

УДК 597.553.2.591.147

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ СУРФАГОНА НА СОСТОЯНИЕ ПОЛОВЫХ ЖЕЛЁЗ У МОЛОДИ РАДУЖНОЙ ФОРЕЛИ *PARASALMO MYKISS* (= *ONCORHYNCHUS MYKISS*) НА ФОНЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО СТРЕССА

© 2018 г. Е. Д. Павлов*, А. Г. Буш, Д. С. Павлов

Институт проблем экологии и эволюции РАН – ИПЭЭ РАН, Москва

*E-mail: p-a-v@nxt.ru

Поступила в редакцию 18.10.2017 г.

Исследовано регуляторное действие сурфагона – синтетического аналога гонадотропного рилизинг-гормона – на состояние половых желёз молоди радужной форели *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss*) в возрасте 2.5 мес., подвергнутой кратковременному (4 сут.) тепловому стрессу (19–20 °С). Показано, что через 1 мес. после повышения температуры воды в строении гонад возникают аномалии (деструкция половых клеток и гипертрофия соединительной ткани). Повышенная температура воды активирует у самок переопределение пола – в яичниках выявлены цисты, содержащие разрушенные сперматоциты. Через 1.5 мес. после экзогенного воздействия сурфагоном выявлено ускорение сперматогенеза в гонадах опытных рыб (возраст 2.5 мес.) и небольшое снижение доли аномалий в строении их семенников по сравнению с половыми железами рыб, на которых сурфагоном не влияли. Установлено, что воздействие сурфагоном на молодь радужной форели до дифференцировки пола более эффективно, чем после её завершения.

Ключевые слова: радужная форель, *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss*), гонадотропный рилизинг-гормон, сурфагон, половые железы, повышенная температура, дифференцировка пола, переопределение пола.

DOI: 10.7868/S0042875218030153

Репродуктивная система рыб чувствительна к условиям окружающей среды и, как правило, в краткие сроки реагирует на их ухудшение. Факторы среды, выходящие за пределы зон толерантности рыб, такие как повышенная температура воды, низкий уровень кислорода, нестандартная освещённость, приводят к значительным нарушениям в развитии половых желёз у сеголеток радужной форели *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss*) (Pornsoping et al., 2007; Павлов и др., 2010б, 2013; Павлов и др., 2016). Это выражается образованием в генеративной ткани инородных тканевых структур и деструкцией части или всех половых клеток вплоть до стерилизации особи. Известно (Devlin, Nagahama, 2002), что продолжительная повышенная температура может приводить к кардинальной смене пола у рыб. В значительно меньшей степени изучено влияние кратковременного повышения температуры на состояние половых желёз рыб. Остаётся открытым вопрос, может ли внешнее гормональное воздействие снизить негативное влияние повышенной температуры воды (температурный стресс) на организм рыб.

Препарат сурфагон является синтетическим аналогом гонадотропин-рилизинг-гормона (люлиберина, ГнРГ), стимулирующего выделение из передней доли гипофиза в кровь гонадотропных

гормонов – лютеинизирующего (ЛГ) и фолликуло-стимулирующего (ФСГ). Эти гормоны необходимы для регуляции нормальной работы репродуктивной системы. Высокая удельная активность сурфагона (примерно в 50 раз выше, чем у естественного ГнРГ) обеспечивает его более сильное биологическое действие на гонадотропную функцию гипофиза. Сурфагон и другие аналоги ГнРГ часто применяют в аквакультуре для стимуляции созревания половых продуктов у разных видов рыб. Аналоги ГнРГ используют для синхронизации нереста у производителей лососёвых (Crim, Glebe, 1984; Mylonas et al., 1992; Powell et al., 1998). По нашим неопубликованным данным, инъекция сурфагона сеголеткам радужной форели до начала дифференцировки пола (через 30 сут. после вылупления), выращенных при стабильно неблагоприятных условиях (высокая температура воды и низкий уровень растворённого кислорода), способствует снижению доли аномалий в строении их гонад и количества стерильных особей. Причём действие этого препарата на репродуктивную систему рыб в раннем онтогенезе проявляется через некоторое время – это явление гормонального импринтинга.

Данная работа является продолжением исследований влияния сурфагона на состояние половых желёз рыб при неблагоприятных условиях их обитания,

но на более позднем этапе онтогенеза – после прошедшей дифференцировки пола. В качестве подтверждения предложенной ранее (Павлов и др., 2016) гипотезы о повышении адаптационных возможностей рыб при воздействии сурфагона оценено кратковременное влияние повышенной температуры содержания на их половые железы. Решаются три задачи: оценить влияние кратковременной повышенной температуры на состояние половых желёз рыб после завершения дифференцировки пола; оценить проявление регуляторного воздействия сурфагона на состояние гонад радужной форели в условиях температурного стресса; определить, сходно ли влияние сурфагона на репродуктивную систему рыб при его введении на разных этапах формирования и развития этой системы.

В настоящее время кроме работы, проведённой нами ранее, не обнаружено каких-либо литературных сведений по положительному эффекту от действия сурфагона в раннем онтогенезе при формировании половых желёз у рыб.

Цель данной работы – исследовать влияние сурфагона на цитологическое состояние половых желёз молоди радужной форели при кратковременном температурном стрессе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Эксперимент проведён в мае–августе 2015 г. в установке замкнутого водоснабжения лаборатории поведения низших позвоночных ИПЭЭ. Объект исследования – сеголетки радужной форели породы «Адлерская янтарная» (Богерук, 2006), привезённые 19.05.2015 г. в возрасте 1.5 мес. из рыбоводного хозяйства (ООО «Рыборазводное предприятие № 1», г. Куровское, Московская область). В период акклимации и в течение эксперимента сеголеток содержали в бассейнах размером $3.0 \times 0.6 \times 0.6$ м, при уровне воды 0.5 м и средней плотности посадки $150\text{--}200$ экз/м³. Водобмен составлял около 1/3 объёма в сутки. Температура воды в бассейнах была $14\text{--}15^\circ\text{C}$ и являлась оптимальной для особей этого возраста (Суховерхов, Сиверцов, 1975; Григорьев, Седова, 2008). Содержание растворённого в воде кислорода на уровне 90–100% в течение всего эксперимента поддерживалось аэраторами. Рыб кормили гранулированным кормом Форель старт 55/13 («Aquatex», Россия) с размером гранул 2 мм.

Молодь случайным образом разделили на две группы – контроль и опыт (особи инъецированы сурфагоном), которые в течение эксперимента (08.06–12.08.2015 г.) содержали в двух отдельных бассейнах. Перед инъецированием рыб выдерживали 1–2 мин в растворе анестетика MS-222 концентрации 1 : 5000 до снижения двигательной активности. Для инъекции исходный раствор сурфагона (5 мкг действующего вещества в 1 мл) дополнительно разбавляли водным раствором

хлорида натрия из расчёта 1 : 51. Для повышения гормонального ответа полученный раствор вводили рыбам (под грудной плавник с помощью инсулинового шприца) двукратно – 8 и 10 июня из расчёта соответственно 7.5 и 15.0 мкл на 1 кг рыбы (при средней массе особи 3.0 г). Применяемая дозировка сурфагона, по нашим наблюдениям, находится в диапазоне действия на радужную форель.

Через неделю после инъецирования (16 июня) температуру воды в бассейнах постепенно повысили до $19\text{--}20^\circ\text{C}$; темп изменения температуры ($0.5^\circ\text{C}/\text{ч}$) входит в допустимые пределы для нивелирования стресса у особей (Boyd, Tucker, 1998). Через 3 сут. (19 июня) температуру воды постепенно с тем же шагом снизили до исходной оптимальной ($14\text{--}15^\circ\text{C}$), при которой рыб содержали до конца эксперимента. Выбранное повышение температуры воды до 20°C превышает оптимум для радужной форели этого возраста, но не является критическим (летальным) (Bidgood, 1980; Molony, 2001; Григорьев, Седова, 2008) – находится в границах термоустойчивости вида (Голованов, Валтонен, 2000; Зданович и др., 2013). При выборе времени начала повышения температуры руководствовались данными о том, что у радужной форели при температуре $13\text{--}16^\circ\text{C}$ дифференциация гонад начинается на 32–42-е сут. после вылупления (Макеева, 1992) и завершается, по нашим наблюдениям, по истечении 40 сут. к возрасту 2 мес.

В возрасте 4 мес. (12 августа – через 2 мес. после инъекции сурфагона и 53 сут. после температурного стресса) у рыб измерили длину тела по Смитту и массу. Гонады для цитологического исследования зафиксировали в жидкости Буэна. Отбор проб проведён от 58 сеголеток: 30 экз. контрольных (10 самцов и 20 самок) и 28 экз. опытных (11 самцов и 17 самок). Гистологические препараты изготавливали по стандартным методикам (Микодина и др., 2009) с использованием полуавтоматического специализированного гистологического оборудования: гистопроектора ТРС-15, заливочной станции TES-99, микротомы Meditome M530 («Medit», ФРГ). Срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином. Фотографии срезов половых желёз получены при помощи моторизованного микроскопа Keyence Biorevo VZ-9000 (Япония).

Для выявления цитологических изменений в генеративной ткани определяли диаметр, ядерно-цитоплазматическое отношение ооцитов (ЯЦО) и число сперматогониев типа А и Б на единицу площади (10000 мкм²) на гистологических срезах семенников (Павлов и др., 2014). ЯЦО рассчитывали как отношение площади ядра к площади цитоплазматического материала ооцита на срезе, прошедшем непосредственно вблизи от центральной части клетки. На этапе пре- и вителлогенеза значительно увеличиваются размеры ооцитов, что в основном происходит за счёт цитоплазмы, а не ядра (Мурза, Христофоров,

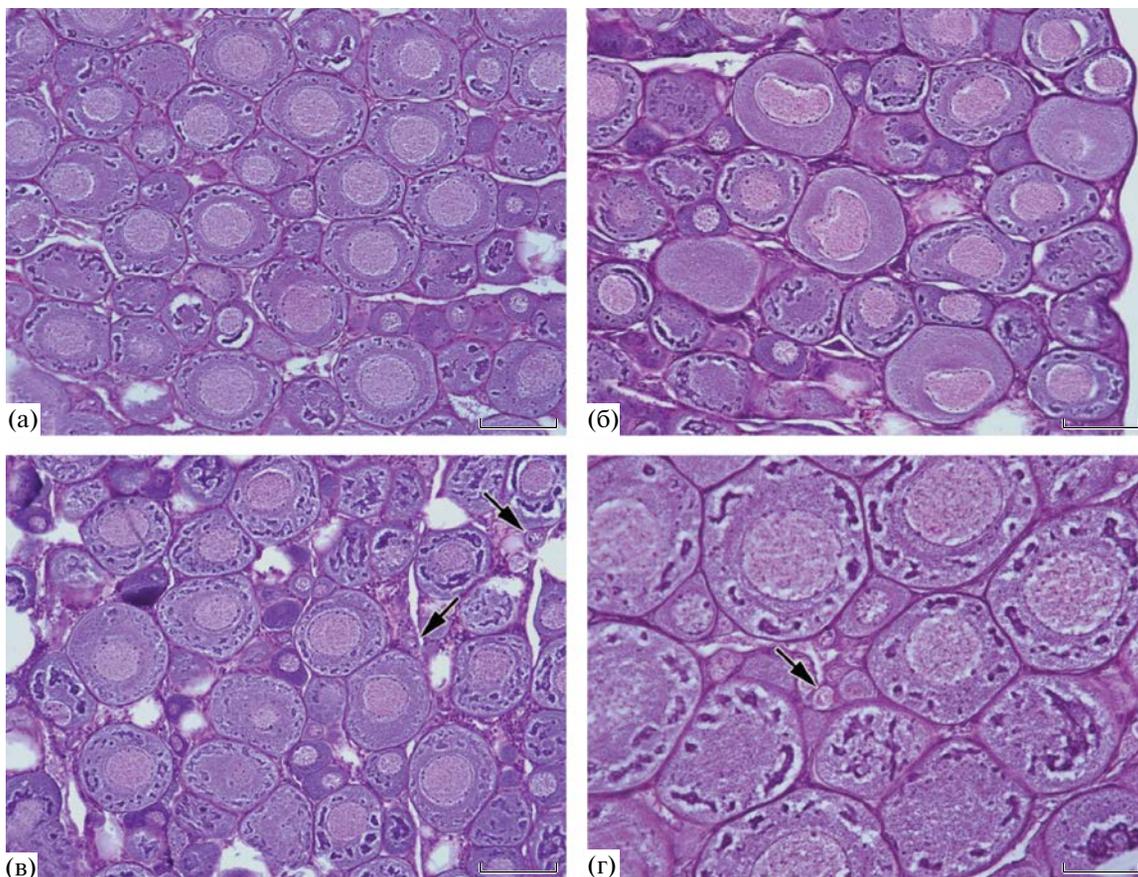


Рис. 1. Цитологическое состояние яичников контрольных (а, в) и опытных (б, г) особей радужной форели *Parasalmo mykiss*: а, б – ооциты периода превителлогенеза, видны тёмные включения в цитоплазме большинства крупных клеток – скопление зон РНК; в, г – между крупными ооцитами располагаются единичные клетки-предшественники – оогонии (→). Масштаб: а – в – 100, г – 50 мкм.

1991; Макеева, 1992). Поэтому на этих этапах по мере развития клеток значение ЯЦО снижается. Подсчёт числа клеток в семеннике и измерения для определения ЯЦО проводили при помощи программного обеспечения Image J. Ver. 1.8.0. Всего измерено 366 ооцитов у контрольных особей и 412 – у опытных. Идентифицировано и посчитано 373 сперматогония в гонадах контрольной группы и 410 – в семенниках опытной.

Статистическая обработка материала выполнена с использованием *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В возрасте 4 мес. в контрольной группе средняя длина и масса самок радужной форели составляла соответственно 9.0 ± 0.20 (7.4–10.8)¹ см и 8.0 ± 0.58 (3.9–13.3) г, самцов – 8.6 ± 0.21 (7.7–9.7) см и 6.9 ± 0.59 (4.4–11.3) г. В опытной группе значения этих показателей у самок составляли 8.9 ± 0.23

(7.1–10.4) см и 6.9 ± 0.51 (3.4–10.7) г, у самцов – 9.4 ± 0.19 (8.5–10.3) см и 8.3 ± 0.48 (6.3–10.9) г. В опыте длина самцов больше, чем в контроле ($p < 0.05$).

Самки. Яичники как у контрольных, так и у опытных особей находятся на II стадии зрелости. Они полупрозрачны, имеют светло-жёлтый цвет, ооциты невооружённым глазом не видны. Вдоль яичника проходит крупный кровеносный сосуд (arteria ovarica) с мелкими ответвлениями. Цитологическое строение яичников у контрольных и опытных рыб визуально практически не различается: половые железы содержат ооциты периода превителлогенеза (рис. 1а–г) и единичные клетки раннего состояния – оогонии (рис. 1б, 1в). В частности, об этом свидетельствует и отсутствие различий между группами по показателю ЯЦО. В гонадах контрольных самок этот показатель составлял 0.51 ± 0.010 (0.2–1.92), а опытных – 0.51 ± 0.008 (0.2–1.26).

Диаметр оогониев варьирует в пределах 13–22 мкм. Оогонии имеют крупное ядро с одним ядрышком и расположенным по периферии хроматином. Объём цитоплазмы в таких клетках

¹Здесь и далее: за скобками – среднее значение показателя и его ошибка, в скобках – пределы варьирования показателя.

небольшой, их средний диаметр у контрольных особей составляет 77.8 ± 1.49 (22.3–136.1) мкм, у опытных – 76.9 ± 1.59 (23.3–148.1) мкм. Как правило, яичники содержат ооциты диаметром 80–110 мкм. По периферии ядер таких ооцитов видны ядрышки, в среднем 12 шт. на поперечный срез. В центральной части цитоплазмы клеток отчетливо видны темные участки, иногда замыкающие кольцо ядро – циркумнуклеарные зоны богатых РНК клеточных органелл (рис. 1). Эти зоны располагаются в цитоплазме неравномерно, занимают значительную её часть. В наиболее крупных единичных ооцитах (> 110 мкм) зоны РНК уже не наблюдаются (рис. 1б).

Выявлены аномалии в строении гонад контрольной и опытной молодежи (рис. 2): гипертрофия соединительной ткани разной степени выраженности (рис. 2а, 2б), образование полостей в генеративной ткани (рис. 2а). Снижение объема генеративной ткани в гонаде обусловлено деструкцией половых клеток. Места прошедшей деструкции затягиваются не сразу, в дальнейшем на их месте могут образовываться другие типы ткани (соединительная, жировая) либо прорастают капилляры (Павлов и др., 2013).

В генеративной ткани части особей (60% рыб в контроле и опыте) помимо оогоний и ооцитов локализованы единичные цисты, содержащие сперматогонии (рис. 2б, 2г). Подавляющая часть сперматогониев разрушена, оставшиеся клетки имеют признаки начинающейся деструкции: разрыв клеточной и/или ядерной оболочки, изменение структуры или смещение ядерного и цитоплазматического материала. Поэтому половые железы, содержащие единичные сперматогонии, мы относим к яичникам.

Образование в генеративной ткани самок цист со сперматогониями, а затем их скорая гибель (рис. 2в, 2г) способствуют формированию аномалий в строении таких гонад. Иногда разрушение цист, расположенных в периферийном участке яичника, приводит к утолщению оболочки гонады (рис. 2д) за счёт разрастания соединительной ткани. Зафиксирован случай, при котором деструкция относительно большого количества локализованных в одном участке сперматогониев приводит к формированию поперечной перетяжки гонады (рис. 2е).

Самцы. Семенники как контрольных, так и опытных рыб имеют вид тонких прозрачных тяжей, находятся на II стадии зрелости. Половые железы содержат цисты со сперматогониями типа А и Б, диаметром соответственно 10–13 и 7–8 мкм (рис. 3а, 3б). В некоторых семенниках выявлены более продвинувшие единичные клетки – сперматоциты I порядка (рис. 3в, 3г). Такие клетки примерно в два раза меньше, чем сперматогонии типа Б, темнее окрашены гематоксилином. Наличие в семеннике сперматоцитов свидетельствует о более интенсивном развитии таких гонад по сравнению с остальными. В контрольной

группе обнаружены только две особи (всего 10 экз.), гонады которых содержат сперматоциты, а в опытной – 6 рыб (всего 11 экз.).

Расчёт числа сперматогониев на единицу площади (10000 мкм^2) на поперечных срезах гонад показал, что в семенниках контрольной группы сперматогониев раннего состояния (типа А) больше, чем в опытной ($p < 0.05$) – 6.6 ± 1.17 (1.6–12.8) против 3.9 ± 0.51 (1.0–7.5), а сперматогониев типа Б меньше ($p < 0.05$) – 27.3 ± 1.99 (17.7–37.4) против 33.4 ± 2.01 (24.7–47.5). Если суммировать общее число клеток двух типов, то в гонадах опытной группы сперматогониев несколько больше, чем в семенниках контрольной – 37.3 ± 1.77 (29.0–48.5) против 33.9 ± 2.26 (24.4–46.5).

Аномалии строения семенников контрольной и опытной молодежи радужной форели выражены в меньшей степени, чем в яичниках. Наблюдается деструкция отдельных сперматогониев, на месте разрушенных клеток формируются небольшие полости (рис. 4а, 4б). В основном в гонадах контрольных рыб отмечена гипертрофия капилляров, в меньшей степени (на количественном уровне) она характерна для семенников опытных особей (рис. 4в, 4г). В семеннике одной контрольной особи выявлено разрастание оболочки – выраженная гипертрофия соединительной ткани (рис. 4д). Формируется поперечная перетяжка в месте значительной деструкции генеративной ткани в гонаде самца из опытной группы (рис. 4е).

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что репродуктивная система рыб чувствительна к изменению условий обитания (Микодина, Пукова, 2002; Павлов и др., 2010а, 2010б, 2013, 2016; Емельянова и др., 2014). Полученные результаты свидетельствуют о том, что даже кратковременного (в течение 4 сут.) повышения температуры содержания в раннем онтогенезе радужной форели достаточно для модификации её гаметогенеза.

Наибольший эффект от краткосрочного повышения температуры воды зарегистрирован у самок: в яичниках выявлена гипертрофия соединительной ткани, последствия деструкции ооцитов в виде полостей в генеративной ткани. Обнаружение цист с разрушающимися сперматогониями в яичниках свидетельствует, что повышение температуры воды на 5°C у рыб с прошедшей дифференцировкой пола инициировало процесс переопределения пола в сторону самцов. Похожий эффект от содержания сеголеток радужной форели в условиях высокой температуры наблюдался и ранее. В высокогорных условиях Южного Вьетнама при повышенной температуре содержания доля самцов в значительной мере превалирует над самками – 3 : 1 (Павлов и др., 2016). У атлантической менидии *Menidia menidia* (Atherinopsidae)

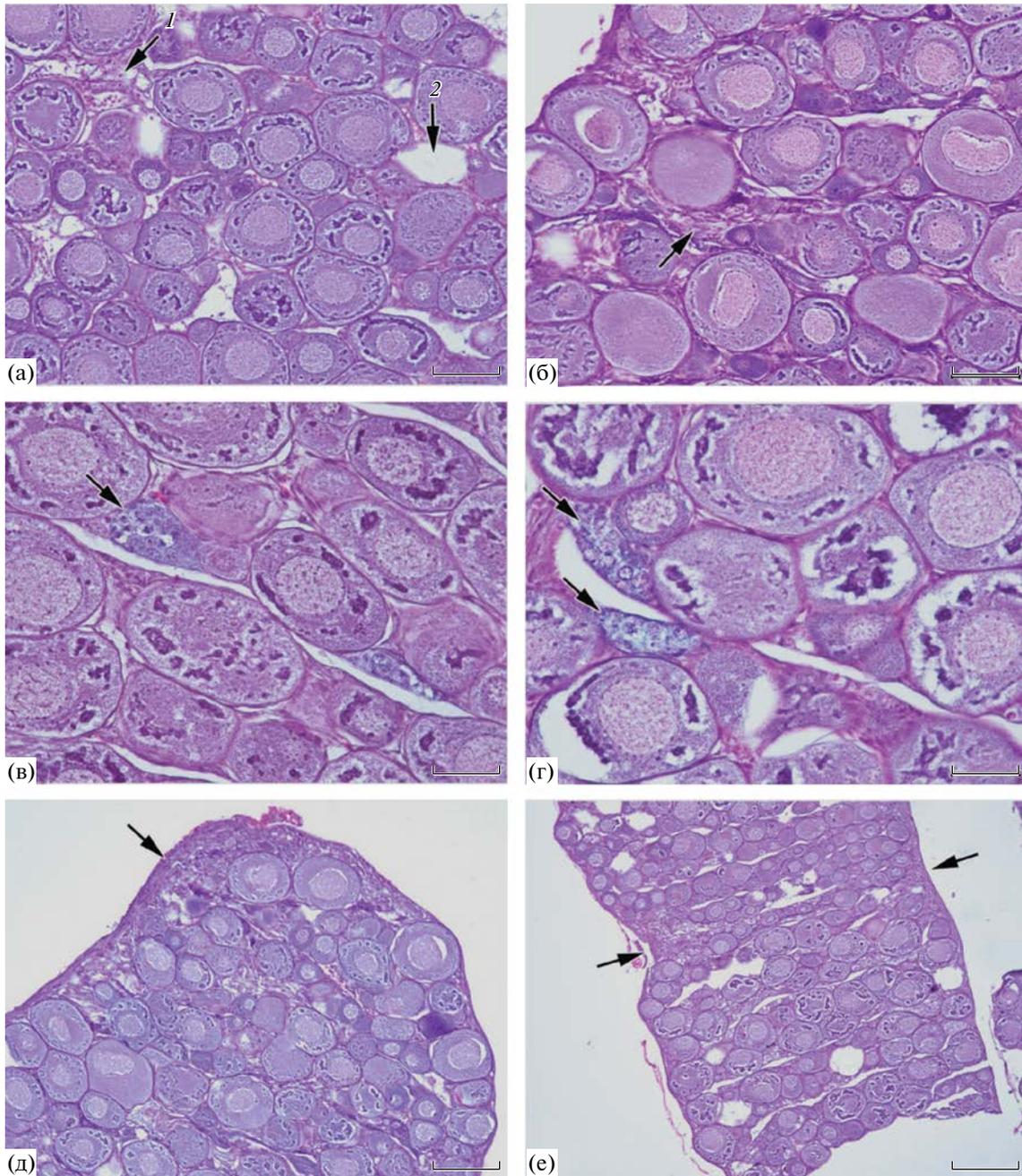


Рис. 2. Аномалии в строении яичников контрольных (а, в, д) и опытных (б, г, е) особей радужной форели *Parasalmo mykiss*: а – разрастание соединительной ткани (1), полость в месте деструкции ооцита (2); б – выраженная гипертрофия соединительной ткани (→); в, г – цисты с разрушающимися сперматогониями (→); д – утолщение оболочки гонады в районе деструкции половых клеток; е – начальный этап формирования поперечной перегородки, направление сужения гонады (→). Масштаб: а, б – 100; в, г – 50, д – 150, е – 200 мкм.

более высокая температура инкубации личинок также увеличивает долю самцов в группе (Conover, Kupard, 1981). Сходный эффект от повышенной температуры содержания отмечен и у амурского вьюна *Misgurnus anguillicaudatus* (Nomura et al., 1998). Степень влияния повышенной температуры на соотношение полов зависит от срока её воздействия. Так, у менидии наибольшая доля самцов наблюдалась в середине личиночной стадии, а на более поздних этапах онтогенеза температура

практически не влияла на соотношение полов (Conover, Fleisher, 1986). По всей видимости, у радужной форели максимальный эффект будет достигаться при воздействии повышенной температуры до начала дифференцировки пола.

Необходимо отметить, что через 1.5 мес. после кратковременного повышения температуры содержания большая часть образованных клеток противоположного пола (сперматогониев) в яичниках

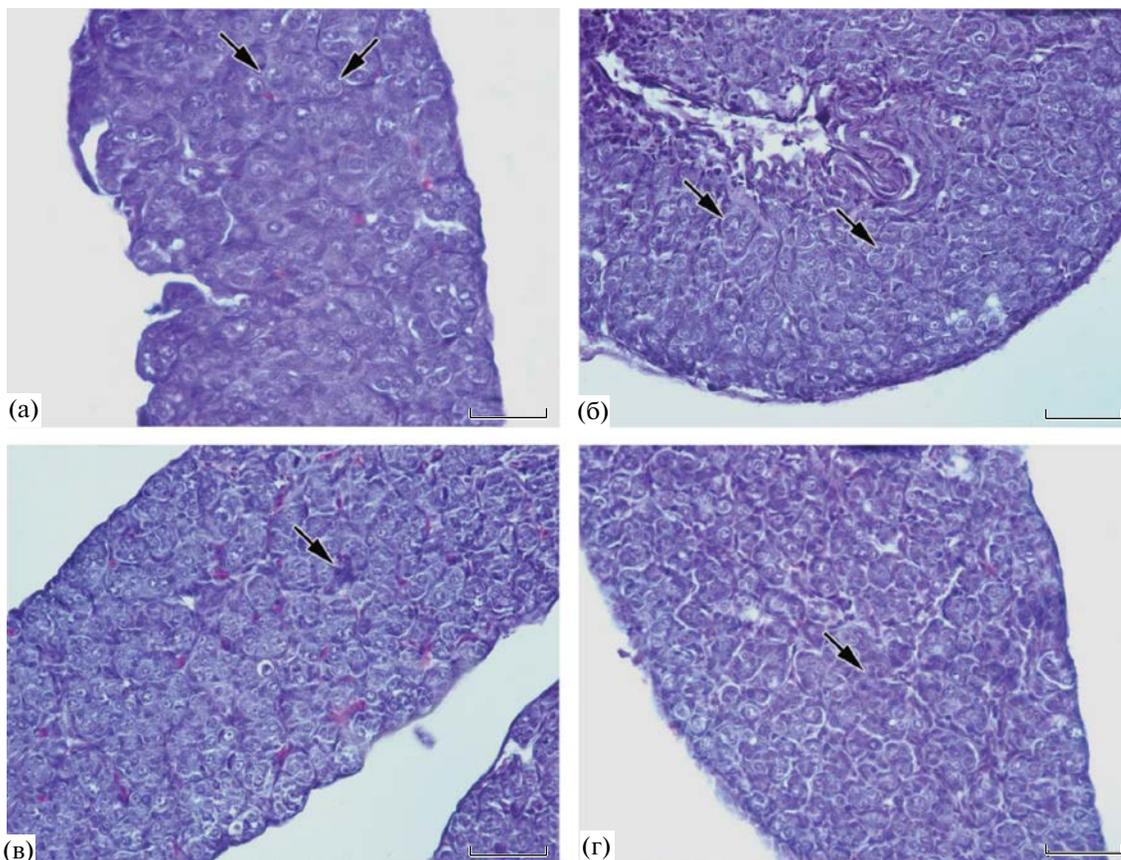


Рис. 3. Цитологическое строение семенников сеголеток радужной форели *Parasalmo mykiss*: а, б – цисты со сперматогониями (—>); в, г – участок генеративной ткани со сперматоцитами I порядка (—>). Масштаб: а – 30, б – г – 50 мкм.

молоди радужной форели стала разрушаться, т.е. длительное отсутствие влияния фактора-активатора (высокой температуры) блокирует начавшееся переопределение пола. Очевидно, что для появления гермафродитов или окончательного переопределения пола (образования семенников) у рыб необходимо поддерживать высокую температуру воды более длительное время либо осуществлять это повышение в более ранний период гаметогенеза.

В меньшей степени повышенная температура оказывает влияние на самцов, аномалии в семенниках не столь выражены, но деструкция половых клеток также наблюдается. Отсутствие выраженных аномалий и каких-либо явлений гермофрадитизма у самцов, во-первых, свидетельствует о большей их толерантности к повышенной температуре содержания по сравнению с самками в возрасте 2.5 мес., во-вторых, указывает на то, что высокая температура запускает переопределение пола только у самок.

Длина тела опытных самцов в возрасте 4 мес. превышает таковую контрольных, по массе тела особи не различаются. Увеличение длины тела опытной молоди указывает на анаболический эффект от инъекции сурфагона. Увеличение длины и массы самцов радужной форели в возрасте

3 мес. при однократной инъекции этого препарата мы отмечали и ранее. Различия по биологическим показателям самок ни в данной, ни в предыдущих работах не выявлены. По всей видимости, препарат по-разному влияет на эндокринную систему самок и самцов радужной форели. Согласно инструкции сурфагон в течение примерно 5 ч распадается на аминокислоты и выводится из организма. Поэтому эффект от инъекции препарата мы рассматриваем как явление гормонального импринтинга (запоминания), при котором сурфагон несёт, главным образом, сигнальную функцию для эндокринной системы реципиента. Следовательно, сам эффект от инъекции отложен, проявляется по прошествии времени, которое у самок и самцов может различаться.

Двукратная инъекция сурфагона молоди радужной форели после дифференцировки пола не оказывает значительного влияния на цитологическое состояние яичников. Расчёт ЯЦО ооцитов показал, что яичники у инъекцированных препаратом рыб развиваются с такой же скоростью, как и у контрольных, аномалии на качественном и количественном уровне также сходны.

У инъекцированных самцов, напротив, отмечена тенденция к ускорению развития гонад по

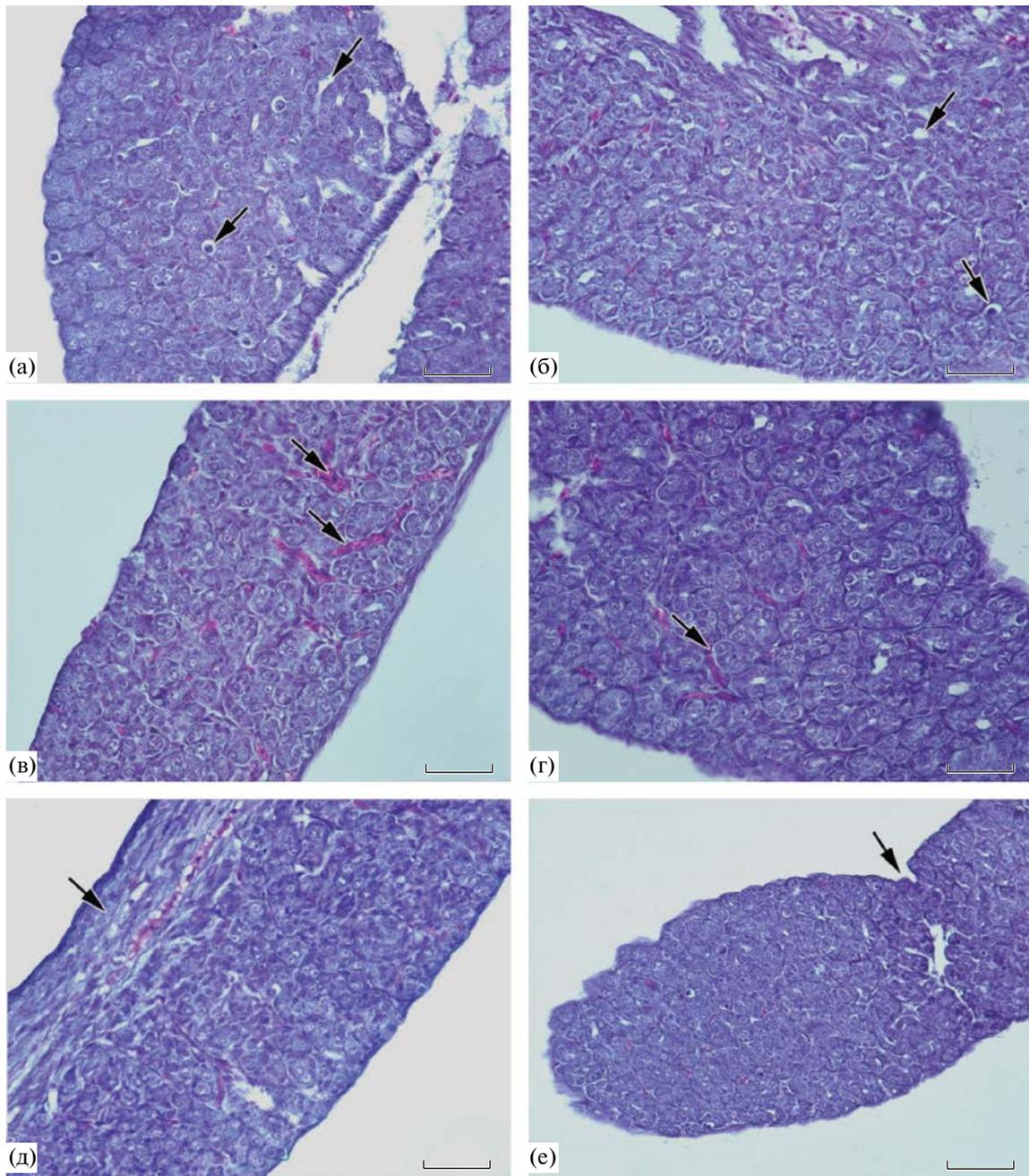


Рис. 4. Аномалии строения семенников контрольных (а, в, д) и опытных (б, г, е) особей радужной форели *Parasalmo trutta*: а, б – деструкция сперматогония (1), полость на месте деструкции половых клеток (2); в, г – гипертрофия капилляров в генеративной ткани (→); д – утолщение оболочки гонады; е – формирование поперечной перегородки на участке деструкции половых клеток (→). Масштаб: а – д – 50, е – 75 мкм.

сравнению с контрольными. В гонадах опытных рыб больше число сперматогониев типа Б и меньше клеток раннего состояния – сперматогониев типа А. Следовательно, в генеративной ткани самцов контрольной группы в большей степени продолжается деление клеток начального уровня с образованием сперматогониев типа Б. На это указывает и несколько большее общее число сперматогониев двух типов на единицу площади в гонадах опытной группы по сравнению с контрольной – 34 клетки против 37.

Помимо этого в опытной группе число рыб с гонадами, в которых обнаружены единичные сперматоциты, также превышает таковое в контрольной (6 против 2 экз.). При этом количество аномалий в семенниках опытных рыб чуть менее выражено, чем в гонадах контрольных. В целом можно говорить о том, что двукратная инъекция сурфагона ускоряет сперматогенез и несколько снижает долю аномалий в строении половых желёз.

Таким образом, кратковременное содержание рыб при высокой температуре привело к деструкции генеративной ткани и стимулировало переопределение пола у самок. Двукратная инъекция сурфагона в целом снижает неблагоприятное влияние этого фактора на половые железы молоди радужной форели. Положительный эффект сурфагона на половые железы отмечен только у самцов: сперматогенез у инъекцированных рыб идёт интенсивнее, чем у интактных. Очевидно, что влияние двукратного введения препарата на рыб, у которых уже завершена дифференцировка пола, по нашим наблюдениям, менее выражено, чем полученный эффект от более ранней (в возрасте 1 мес. после вылупления) однократной инъекции препарата. Можно заключить, что сурфагон в раннем онтогенезе рыб оказывает положительное регуляторное влияние на их репродуктивную систему, но качественно это влияние зависит от того, в каком возрасте осуществлено воздействие вещества. По всей видимости, в период перед дифференцировкой пола эндокринная система рыб более восприимчива к действию препарата.

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ, проект № 14-14-01171-П.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Богерук А.К. 2006. Породы радужной форели (*Oncorhynchus mykiss* W.). М.: Росинформагротех, 316 с.
- Голованов В.К., Валтонен Т. 2000. Изменчивость термоадаптационных свойств радужной форели *Oncorhynchus mykiss* Walbaum в онтогенезе // Биология внутр. вод. № 2. С. 106–115.
- Григорьев С.С., Седова Н.А. 2008. Индустриальное рыбководство. Ч. 1. Биологические основы и основные направления разведения рыбы индустриальными методами. Петропавловск Камчатский: Изд-во КГТУ, 188 с.
- Емельянова Н.Г., Павлов Д.А., Павлов Е.Д. и др. 2014. Аномалии в состоянии яичников полосатой зубатой барабули *Parupeneus multifasciatus* (Mullidae) из прибрежной зоны южной части центрального Вьетнама // Вопр. ихтиологии. Т. 54. № 1. С. 78–86.
- Зданович В.В., Панов В.П., Келехсаев М.З. 2013. Рост и продукционные показатели молоди радужной форели *Oncorhynchus mykiss* Walbaum при постоянных температурах и в условиях температурного градиента // Изв. ТСХА. Вып. 1. С. 97–103.
- Макеева А.П. 1992. Эмбриология рыб. М.: Изд-во МГУ, 216 с.
- Микодина Е.В., Пукова Н.В. 2002. Методические рекомендации по изучению фенотипических признаков семеник у дальневосточных лососей. М.: Экономика и информатика, 93 с.
- Микодина Е.В., Седова М.А., Чмилевский Д.А. и др. 2009. Гистология для ихтиологов: опыт и советы. М.: Изд-во ВНИРО, 112 с.
- Мурза И.Г., Христофоров О.Л. 1991. Определение степени зрелости гонад и прогнозирование возраста достижения половой зрелости у атлантического лосося и кумжи. Л.: Изд-во ГосНИОРХ, 102 с.
- Павлов Д.С., Павлов Е.Д., Ганжа Е.В. и др. 2014. Цитологическое состояние гонад и уровень тиреоидных и половых стероидных гормонов у двух фенотипических форм молоди черноморской кумжи *Salmo trutta labrax* // Вопр. ихтиологии. Т. 54. № 4. С. 470–478.
- Павлов Е.Д., Микодина Е.В., Седова М.А. и др. 2010а. Состояние гонад жилой нерки *Onchorhynchus nerka* из Толмачёвского водохранилища // Там же. Т. 50. № 3. С. 356–364.
- Павлов Е.Д., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ту Хуан Ту. 2010б. Состояние половых желёз молоди триплоидной форели *Oncorhynchus mykiss* в условиях южного Вьетнама после искусственной инверсии пола // Там же. Т. 50. № 5. С. 675–684.
- Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Нгуен Вьет Туи, Нгуен Ту Хуан Ту. 2013. Состояние половых желёз годовиков триплоидной радужной форели в высокогорных условиях Южного Вьетнама при воздействии андрогенного гормона // Там же. Т. 53. № 6. С. 726–740.
- Павлов Е.Д., Ганжа Е.В., Пономарева В.Ю. и др. 2016. Влияние метилтестостерона на физиологическое состояние и реореакцию радужной форели *Parasalmo mykiss* (= *Oncorhynchus mykiss*) при неблагоприятных условиях содержания // Там же. Т. 56. № 6. С. 740–752.
- Суховерхов Ф.М., Сиверцов А.П. 1975. Прудовое рыбководство. М.: Пищ. пром-сть, 470 с.
- Bidgood B.F. 1980. Tolerance of rainbow trout to direct changes in water temperature // Fish. Res. Rept. Fish Wild. Div. № 15. 11 p.
- Boyd C.E., Tucker C.S. 1998. Pond aquaculture water quality management. Boston: Kluwer Acad. Publ., 700 p.
- Conover D.O., Fleisher M.H. 1986. Temperature-sensitive period of sex determination in the Atlantic silverside, *Menidia menidia* // Can. J. Fish. Aquat. Sci. V. 43. P. 514–520.
- Conover D.O., Kynard B.E. 1981. Environmental sex determination: interaction of temperature and genotype in a fish // Science. V. 213. P. 577–579.
- Crim L.W., Glebe B.D. 1984. Advancement and synchrony of ovulation in Atlantic salmon with pelleted LHRH analog // Aquaculture. V. 43. № 1–3. P. 47–56.
- Devlin R.H., Nagahama Y. 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences // Ibid. V. 208. P. 191–364.
- Molony B. 2001. Environmental requirements and tolerances of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brown trout (*Salmo trutta*) with special reference to Western Australia // Fish. Res. Rept. West Austral. № 130. P. 1–28.
- Mylonas C.C., Hinshaw J.M., Sullivan C.V. 1992. GnRH-induced ovulation of brown trout (*Salmo trutta*) and its effects on egg quality // Aquaculture. V. 106. P. 379–392.
- Nomura T., Arai K., Hayashi T., Suzuki R. 1998. Effect of temperature on sex ratios of normal and gynogenetic loach // Fish. Sci. V. 64. P. 753–758.
- Pornsoping P., Unsrising G., Vearasilp T. et al. 2007. Reproductive performance of female rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) kept under water temperatures and photoperiods of 13° and 51°N latitude // Aquacult. Res. V. 38. № 12. P. 1265–1273.
- Powell J.F.F., Brackett J., Battaglia J.A. 1998. Induced and synchronized spawning of captive broodstock using ovaplant and ovaprim // Bull. Aquacult. Assoc. Can. V. 3. P. 14–18.