

УДК 597.533.2.591.46

*К. Е. Федоров, О. В. Зеленников***ДИФФЕРЕНЦИРОВКА ПОЛА У ГОРБУШИ *ONCORHYNCHUS GORBUSCHA* WALBAUM. РОЛЬ ОНТОГЕНЕТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ И ВЛИЯНИЕ ЭКЗОГЕННОГО ТЕСТОСТЕРОНА**

Накапливающиеся в литературе разрозненные данные свидетельствуют о лабильности половой структуры популяций горбуши. По наблюдениям ряда исследователей [4, 7], в регионах с большим объемом ее искусственного воспроизводства самцов было всегда больше, чем самок. Сообщается, в частности, что на соотношение полов у молоди горбуши могут оказывать влияние численность нерестовой части популяции [17], селективный отбор производителей для рыбоводных целей [1], фотопериод и другие условия заводского воспроизводства [8, 14]. Помимо естественного прикладного значения, вопрос о вариативности соотношения полов у горбуши приобретает также особый научный интерес в связи с непрямым (двухэтапным) становлением пола у данного вида, у которого вначале у всех зародышей формируются яичники, и только после вылупления у части личинок происходит передифференцировка яичников в семенники. Явления ювенильного протогинического гермафродитизма и инверсии пола у горбуши описаны в работах Г. М. Персова [9, 13, 15], однако, закономерности и процессы их регуляции до сих пор не изучены.

Цель нашей работы — изучить гонадо- и гаметогенез у генотипических самок и самцов горбуши в раннем онтогенезе; проанализировать влияние экзогенного тестостерона на ход протогинической феминизации гонад и последующей инверсии пола у самцов и формирование фонда ооцитов у самок; а также установить с генотипом какого пола наследуется у горбуши уникальный для лососевых рыб механизм дифференцировки пола.

**Материал и методика исследования**

Икру горбуши через 12 сут. после оплодотворения доставили с Анивского рыбоводного завода Сахалинской области в лабораторию ихтиологии Биологического НИИ СПбГУ и разместили в проточной системе с оборотным водоснабжением. Инкубацию икры, подращивание личинок и молоди осуществляли при температуре 9,0–12,5 °С.

Для исследования влияния экзогенного тестостерона на гонадо- и гаметогенез горбуши, зародышам с гонадами индифферентного состояния в возрасте 26 сут. от оплодотворения делали инъекцию масляного раствора 1 %-ного тестостерона-пропионата объемом 3 мкл. Поскольку динамика поступления гормона из желточного мешка в кровь была неизвестна, использовали широкий диапазон доз. Всего было проведено 4 опыта (далее ОП 1–4). В ОП 1 концентрация тестостерона в масляном растворе составила 0,001 %; в ОП 2 — 0,01 %; в ОП 3 — 0,1 % и в ОП 4 — 1 %. Нужную концентрацию гормона достигали, разбавляя исходный препарат оливковым маслом. Контрольным рыбам сделали инъекцию оливкового масла объемом 3 мкл. После инъекции гормона

контрольных и подопытных зародышей выдерживали в чашках Петри на промокательной бумаге с раствором Рингера. Вылупление горбуши произошло в возрасте 45 сут. после оплодотворения. Поскольку оболочки икринок в ходе инъекций были проколоты и самостоятельное вылупление зародышей было невозможно, как контрольных, так и подопытных рыб высвобождали из оболочек искусственно. О сроке высвобождения судили по вылуплению интактных зародышей этого же возраста, которых содержали в таких же условиях.

Для ответа на вопрос, с генотипом какого пола наследуется протогиническая феминизация гонад у самцов горбуши, исследовали гонады у молоди симы, а также гибридов симы и горбуши. При выполнении этой работы половые продукты брали от производителей непосредственно на нерестилище в р. Быстрая (в районе Анивского рыбоводного завода). В лабораторию ихтиологии зародышей доставили в течение двух суток после оплодотворения, где содержали в проточной системе.

До начала подкормки всех зародышей и личинок содержали в постоянной темноте, включая свет лишь во время чистки инкубационной системы. После начала кормления рыб в возрасте 90 сут. после оплодотворения освещение поддерживалось в режиме близком 16D:8L. Рыб кормили замороженным мотылем, который задавали с избытком.

Гонады рыб фиксировали в жидкости Буэна и в дальнейшем обрабатывали гистологически. Серийные поперечные срезы обеих половых желез (по 100–120 для каждой особи) окрашивали железным гематоксилином по Гейденгайну. Состояние гонад оценивали традиционно: 10 по площади их поперечных срезов, соотношению числа половых клеток разных этапов развития на десяти серийных срезах левой и правой гонад, диаметру и состоянию ооцитов старшей генерации [6].

### Результаты исследования

**Развитие половых желез у интактной молоди горбуши.** У зародышей горбуши в возрасте 22 и 26 сут. после оплодотворения половые железы были сформированы анатомически и находились в индифферентном периоде гонадогенеза на этапе митотического размножения первично-половых и гениальных клеток (внешний вид половых клеток всех состояний у горбуши можно видеть в монографии Г. М. Персова [15]). У большинства рыб на поперечных срезах гонад возможно было насчитать от 2 до 5 и только у отдельных особей до 10 гониев. К возрасту 32 сут. состояние гонад существенно не изменилось, но число гониев у зародышей увеличилось до 15–17 на один срез гонады. Принципиально иным состояние половых желез было у зародышей в возрасте 37 сут. У всех особей происходила феминизация гонад, о чем свидетельствовало появление среди гониальных клеток ооцитов периода ранней профазы мейоза в состоянии лептотены и зиготены. В день вылупления (45 сут. от оплодотворения) уровень развития гонад у зародышей зависел от объема сформировавшегося к этому времени фонда половых клеток. У рыб с относительно небольшим фондом (до 10 клеток на срез) преобладали ооциты начальных стадий ранней профазы мейоза, а при большем фонде (до 20–25 клеток) — ооциты стадии пахитены и ранней диплотены. В возрасте 63 сут. в яичниках личинок находили оогонии и ооциты всех стадий ранней профазы мейоза, а у некоторых из них были обнаружены одиночные (1–3 на срез) ооциты начала периода превителлогенеза диаметром от 20 до 35 мкм. В это же время у рыб с менее развитыми гонадами наблюдали связанные с инверсией картины дегенерации ооцитов ранней профазы мейоза: неправильной формы хромофильные скопления хроматина, разрушение ядерной и клеточной оболочек, лизис кардио- и цитоплазмы и запустение клеточных ячеек.

В возрасте 85 сут. половина изученной молодежи горбуши оказалась самцами. Их гонады на поперечном срезе имели овальную или удлинённую форму, площадь их составляла не более  $2-6 \times 10-3 \text{ мм}^2$  (в среднем  $2,9 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$ ), в плотной массе стромальных и эпителиальных клеток располагались от 2 до 6 гониев (в среднем 4,0). Таким образом, процесс инверсии гонад у генотипических самцов горбуши к этому времени завершился. У одновозрастных самок горбуши гонады на срезе были значительно крупнее (11–39, в среднем  $21,8 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$ ). По уровню развития яичников всех исследованных личинок можно было разделить на две группы: на рыб с относительно большим числом превителлогенных ооцитов (5–7 и более клеток на срез), у которых не было или встречались единичные ооциты ранней профазы мейоза (в среднем 0,3–0,4); и рыб с малым фондом ооцитов периода превителлогенеза (1–3 клетки на срез), у которых мейоцитов было значительно больше (в среднем 1,5–2,0 на срез). Диаметр превителлогенных ооцитов у тех и других самок был сходным и варьировал от 70 до 80 мкм.

В возрасте 90 сут. личинки горбуши начали переходить на экзогенное питание. К возрасту 100 сут. семенники горбуши фактически не изменились. Среди самок встречались особи с тремя различными состояниями яичников. Преобладали особи, гонады которых содержали практически исключительно превителлогенные ооциты (диаметр 90–100 мкм), причем у одних самок фонд этих клеток и соответственно площадь гонад на срезе были относительно небольшими (в среднем 3,8 ооцита и  $30 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$ ), а у других — значительно выше (9,2 клетки и  $54 \times 10^{-3} \text{ мм}^2$ ). У самок третьей группы, помимо превителлогенных, в яичниках присутствовало заметное количество ооцитов периода ранней профазы мейоза (до 0,8–1,0 на срез). Таким образом, у этих рыб, по-видимому, продолжалось пополнение небольшого по объёму (2,6 на срез) фонда превителлогенных ооцитов.

**Развитие половых желез у горбуши, обработанной тестостероном.** Через 11 сут. после гормонального воздействия (возраст 37 сут.) гонады зародышей, как и у интактных эмбрионов, находились в состоянии феминизации. Помимо гониев, в них обнаруживали также ооциты периода ранней профазы мейоза главным образом в состоянии лептотены и зиготены, реже пахитены. Только у рыб, получивших относительно высокие дозы гормона (ОП 3, 4), наблюдали некоторое уменьшение площади гонад и числа мейоцитов (табл. 1).

Через 2 мес. после начала опыта (возраст личинок 85 сут.) эффект воздействия гормоном оценивали на рыбах, получивших его в максимальной из использованных доз — ОП 4. В отличие от контроля, где инверсия пола у самцов завершилась, в опыте невозможно было отличить самок от самцов по состоянию гонад. У всех подопытных рыб присутствовали гонии и ооциты, число которых вместе с тем было крайне мало (см. табл. 1). Сравнение показателей развития гонад у подопытных и контрольных рыб показывает, что обработка тестостероном привела к уменьшению в 2–5 раз площади гонад на срезе и фонда половых клеток. У самцов явно задерживалась элиминация остаточных ооцитов.

Через 2,5 мес. после начала опыта (возраст молодежи 100 сут.) эффект гормональной обработки зародышей сохранился. Характер и выраженность этих изменений зависели от пола и дозы полученного гормона. У самцов в разных вариантах опыта средняя площадь гонад на срезе была в основном сходной с таковой у молодежи в контроле, но вариабельность этого показателя была выше у рыб, получивших тестостерон, особенно в ОП 4. В отличие от этого показателя, среднее число гониев на срез гонады у подопытных рыб было в 2–3 раза меньше, чем у контрольных. У некоторых получивших гормон самцов фонд половых клеток был настолько мал, что гонии обнаруживали не на каждом, а только

Состояние гонад у молоди горбуши, получившей инъекцию тестостерона-пропионата за 20 сут. до выгулления

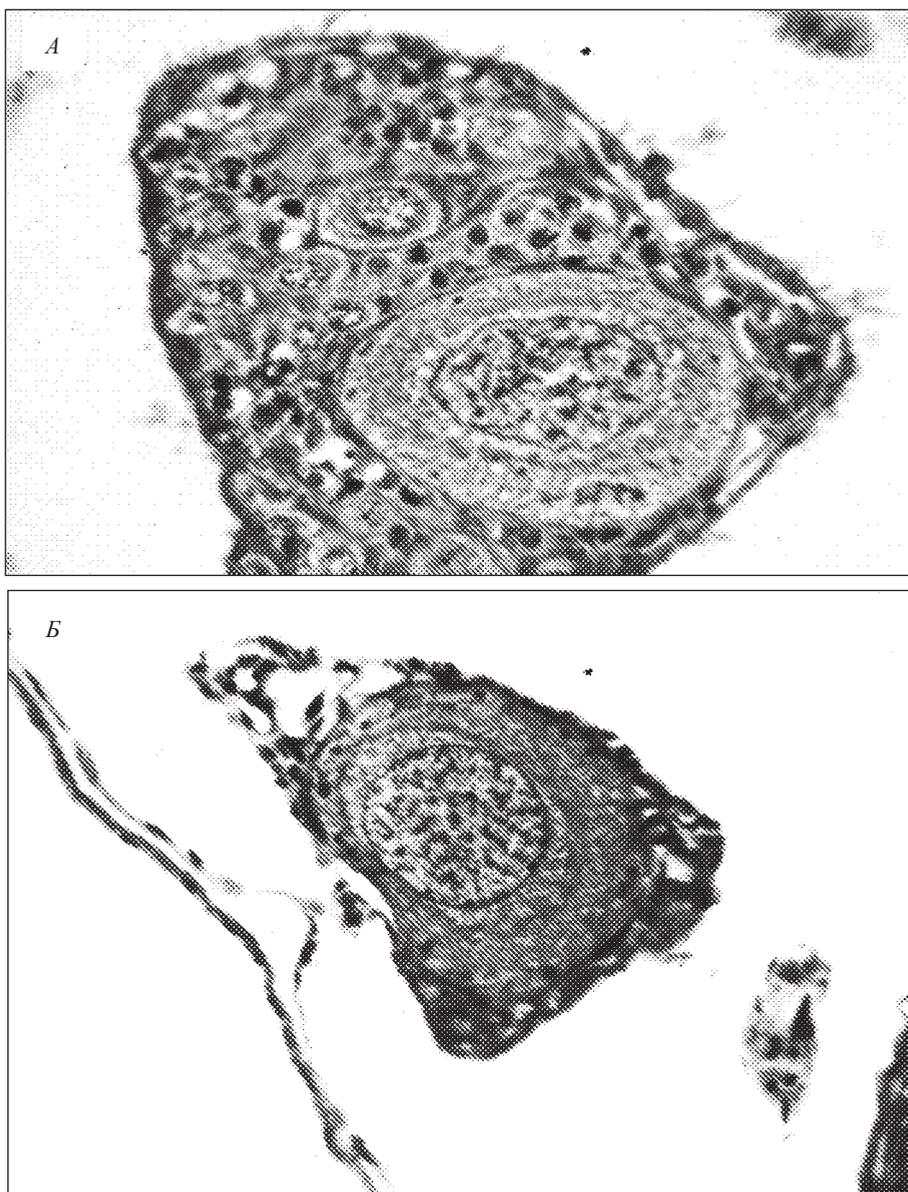
Возраст рыб, сут	Вариант опыта	Пол рыб	Число рыб	Длина рыб, мм	Масса рыб, мг	Площадь срезов гонад, ×10 <sup>-3</sup> мм <sup>2</sup>	Число на один срез			Диаметр ооцитов, мкм
							всех половых клеток	ооцитов ранней профазы мейоза	ооцитов преви- телло- геназа	
37	Контроль ОП 1 ОП 2 ОП 3	–	10	15,1 ± 0,6	104,1 ± 5,2	9,2 ± 1,2	10,3 ± 1,2	6,4 ± 1,1	0	–
		–	12	15,3 ± 0,3	91,3 ± 3,4	10,1 ± 1,0	9,6 ± 0,9	6,4 ± 0,6	0	–
		–	12	14,2 ± 0,4	87,4 ± 5,2	9,7 ± 1,3	10,3 ± 1,3	7,0 ± 1,3	0	–
		–	14	14,5 ± 0,2	93,1 ± 5,1	9,0 ± 1,0	8,9 ± 0,9	5,1 ± 0,8	0	–
85	Контроль ОП 4	–	10	14,1 ± 0,3	91,2 ± 5,6	5,9 ± 0,4	8,3 ± 0,7	5,8 ± 0,5	0	–
		самцы	5	26,4 ± 0,6	136,6 ± 11,7	2,9 ± 0,6	4,0 ± 0,6	0	0	–
		самки	5	26,1 ± 0,7	138,2 ± 13,1	21,8 ± 5,2	5,4 ± 1,2	1,0 ± 0,4	4,0 ± 1,0	68,1 ± 6,7
		Все	9	28,1 ± 0,3	143,1 ± 5,8	3,2 ± 0,4	1,7 ± 0,4	0,7 ± 0,3	0,4 ± 0,1	52,2 ± 5,0
100	Контроль ОП 1 ОП 2 ОП 3	самцы	3	29,0 ± 0,3	164,0 ± 1,0	2,5 ± 0,2	3,7 ± 1,0	0	0	–
		самки	3	29,2 ± 0,3	158,4 ± 4,3	38,3 ± 7,8	7,3 ± 1,4	0,6 ± 0,1	5,2 ± 2,0	97,7 ± 2,6
		самцы	4	30,7 ± 0,7	180,1 ± 9,4	2,5 ± 0,2	1,6 ± 0,4	0	0	–
		самки	6	31,0 ± 0,4	187,1 ± 14,3	43,0 ± 8,6	7,5 ± 0,7	1,0 ± 0,4	5,7 ± 0,2	84,3 ± 1,9
100	ОП 2 ОП 3 ОП 4	самцы	5	31,0 ± 0,7	190,0 ± 17,5	2,2 ± 0,2	0,9 ± 0,4	0	0	–
		самки	4	32,1 ± 0,7	231,2 ± 15,4	57,4 ± 11,7	8,2 ± 1,3	1,8 ± 0,2	4,9 ± 1,2	90,6 ± 3,9
		самцы	4	30,0 ± 0,8	183,2 ± 18,3	3,0 ± 0,1	1,8 ± 1,1	0	0	–
		самки	2	29,2 ± 0,7	165,0 ± 18,1	14,8 ± 5,7	2,7 ± 1,9	0,1	2,6 ± 1,9	84,4 ± 1,5
100	ОП 4	самцы	2	30,5 ± 0,5	182,0 ± 13,0	2,9 ± 1,2	1,7 ± 0,7	0	0	–
		самки	3	30,1 ± 1,1	179,4 ± 12,2	13,5 ± 3,0	3,4 ± 0,7	1,1 ± 0,3	1,3 ± 0,2	79,1 ± 3,0

на одном из 5–10 поперечных срезов семенников. У самок, получивших тестостерон в минимальных дозах (ОП 1 и 2), площадь яичника на срезе была больше, чем у контрольных рыб того же возраста (соответственно на 12 и 50 %). Это увеличение, вероятно всего, было связано с изменениями в соматической части гонад (васкуляризацией, развитием стромальной, жировой и стероидогенной ткани), которые не поддаются количественной оценке. Об этом же свидетельствует тот факт, что фонд превителлогенных ооцитов был фактически таким же, а их средний диаметр — несколько меньше, чем у контрольных особей. У самок горбуши в ОП 3 и 4 эффект подавления гонадо- и оогенеза оказался более выраженным. При сравнении с особями в контроле у подопытных рыб максимальная и средняя площадь яичника на срезе была в 2,5–3 раза, а количество превителлогенных ооцитов — в 2–4 раза меньше. Достоверно ( $p < 0,01$ ) меньше был у подопытных рыб и средний диаметр ооцитов старшей генерации. В гонадах отдельных самок можно было видеть картины дегенерации одиночных ооцитов: смещение ядра под оболочку клетки, хромофилия кариоплазмы, слияние ядрышек, лизис цитоплазмы и запустение клеточных ячеек. Нередко в яичниках подопытных рыб находили более молодые превителлогенные ооциты (рис. 1, А), что свидетельствовало о задержке характерной для горбуши синхронизации протоплазматического роста ооцитов. Сокращение фонда половых клеток (в том числе гониев и мейоцитов) сопровождалось и заметным уменьшением массы соматической ткани гонад. При крайней степени дегенерации яичников на их поперечных срезах можно было видеть по одному сравнительно крупному превителлогенному ооциту и минимальное количество стромальных клеток, окруженных плоским герминативным эпителием (рис. 1, Б).

**Состояние гонад у зародышей и личинок горбуши, сима и их гибридов.** Сравнительный анализ состояния половых желез был проведен у зародышей в возрасте 35 сут. от оплодотворения. При заданном в опыте температурном режиме инкубации вылупление первых личинок сима произошло через 5, а горбуши — через 10 сут., личинки их гибридов начали вылупляться в промежуточные сроки.

Незадолго до вылупления у всех зародышей горбуши и гибрида горбуша × сима гонады находились в состоянии цитологической дифференцировки по типу яичника, о чем свидетельствовало присутствие ооцитов ранних стадий профазы мейоза (лептотены и зиготены), а у половины исследованных рыб — и более поздних стадий мейотического превращения ядра половых клеток (стадии пахитены и ранней диплотены). При сравнении количественных показателей развития гонад (табл. 2) становится очевидным, что по их площади на поперечных срезах, числу мейоцитов и общему числу половых клеток на один срез яичники у гибридной формы были более развиты, чем у горбуши. В отличие от них у близких к вылуплению зародышей сима и гибрида сима × горбуша гонады находились в индифферентном периоде развития: половые клетки у сима были представлены исключительно гониями, а у ее гибрида с горбушей в некоторых яичниках можно было видеть одиночные ооциты ранних стадий профазы мейоза. Фонд половых клеток на срезе их гонад был существенно меньше ( $p < 0,01$ ), чем у горбуши и ее гибрида с симой.

Повторное сравнение уровня развития гонад было проведено у этих рыб в возрасте 25 сут. после вылупления, когда у гонотипических самцов горбуши обычно идет инверсия пола. Действительно, у 40 % исследованных личинок горбуши шла дегенерация ооцитов ранней профазы мейоза, а у остальных в яичниках закладывался уже фонд превителлогенных ооцитов. Аналогичное разделение на самок и будущих самцов (1:1) произошло и у личинок гибрида горбуша × сима. Различия в уровне развития гонад у самок



*Рис. 1.* Состояние гонад у молоди горбуши в возрасте 100 сут. от оплодотворения после инъекции тестостерона зародышам с когдами индифферентного состояния  
 Можно наблюдать задержку синхронизации (А) и сокращение (Б) фонда ооцитов у подопытных рыб.  
 Пояснение в тексте. Ок. 40 об. 10.

и будущих самцов как у родительской, так и у гибридной формы подтверждаются при анализе биометрических данных (см. табл. 2). Сравнение по этим же показателям яичников горбуши и гибрида показывает, что у горбуши яичники были крупнее, т. к. в них было больше ооцитов периода превителлогенеза (73 % против 35 %), причем средний

диаметр последних был больше, чем у гибридных личинок. Наоборот, у будущих самцов гибридной формы гонады оказались крупнее: у них было больше половых клеток и, в частности, в 6 раз больше ооцитов ранней профазы мейоза. Это может означать, что у гибрида горбуша × сима процесс элиминации этой первой генерации ооцитов идет медленнее, чем при инверсии гонад у генотипических самцов горбуши. С учетом фонда гониев общее число половых клеток в гонадах самцов той и другой формы оказалось сходным. У гибридной молодежи сима × горбуша половые железы были слабо развиты и находились в индифферентном состоянии.

### **Обсуждение результатов исследования**

Анализ хода развития половых желез у интактных зародышей горбуши выявил заметные индивидуальные различия в темпе формирования фонда половых клеток, сначала гониев, а затем и ооцитов ранней профазы мейоза. Незадолго до вылупления ооциты завершающих стадий мейотических преобразований ядра наблюдались в основном у рыб с относительно большим фондом половых клеток (от 10 до 17 на один срез). Уже после вылупления в яичниках личинок с большим количеством гониев и мейоцитов появлялись первые ооциты периода превителлогенеза. Отстающие в своем развитии гонады по завершении цитологической дифференцировки по типу яичника вступали в дальнейшем на путь реверсии. Отсюда можно сделать вывод, что половые различия в раннем гамето- и гонадогенезе горбуши проявляются не в ходе инверсии, а уже в самом начале протогинической феминизации гонад. Представляется важным, что переопределение пола у будущих самцов начинается не сразу после вступления гониев в раннюю профазу мейоза (в эмбриогенезе), а значительно позднее, на 10–15 сут. после вылупления, когда в гонадах личинок появляются ооциты периода превителлогенеза. В связи с этим складывается впечатление, что у будущих самцов горбуши, в отличие от самок, смена онтогенетических программ оогенеза — переход ооцитов к превителлогенезу (вегетативной фазе, в трактовке Равена [16]) — оказывается невозможным.

Возникающий в раннем постэмбриональном развитии горбуши импульс к элиминации половых клеток носит генерализованный характер, т. к. его получают гонады как будущих самцов, так и самок. Последствия дегенерации ооцитов оказываются полоспецифическими. У генотипических самцов вследствие этого процесса меняется половая ориентация гонад, а у самок почти в три раза сокращается фонд ооцитов [10, 12], и происходит обособление генерации относительно синхронно развивающихся превителлогенных ооцитов. В это же время у самок горбуши блокируется вступление половых клеток в мито- и мейотические циклы, и по мере роста ооцитов периода превителлогенеза последовательно уменьшается число ооцитов ранней профазы мейоза.

Пытаясь оценить причины и возможный биологический смысл ювенильного протогинического гермафродитизма и непрямого пути дифференцировки пола у горбуши, Г. М. Персов [11] выдвинул предположение, что «самочий» (вставочный) период в развитии семенников задерживает начало активного сперматогенеза и поэтому имеет важное значение для синхронизации созревания самок и самцов. Такое объяснение представляется неубедительным, если учесть известную экологическую пластичность сперматогенеза рыб [2, 3, 5] и тот факт, что активный сперматогенез у горбуши отсрочен на начало анадромной миграции самцов [13]. Представляется, что можно дать более логичное объяснение феномену протогинии, связав его с другой видоспецифической особенностью дифференцировки пола у горбуши. Так, из шести видов тихоокеанских лососей только у горбуши дифференцировка

Сравнительная характеристика половых желез у зародышей и личинок горбуши, сима и их реципротных гибридов

Виды рыб	Число рыб	Длина рыб, мм	Масса рыб, мг	Площадь срезов гонад, $\times 10^{-3}$ мм <sup>2</sup>	всех половых клеток	Число на один срез			Диаметр ооцитов, мкм
						гониев	ооцитов ранней профазы мейоза	ооцитов прерывитель-логенеза	
<i>Зародыши в возрасте 35 суток от оплодотворения</i>									
Горбуша	9	12,8 ± 0,1	112 ± 2,2	13,0 ± 1,4	6,2 ± 0,8	5,2 ± 0,7	1,0 ± 0,2	0	—
Горбуша × сима	7	13,3 ± 0,2	118 ± 2,1	17,4 ± 2,3	7,7 ± 0,8	5,3 ± 0,7	2,4 ± 0,5	0	—
Сима	10	16,3 ± 0,1	153 ± 1,8	6,4 ± 0,7	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,2	0	0	—
Сима × горбуша	4	15,5 ± 0,5	119 ± 6,2	9,6 ± 0,9	1,9 ± 0,4	1,8 ± 0,4	0,1	0	—
<i>Личинки в возрасте 25 суток от вылупления</i>									
Горбуша: самцы	5	25,7 ± 0,7	163 ± 3,5	2,2 ± 0,3	2,0 ± 1,0	1,8 ± 0,4	0,2 ± 0,1	0	—
Горбуша: самки	8	25,7 ± 0,3	150 ± 5,0	20,7 ± 3,6	8,5 ± 1,0	0,9 ± 0,3	1,4 ± 0,3	6,2 ± 1,0	44 ± 2,7
Горбуша × сима: самцы	5	27,8 ± 0,6	204 ± 9,2	5,1 ± 0,5	2,9 ± 0,5	1,6 ± 0,4	1,3 ± 0,3	0	—
Горбуша × сима: самки	5	27,0 ± 0,3	200 ± 7,3	17,8 ± 2,0	12,9 ± 2,0	0,6 ± 0,1	7,8 ± 1,6	4,5 ± 1,0	30 ± 1,5
Сима × горбуша	3	27,7 ± 1,2	182 ± 8,2	3,7 ± 1,6	1,5 ± 0,8	1,5 ± 0,8	0	0	—

гонад в женском направлении происходит очень рано (в эмбриогенезе), тогда как у других — значительно позднее, в личиночном или мальковом периоде развития. Сопоставление этих фактов, уже известных ранее, позволяет предположить существование особого эндокринного статуса зародышей, который допускает возможность половой дифференцировки их гонад только в женском направлении. В этом случае становится понятным, что последующая, уже в постэмбриогенезе, инверсия пола у половины личинок горбуши выступает в роли механизма неизбежной и необходимой коррекции соотношения полов в популяции.

Предпринятая в работе попытка изменить гормональный баланс у зародышей горбуши путем введения экзогенного тестостерона (в широком диапазоне доз) не предотвратила тотальную феминизацию их гонад. Причины этого могут заключаться в недостаточно высокой дозе гормона либо в низкой чувствительности гонадных клеток к андрогенам, либо в их физиологической половой дифференцировке по женскому типу еще до начала воздействия. В опытах с рентгеновским облучением зародышей горбуши Г. М. Персов [15] показал раннюю сексуализацию половых клеток (ППК и гониев первых порядков) — уже на 10–20-е сут. эмбрионального развития. В данной работе воздействие тестостероном было осуществлено на 26-е сут. инкубации икры.

В эмбриональный период развития ранняя реакция гонад на обработку гормоном была отмечена только у зародышей, получивших максимальное его количество:

уменьшились размеры гонад и число половых клеток (на срез железы). На основании этого факта можно предположить, что андрогены и, в частности, тестостерон не играют ведущей роли в дефеминизации гонад у генотипических самцов горбуши. В связи с этим большее значение, по-видимому, имеет изменение активности эстрогенов. О слабой компетентности семенников горбуши к полоопределяющему действию тестостерона свидетельствует и тот факт, что уже после завершения инверсии (у личинок в возрасте 100 сут.) продолжалось ингибирующее действие гормона на гаметогенез самцов, в том числе и при воздействии в относительно малых дозах. У некоторых рыб фонд оставшихся гониев был настолько мал, что семенники были близки к стерильности.

Обработка самок горбуши тестостероном в малых дозах не оказала заметного влияния на формирующийся фонд ооцитов, поэтому наблюдающееся у них увеличение размеров яичников (на срезе), по-видимому, было связано с перестройкой в их соматической ткани. Более эффективными оказались наибольшие дозы гормона. Через два месяца после однократной обработки у самок было выявлено существенное отставание в становлении фонда и росте превителлогенных ооцитов. В последующем это отставание несколько уменьшилось, вероятно, за счет перехода части постоянно присутствующих в яичниках ооцитов ранней профазы мейоза к превителлогенному росту. Столь же низкая чувствительность к андрогенам была обнаружена у протогониста белобрюхого ложного угря *Monopterus albus* (Zuiew), [20], тогда как у других видов — протогинических гермафродитов — талассомы *Talassoma bifasciatum*, тамарина *Halichoeres bivittatus*, и спарисомы *Sparisoma viridae* удавалось получить инверсию яичников при однократном введении тестостерона, метилтестостерона или 11-кетотестостерона [18, 19]. Следует отметить, однако, что во всех этих случаях гормон получали не зародыши, а молодь или взрослые рыбы.

Сравнение гаметогенеза горбуши, симы и их реципроктных гибридов позволило установить, с каким генотипом передаются видовые особенности дифференцировки пола у горбуши. На первом этапе наблюдений (до вылупления) тотальная феминизация гонад наблюдалась у горбуши и только у одной из двух гибридных форм, у которой самкой выступала горбуша, а не сима. Из этого факта однозначно следует, что такие уникальные особенности горбуши, как смещение сексуализации гонад на эмбриональный период и протогиния, связаны с генотипом самок. Более развитые гонады у гибрида горбуша × сима, чем у родительской формы, могут быть следствием эффекта гетерозиса. В связи с этим обращают на себя внимание более крупные размеры зародышей симы и ее гибридов с горбушей. На втором этапе наблюдений, в ранний постэмбриональный период, процесс инверсии гонад наблюдался только у горбуши и ее гибрида с симой. В этот период очевидные преимущества в развитии гонад имела горбуша. Так, у самцов гибрида горбуша × сима задерживалась инверсия гонад, в связи с этим оставалось больше ооцитов ранней профазы мейоза, а в гонадах самок было меньше ооцитов периода превителлогенеза, и они имели в среднем меньшие размеры, чем у самок горбуши. У 25-суточных личинок гибрида сима × горбуша цитологическая дифференцировка пола еще не начиналась. Это совпадает с данными Г. М. Персова [13], что первые ооциты ранней профазы мейоза обнаруживаются в гонадах симы не раньше, чем через месяц после вылупления.

### Заключение

Уникальная видовая адаптация горбуши, связанная с сокращением довителлогенного этапа оогенеза и его смещением на эмбриональный период развития, позволяет ей достигать половой зрелости намного раньше других тихоокеанских лососей.

Реализация данной гетерохронии, вероятно, обусловлена изменением обычных механизмов регуляции раннего гаметогенеза. В условиях эмбрионального развития и своеобразного эндокринного статуса зародыша половая дифференцировка гонад оказывается возможной только в женском направлении, при этом образуется избыточный фонд гониев и ооцитов ранней профазы мейоза. После вылупления личинок запускается механизм коррекции гамето- и гонадогенеза, проявляющийся в форме массовой дегенерации половых клеток в ходе инверсии гонад у будущих самцов и сокращения потенциальной плодовитости у генотипических самок. Одновременно у самок блокируются новые мито- и мейотические циклы половых клеток.

Экзогенный тестостерон не предотвратил феминизацию гонад у зародышей горбуши и не оказал существенного влияния на процесс инверсии гонад и гаметогенез у будущих самцов. Этот факт может свидетельствовать о низкой гормонокомпетентности гонад зародышей горбуши к полоопределяющему действию андрогенов. Выявлено подавляющее действие тестостерона на формирование фонда и рост превителлогенных ооцитов у самок.

Онтогенетические программы ранней (эмбриональной) феминизации и последующей инверсии гонад у генотипических самцов горбуши связаны с полом и, в частности, с генотипом самок.

## Литература

1. Алтухов Ю. П., Межкорин С. В., Салменкова А. Е., Омельченко В. Т. Воздействие селективного рыбоводства на адаптивную генетическую и биологическую структуру популяции горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.) // Генетика. 1989. Т. 25, № 10. С. 1843–1853.
2. Бабушкин Ю. П. Сперматогенез и половые циклы самцов радужной форели // Сб. науч. трудов ГосНИИ озер. и реч. рыб. хоз-ва. 1976. Вып. 117. С. 51–63.
3. Буцкая Н. А. Некоторые особенности функции семенников у рыб с различными типами нереста // Экологическая пластичность половых циклов и размножения рыб. Л., 1975. С. 108–122.
4. Воловик С. П., Ландышевская Л. Е., Смирнов А. И. Материалы по эффективности размножения горбуши на Южном Сахалине // Изв. Тихоокеанского НИИ морск. рыбн. хоз-ва и океанографии. 1975. Т. 81. С. 69–90.
5. Зеленников О. В. Гаметогенез радужной форели *Oncorhynchus mykiss*, выращенной в системе с оборотным водоснабжением от вылупления до полового созревания при оптимальной температуре // Вопр. ихтиол. 1999. Т. 39. Вып. 1. С. 89–97.
6. Зеленников О. В. Влияние закисления воды на гаметогенез радужной форели *Parasalmo mykiss* // Вопр. ихтиол. 2003. Т. 43. Вып. 3. С. 388–401.
7. Канидьев А. Н., Сакун О. Ф. Состояние половых желез у горбуши на разных этапах ее жизненного цикла в связи с акклиматизацией в бассейнах Белого и Баренцева морей // Уч. зап. ЛГУ. 1967. Сер. биол. Вып. 48. С. 92–108.
8. Пахомова Н. А., Хлевная А. С. Влияние некоторых факторов среды на дифференцировку пола у горбуши // Тез. докл. на 2-й Всесоюз. конф. «Вопросы раннего онтогенеза рыб». 1978. С. 86–87.
9. Персов Г. М. Характеристика раннего периода развития половых желез горбуши в связи с использованием ее как объекта акклиматизации // Материалы совещ. по вопр. рыбоводства. М., 1960. С. 89–92.
10. Персов Г. М., Сакун О. Ф. Состояние половых желез у горбуши на разных этапах ее жизненного цикла в связи с акклиматизацией в бассейнах Белого и Баренцева морей // Уч. зап. ЛГУ. 1962. Сер. биол. Вып. 48. С. 92–108.
11. Персов Г. М. Адаптивные черты дифференцировки пола у рыб // Тез. докл. IV Совещ. эмбриологов (19–27 июня 1963). Л., 1963. С. 144–145.
12. Персов Г. М. «Потенциальная» и «конечная» плодовитость рыб на примере горбуши *Oncorhynchus gorbuscha* (Walb.), акклиматизируемой в бассейнах Белого и Баренцева морей // Вопр. ихтиол. 1963. Т. 3. Вып. 3. С. 430–496.
13. Персов Г. М. Ранний период гаметогенеза у проходных лососей // Воспроизводство и акклиматизация лососевых в Баренцевом и Белом морях. М.; Л., 1966. С. 7–44.

14. *Персов Г. М., Сакун О. Ф., Кудряшова Е. Н., Романенко А. С., Заборицков А. П., Чистова М. Н.* Развитие половых желез у горбуши при исключении морского периода жизни // Материалы сессии ученого совета Полярн. НИИ морск. рыбн. хоз-ва и океанографии (итоги 1964 г.). Мурманск, 1966. С. 196–202.
15. *Персов Г. М.* Дифференцировка пола у рыб. Л., 1975. 148 с.
16. *Равен Х.* Оогенез. М., 1964. 304 с.
17. *Чебанов Н. А.* О возможности прогнозирования соотношения полов в популяциях горбуши // Тез. докл. междунар. симп. по тихоокеанским лососям. Владивосток, 1990. С. 107–108.
18. *Baroiller J. F., Guiguen Y., Fostier A.* Endocrine and environmental of sex differentiation in fish // Cell Mol. Life Sci. 1999. Vol. 55. P. 910–931.
19. *Reinboth R.* Spontaneous and hormone — induced sex-inversion in wrasses (Labridae) // Publ. Staz. Zool. Napoli. 1975. Vol. 39. P. 550–573.
20. *Tang F., Chan S. T. H., Lofts B.* Effect of mammalian luteinizing hormone on the natural sex reversal of the rice-field ill *Monopterus albus* (Zuiew) // Gen. and Compar. Endocrinol. 1974. Vol. 4. P. 242–248.