. G. // *Plos One*.-2016.- 17 p.
52. Kopprio, G.A. Stable isotope and fatty acid markers in plankton assemblages of a saline lake: seasonal trends and future scenario / G.A. Kopprio, R.J. Lara, A. Martinez, and all // *J. Plankton Res.* - 2015. P. 584–595.
53. Kraft, A. Arctic pelagic amphipods: lipid dynamics and life strategy / A. Kraft, M. Graeve, D. Janssen, and all // *J. Plankton Res.* 37.- 2015.- P. 790–807.
54. Gladyshev M., Differences in fatty acid composition of food and tissues of grayling from the Yenisei River / M. Gladyshev, N. Sushchik, O. Makhutova // *Reports Biochemistry and Biophysics*. V.445 (1).- 2012.- P.194-196.
55. Sushchik, N. Effect of season and trophic level on fatty acid composition and content of four commercial fish species from Krasnoyarsk Reservoir (Siberia, Russia) / N. Sushchik, A. Rudchenko, M. Gladyshev // *Fisheries research*. V. 187.- 2017. P 178-187.

[изъято 4 страници]

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение
высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Фундаментальной биологии и биотехнологии
институт

Водных и наземных экосистем
кафедра

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

подпись, инициалы, фамилия

« 14 » 06 20 18 г.

МАГИСТЕРСКАЯ ДИССЕРТАЦИЯ

Морфо-экологическая характеристика сибирской мшogi *Lethenteron kessleri*

(Anikin 1905) реки Енисей

тема

06.04.01. - Биология

код и наименование направления

06.04.01.04. - Гидробиология и ихтиология

код и наименование магистерской программы

Научный руководитель

подпись, дата

доцент, к.б.н. С.М. Чупров

должность, ученая степень
инициалы, фамилия

Выпускник

подпись, дата

Л.А. Меньшикова

инициалы, фамилия

Рецензент

подпись, дата

доцент, к.б.н. О.М. Исаева

должность, ученая степень
инициалы, фамилия

Красноярск 2018