

На правах рукописи



НГУЕН ТХИ ТУЕТ

**ВЛИЯНИЕ ИНВЕРСИИ ПОЛА НА РОСТ, РАЗВИТИЕ И ФОРМИРОВАНИЕ
ГОНАД НЕКОТОРЫХ ДЕСЯТИНОГИХ РАКОВ (НА ПРИМЕРЕ
MACROBRACHIUM ROSENBERGII И *CHERAX QUADRICARINATUS*)**

Специальность: 03.02.10 – гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук



005556347

4 ДЕК 2014

Астрахань – 2014

Работа выполнена на кафедре гидробиологии и общей экологии ФГБОУ ВПО «Астраханский государственный технический университет»

Научный руководитель: доктор биологических наук
Крючков Виктор Николаевич

Официальные оппоненты: **Ковачёва Николина Петкова**
доктор биологических наук
заведующая лабораторией марикультуры
беспозвоночных Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии
Малиновская Любовь Васильевна
кандидат биологических наук, ведущий специалист ЗАО «Октопус»

Ведущая организация: ФГБНУ «Всесоюзный научно-исследовательский институт ирригационного рыбоводства»

Защита состоится 29 декабря 2014 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д.307.001.05 при Астраханском государственном техническом университете по адресу: 414025, г. Астрахань, ул. Татищева, 16, ГК ауд. 313.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Астраханского государственного технического университета по адресу: 414025, Астрахань, ул. Татищева, 16 и на сайте <http://astu.org/Pages/Show/163-Objyavleniya-o-zaschitah>

Автореферат разослан 20 ноября 2014 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат биологических
наук, доцент



Мелякина Эльвира Ивановна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования

Десятиногие раки (отряд *Decapoda*) – это высокоорганизованные и наиболее крупные представители ракообразных. Десятиногие раки встречаются практически во всех широтах Мирового океана и заселяют морские, пресные и солоноватые водоемы. Подотряд креветки (*Natania*), относящийся к длиннохвостым ракам (*Macrura*), состоит более чем из двух тысяч видов, объединенных в 250 родов (Макаров, 2004; Viet Chuong, 2007). Род креветок *Macrobrachium* распространен в основном в тропической зоне, характеризующейся температурой воды 27°C с незначительными колебаниями (Хофштеттер, 2008). Австралийский красноклешнёвый рак *Cherax quadricarinatus* – тропический вид, обитающий в водоемах на северо-западе Квинсленда и Северной Территории Австралии, а также на островах Папуа – Новой Гвинеи (Борисов и др., 2013).

Практический интерес к проблемам регуляции половой структуры популяций десятиногих раков связан с особенностями роста самок и самцов. Исследованиями А. Sagi с коллегами (1986) показано, что при культивировании однополых популяций креветок энергия репродукции направляется в рост, в результате чего увеличиваются размерно-весовые показатели особей.

Этот факт послужил стимулом к проведению исследований по поиску простых и одновременно эффективных методов, с помощью которых можно было бы осуществлять направленную инверсию пола у десятиногих раков. Были разработаны методы транссексуализации самцов в самок при удалении андрогенной железы у самцов креветок на ранних стадиях развития. Было показано, что при скрещивании полученных таким образом псевдосамок с нормальными самцами гигантских пресноводных креветок образовывались стада креветок, где доля самцов достигала 99 – 100% (Sagi et al, 1990, 2005, Afalo et al, 2006). Несмотря на то, что в упомянутых работах были достигнуты хорошие результаты, оставался ряд вопросов, для решения которых необходимы дальнейшие исследования. Прежде всего, это касается вопроса определения тех стадий развития репродуктивной системы, на которых манипуляции по изменению пола ракообразных будут особенно эффективны.

Температура воды – важнейший абиотический фактор, определяющий существование гидробионтов, их выживаемость и размножение. Кроме того, температура оказывает влияние на развитие гонад по мужскому или женскому типу, в том числе и у австралийского рака *Cherax quadricarinatus* (King, 1994; Yeh, 1995; Zhao, 2000; Garcia-Guerrero, 2003; Karplus, 2003).

Несмотря на кажущуюся полноту информации о транссексуализации у десятиногих раков, имеется потребность в углублении знаний в области цитологии и гистологии ракообразных в условиях нормы и при изменении пола. Хотя морфология половой системы ракообразных ранее описана в работах многих исследователей (Шарова, 2003; Evans, 2002), в доступной литературе содержатся только общие сведения о гистологическом строении различных тканей, органов и систем органов ракообразных. Решение ряда гидробиологических вопросов требует исследований на самых разных уровнях – от молекулярного, клеточного и организ-

менного до популяционного и биоценотического (Константинов, 1979; Зилов, 2009). Например, при изучении процессов размножения гидробионтов принимают во внимание не только динамику численности популяции, но и созревание половых желез на разных стадиях развития. Внедрение современных гистологических методов в гидробиологию имеет большое значение при изучении морфогенеза ракообразных и расширяет возможности дальнейшего, более полного изучения гидробионтов.

Целью исследования было изучение особенностей роста, а также гонадо- и гаметогенеза некоторых десятиногих раков (на примере *Macrobrachium rosenbergii* и *Cherax quadricarinatus*) в норме и при изменении пола.

Поставленная цель определила следующие задачи:

1. Выявить особенности развития репродуктивной системы гигантских пресноводных креветок в условиях искусственных экосистем;
2. Охарактеризовать становление репродуктивной системы и созревание гамет австралийских раков;
3. Изучить рост псевдосамок гигантской пресноводной креветки, полученных путём удаления андрогенной железы;
4. Дать сравнительную характеристику процессов гонадо- и гаметогенеза у самок креветки *Macrobrachium rosenbergii* в норме и при инверсии пола;
5. Доказать влияние температуры на развитие, рост и дифференцировку пола у рака *Cherax quadricarinatus*;
6. Изучить особенности репродуктивной системы гермафродитов австралийского рака.

Научная новизна работы

Впервые изучено развитие репродуктивной системы гигантской пресноводной креветки и австралийского рака в контролируемых условиях. Исследована эффективность транссексуализации самцов в самок удалением андрогенной железы на разных стадиях развития гонад.

Впервые изучено становление гонад по женскому типу у «псевдосамок» креветок с мужским генотипом после удаления андрогенной железы. Впервые установлены значения эффективных температур, оказывающих влияние на формирование пола у австралийских раков. Впервые исследованы гонады гермафродитов раков с использованием гистологических методов. Дана сравнительная характеристика развития гонад австралийских раков при различных температурах.

Теоретическая и практическая значимость работы.

Разработана шкала зрелости гонад гигантской пресноводной креветки, которая может быть использована при искусственном разведении креветок.

Установлены стадии развития гонад, на которых пол креветок может быть переопределён, в результате чего возможно образовывать «псевдосамок». Это закладывает основу для разработки новых технологий производства популяции с большим количеством самцов не только у представителей отряда *Decapoda* (Latreille, 1802), но и у других ракообразных для увеличения рентабельности товарного выращивания.

Методология и методы исследования

Методологической базой диссертации является исследование таких ученых, как К. Д. Салбиевый, Л. А. Акоева (2008), M. Garcia-Guerrero, H. Villarreal, I. S. Racotta (2003), A. Sagi, E.D. Afalo (2005), E.D. Afalo, V.H. Nguyen, Q. Lam, D.M. Nguyen, Q.S. Trinh (2006), M. S. De Bock, L. S. Lopez Greco (2010) и др.

Работа выполнена с применением комплекса методов исследований, включающего в себя морфометрические, экспериментальные, микрохирургические, гистологические методы.

Основные результаты отображены в таблицах, графиках, представлены микрофотографии гистологических препаратов.

Количественные данные обработаны статистическими методами.

Положения, выносимые на защиту.

Гонады пресноводной креветки и австралийского рака в своём развитии проходят через пять стадий, которые характеризуются морфо-гистологическими особенностями половых клеток.

Дифференцировка пола *Macrobrachium rosenbergii* на стадии 20 – 50 дней (длина карапакса менее 10 мм) после метаморфоза (PL 20 – 50) ещё полностью не был определён. Удаление андрогенной железы на этих стадиях способствует формированию половой системы по женскому типу.

На дифференцировку гонад австралийских раков по мужскому типу оказывает влияние как пониженная, так и высокая температура.

Декларация личного участия автора. Автор самостоятельно спланировала и провела все эксперименты, обработала и проанализировала полученные результаты. Диссертационная работа написана автором самостоятельно под руководством д.б.н., проф. Крючкова В. Н.

Степень достоверности результатов определяется достаточным объемом собранного материала, применением методов, адекватных поставленным задачам, а также общепринятыми статистическими методами обработки данных.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы представлены на следующих конференциях: II Международной научно-практической конференции «Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков» (Новосибирск, 2013); VII Международной заочной научно-практической конференции «Естественные и математические науки в современном мире» (Новосибирск, 2013); международной научно – технической конференции «Наука и образование – 2013» (Мурманск, 2013); 3-й международной научной практической конференции «Теоретические и практические проблемы развития современной науки» (Махачкала, 2013); Международной научной конференции профессорско-преподавательского состава АГТУ (Астрахань, 2013, 2014); Proceedings of the 2nd International conference on Eurasian scientific development. «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH (Vienna, 2014).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 работ, в том числе 5 в изданиях, рекомендуемых ВАК.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, изложенных в 3 главах, заключения, выводов и

практических рекомендаций. Список использованной литературы состоит из 198 источников, из них 99 зарубежных.

Материал изложен на 139 страницах, содержит 12 таблиц, 50 рисунков.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Глава 1. Обзор литературы

В данной главе приводятся сведения о биологии, росте и развитии креветки *Macrobrachium rosenbergii* и рака *Cherax quadricarinatus*, о направлениях современных исследований, касающихся изучения репродуктивной системы десятиногих раков.

Глава 2. Материалы и методы исследования

Работа выполнена на кафедре гидробиологии и общей экологии Астраханского государственного технического университета в 2011 – 2014 годах. Экспериментальная часть работы проводилась на базе малого инновационного предприятия «Эко-тропик».

Объектами исследования были представители десятиногих раков (*Decapoda*) – австралийский красноклешнёвый рак *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) и гигантская пресноводная (королевская) креветка *Macrobrachium rosenbergii* (De Man, 1879).

В работе применялся комплекс методов.

Морфометрические методы. Определялись общая длина, длина карапакса и масса десятиногих раков. Размерные показатели креветок и раков были определены по методу К. Anger и G. Moreira (1998). Гистологические препараты анализировались методами медицинской морфометрии (Автандилов, 1990). Гонадосоматический индекс десятиногих раков рассчитывался в процентах как отношение массы органа к массе тела без внутренностей (Правдин, 1966; Веллер, 1991).

Экспериментальные методы. Целью экспериментов было исследование влияния температуры на развитие половой системы и детерминацию пола у австралийских раков. Самок с развивающимися яйцами содержали при разных температурах: при низкой температуре $24 \pm 1^\circ\text{C}$, при оптимальной для эмбрионального развития раков температуре $27 \pm 1^\circ\text{C}$ и при повышенной температуре $30 \pm 1^\circ\text{C}$.

Температурный режим содержания рачат в течение 60 дней был следующим: 1. Температура инкубации – $24 \pm 1^\circ\text{C}$, температура содержания рачат – $27 \pm 1^\circ\text{C}$ и $30 \pm 1^\circ\text{C}$; 2. Температура инкубации – $27 \pm 1^\circ\text{C}$, температура содержания рачат – $27 \pm 1^\circ\text{C}$; 3. Температура инкубации – $30 \pm 1^\circ\text{C}$, температура содержания рачат – $27 \pm 1^\circ\text{C}$ и $30 \pm 1^\circ\text{C}$.

По окончании опыта оценивали влияние температуры на дифференцировку пола и гонадо- и гаметогенез.

Микрохирургические методы. Удаление андрогенной железы самцов гигантской пресноводной креветки выполнялось на стадиях PL 30, PL 40 и PL 50 по методу, описанному E.D Aflola и др. (2006). Спустя месяц проводили контрольный осмотр оперированных креветок. Если последний сегмент второй плеоподы

был без мужского отростка, это указывало на то, что были получены особи «псевдосамок» с генотипом ZZ (генотип самца).

Гистологический анализ выполняли по общепринятым методикам (Ромейс, 1953; Волкова, 1982; Заварзин, 1985). Объекты после удаления хитинного покрова и ненужной части фиксировались раствором Буэна. Подготовка проб производилась по обычной схеме – проводка через спирты возрастающей крепости, заключение в парафиновые блоки, приготовление срезов толщиной 4-5 мкм, окрашивание гематоксилин-эозином по Гейденгайну и азокармином с докраской по Маллори. Анализ и фотографирование микропрепаратов осуществлялись на микроскопе «Olimpus BN-2».

Физиологические методы. Контроль роста осуществляли 1 раз в месяц. Скорость роста (GR) за единицу времени определяли по формуле:

$$GR = \frac{\Delta w}{t_2 - t_1}$$

где, Δw – изменение массы, при этом $\Delta w = w_2 - w_1$, w_1 и w_2 – начальный и конечный вес особи, t_1 – начальное время, t_2 – конечное время (Вундцеттель, 2003). Ядерно-цитоплазматическое отношение (ЯЦО) клеток животных вычислялась по формуле Воробьева (1970) и Автандилова (1990).

Гидрохимический контроль условий содержания раков проводился по следующим показателям: pH, растворенный кислород, концентрация в воде азота (нитраты, нитриты, амоний). Температурный и газовый режимы воды соответствовали технологическим нормам по выращиванию десятиногих раков (Michael, 1997; Boyd, 2000).

Статистические методы. Статистическую обработку результатов проводили по критерию Стьюдента (Бейли, 1962) с использованием интегрированного пакета статистической обработки информации STATGRAPHICS.

Всего было исследовано 451 экз. молоди и взрослых гигантских пресноводных креветок, более 1000 экз. молоди взрослых австралийских раков.

Глава 3. Развитие половой системы у некоторых десятиногих раков (*Macrobrachium rosenbergii* и *Cherax quadricarinatus*)

3.1. Формирование половой системы гигантских пресноводных креветок

Нормальное развитие гонад и созревание половых клеток во многом определяет эффективность размножения, что имеет значение как для успешности вида в естественных условиях обитания, так и при культивировании в искусственных экосистемах.

У самцов гонопоры появлялись под коксальными выростами пятой пары ходильных ног при минимальной длине карапакса 7,5 мм, у самок – на коксах третьей пары переоподов, при этом длина карапакса была 7,8 мм.

Сами гонады начинали формироваться гораздо позже, зачатки семенников и яичников впервые обнаруживались между сердцем и печенью в возрасте 55-60 дней после метаморфоза, при этом зачатки гонад еще не имеют характерных для них этих органов черт строения.

После образования гонопор и формирования мужского отростка (приблизительно на 70 день после метаморфоза) строение семенника креветки приобретает типичные черты. В развивающемся семеннике имеются чётко выраженные сперматогенные дольки. На рассматриваемой стадии развития семенника в каждой отдельной сперматогенной дольке содержались мужские половые клетки на разных стадиях развития, как сперматогонии, так и сперматоциты. Сперматогонии, расположенные на периферии семенника, имеют наибольшее число митотических фигур.

В данной работе не стояла задача глубокого изучения процессов созревания семенников гигантских креветок и, соответственно, происходящих морфологических преобразований, внимание концентрировали на определении стадии, когда гонады достигают своего полного развития. Это закладывает научные основы для определения возраста креветок, когда манипуляции по удалению андрогенной железы будут наиболее успешны.

По результатам собственных исследований и с учётом сведений, представленных в литературе, были выделены пять стадий зрелости яичников *M. rosenbergii*:

1. Первая стадия. Ювенильные (неполовозрелые) креветки. Яичники данной стадии зрелости были обнаружены у креветок с длиной карапакса 7-10 мм (в возрасте 40-70 дней). Яичники неполовозрелых креветок – мелкие, прозрачные, расположены под панцирем и ограничены абдоменом. Они имеют овальную форму и содержат только оогонии и сферические яйца, клетки которых имеют прозрачную протоплазму и хорошо выраженные ядра. Диаметр клеток составил в 0,0062- 0,122 мм (среднее значение – 0,068±0,023 мм). Неполовозрелая стадия характеризуется главным образом преобразованием ядер половых клеток.

2. Вторая стадия. Ранняя стадия созревания, наблюдается у особей с длиной карапакса более 10 мм в возрасте 80-150 суток, а также у самок вскоре после нереста. Прозрачные и почти бесцветные яичники занимали приблизительно $\frac{1}{4}$ - $\frac{1}{2}$ длины полости панциря. Начало превращения оогониев в ооциты. На срезах яичника видны комплексы клеток, начиная от оогониев и до ооцитов синаптономного пути и периода протоплазматического роста. Собственная оболочка ооцитов становится толще, над ней формируется фолликулярная оболочка. К концу стадии диаметр яиц достигает величины 0,186-0,438 мм (в среднем – 0,315±0,106 мм).

3. Третья стадия. Поздняя стадия созревания. Яичник на этой стадии желтовато-оранжевого цвета, видимый сквозь покровы тела, занимает более трех четвертей длины полости панциря. Диаметр яиц колебался от 0,318 до 0,542 мм (среднее значение – 0,46±0,07 мм). Стадия характеризуется наличием ооциев периода трофоплазматического роста. Вместе с тем в яичниках креветок присутствуют и половые клетки резервного фонда, состоящего из оогониев и ооциев периода протоплазматического роста. В ооците накапливаются питательные вещества. Одновременно развивалась оболочка ооцита, представляющая собой двухслойную *zona radiata*.

4. Четвертая стадия. Стадия зрелости. Яичник темно-желтого цвета, тянется от глаз до первого абдоминального сегмента. Яйца имеют овальную форму, диаметр 0,447- 0,765 мм (среднее значение 0,614±0,12 мм). На этой стадии в яич-

никах присутствовали ооциты, закончившие трофоплазматический рост и предназначенные для вымета во время предстоящего нереста. В течение этой стадии завершается подготовка ооцитов к оплодотворению. В ядрах исчезали ядрышки. Кариоплазма большей частью перемешивались с цитоплазмой, а незначительная её часть сохраняется в виде островков, образующих разветвленную сеть.

5. Пятая стадия - Постнерестовая стадия. Гонады возвращается в стадию III зрелости, поэтому креветки на этой стадии отличается от неполовозрелых самок только размерами.

3.2. Характеристика развития половой системы австралийских раков

К окончанию личиночной стадии развития у молодых раков уже сформированы дыхательная, выделительная, пищеварительная и нервная системы, но половая система только начинала формироваться. Определение пола раков по внешнему строению возможно с возраста 20 дней. В этом возрасте гонопоры у самцов выявлялись под коксальными выростами пятой пары ходильных ног при длине тела $24,3 \pm 1,7$ мм и длине карапакса $6 \pm 1,15$ мм, у самок – у основания третьей пары перепопов при общей длине $24,5 \pm 2,06$ мм и длине карапакса $6,5 \pm 1,35$ мм.

В возрасте 20 – 25 дней у рачат начали формироваться семяпровод и яйцевод.

Развитие половых желез является длительным и сложным процессом. На основе ранних (Макаров, 2004; Шихшабеков, 2004) и собственных исследований для определения хода созревания половых продуктов у самок и самцов разных рыб и ракообразных, разработана шкала зрелости половых клеток для австралийских раков *Cherax quadricarinatus*.

3.2.1. Процесс созревания гонад у самок австралийских раков

Результаты исследования всего периода формирования, развития и функционирования половых желез, созревания половых клеток позволили нам выделить в процессе созревания самок австралийских раков пять стадий.

Первая стадия – неполовозрелые молодые особи (в возрасте 30-90 дней, длина карапакса 7,5-18,5 мм). Половые железы имеют вид тонких прозрачных тяжей, расположенных под сердцем между долями гепатопанкреаса. В начальной стадии развития яичников половые клетки были представлены только оогониями. В возрасте 60-80 дней в яичнике присутствовали наряду с оогониями и молодые ооциты периода протоплазматического роста, их диаметр был $42,35$ мкм, диаметр их ядер колебался в пределах от $7,81$ до $34,14$ мкм (среднее значение $19,42 \pm 1,33$ мкм). Ядерно-плазменное отношение ($0,323 \pm 0,2$) было наибольшим по сравнению с другими стадиями в $1,3-1,9$ раза ($P < 0,05$).

Вторая стадия – созревающие особи с длиной карапакса 19,5-24 мм (в возрасте 90-150 дней). Ооциты имели крупные размеры за счет увеличившегося ядра и объема протоплазмы. Наряду с ооцитами, прошедшими период протоплазматического роста, в яичниках присутствовали также оогонии и ооциты начальных фаз периода трофоплазматического роста.

На **третьей** стадии яичники были увеличены в размерах по сравнению с предыдущей в $1,3-1,8$ раз ($P < 0,001$). Яичники занимали от трети до половины длины панциря и содержали ооциты, видимые невооруженным глазом. Третья стадия зрелости яичников характеризуется наличием ооцитов периода трофо-

плазматического роста. Вместе с тем, в яичниках раков присутствуют овогонии и ооциты периода протоплазматического роста. В ядре ядрышки отходят от карิโอплазмы вглубь. К концу стадии желток занимает почти всю плазму ооцитов. Ядерно-плазменное отношение ооцитов второго порядка на данной стадии меньше аналогичного показателя ооцитов самок на предыдущей стадии развития в 1,5-3 раз ($P < 0,001$).

Четвертая стадия – зрелая стадия (стадия созревания). Ооциты достигали дефинитивного состояния и затем переходили к созреванию. В этой стадии завершалось образование оболочек яйца, подготовка ооцитов к оплодотворению и происходило освобождение ооцитов от фолликулярной оболочки.

Пятая стадия характеризует посленерестовое состояние половых желез.

3.2.2. Характеристика зрелости половых желез самцов австралийских раков

По мере развития половых клеток внутри семенников меняются и внешний вид, и размеры гонад. Количественно процесс развития и созревания гонад показан в таблице 1.

Таблица 1 - Показатели семенников *Cherax quadricarinatus* в зависимости от возраста и длины карапакса

Показатели	Возраст (дни) и длина карапакса (CL, мм) самцов				
	38 – 40 CL=8,8±0,54	90 дней CL=17,5±0,75	120 дней CL=25,8±1,2	150 дней CL=26,7±1,1	180 дней CL=26,5±1,35
Длина семенников, мм	1,05 ±0,15	1,74±0,2	4,2±0,4	6,9 ±0,51	7,1±0,46
Диаметр цист со сперматогониями, мкм	48,19–128,5 86,85±4,43	53,55 – 176,7 106,2±8,6	71,4 – 180,3 112,7±7,98	53,55 – 182,1 110,4±5,86	49,98 – 160,6 105,2±6,04
Диаметр цист со сперматоцитами, мкм	—	71,4 – 183,8 114,2±5,75	78,5 – 192,7 141,1±6,33	81,04 – 189,2 118,3±6,99	82,11 – 180,2 126,5±5,81
Диаметр цист со сперматоидами, мкм	—	—	62,4 – 155,3 102,8±5,25	73,2 – 144,6 109,4±5,57	66,04– 198,13 110,6±7,58
К-во цист со сперматогониями, %	100%	82,2%	31,9%	30,17%	29,6%
К-во цист со сперматоцитами, %	—	17,8%	55,67%	21%	21,05%
К-во цист со сперматоидами, %	—	—	12,43%	48,83%	49,35%

Примечание: в числителе – минимум – максимум, в знаменателе – $M \pm m$.

Генерации половых клеток австралийских раков вступают в процесс сперматогенеза в разное время года. Характерными особенностями развития семенников десятиногих раков является выраженная неравномерность (асинхронность) развития органа в целом.

Глава 4. Влияние удаления андрогенной железы на рост и формирование пола креветок *Macrobrachium rosenbergii* на ранних стадиях развития

У гигантских пресноводных креветок до достижения ими возраста 20-60 дней после метаморфоза фенотипически пол не определяется. Несмотря на то, что пол у десятиногих раков детерминирован генетически, дифференциация гонад по мужскому или женскому типу происходит под действием гормонов, следовательно, удаление андрогенной железы на этих стадиях способствует формированию половой системы по женскому типу.

В процессе выполнения операций предложенная E.D Afola и др. (2006) методика удаления андрогенной железы была модифицирована, первоначально вырезали железу вместе с одной переоподой пятой пары, а через 2-3 суток производили последующую манипуляцию по удалению второй переоподы. Это позволило существенно повысить выживаемость оперированных креветок

4.1. Характеристика роста креветок после удаления андрогенной железы

Темп роста самцов креветок, подвергнутых операции по удалению андрогенной железы, различался в зависимости от того, на какой стадии они были оперированы (таблица 2).

Таблица 2 – Размерно-весовые показатели креветок в опыте по удалению андрогенных желез

Показатели	Экспериментальные группы				
	Стадия проведения микрохирургии			Контрольная группа	
	PL 30	PL 40	PL 50	Самки	Самцы
Длина в возрасте 30 дней, мм	22,64±0,38	22,92±0,35	22,44±0,4	22,38±0,41	22,55±0,4
Масса в возрасте 30 дней, г	0,167±0,004	0,185±0,014	0,181±0,01	0,155±0,007	0,156±0,011
Длина в возрасте 60 дней, мм	32,45±0,53	33,02±0,41	33,64±0,47	32,83±0,51	34,15±0,48
Масса в возрасте 60 дней, г	0,806±0,06	0,892±0,12	0,931±0,102	0,978±0,13	1,024±0,108
Длина в возрасте 120 дней, мм	49,46±0,59	51,85±0,96	52,52±0,66	53,51±1,1	55,94±0,87
Масса в возрасте 120 дней, г	2,483±0,16	2,651±0,164	2,896±0,115	3,105±0,17	3,164±0,14
Темп роста в возрасте 30-60 дней, мг/сутки	21,3	23,6	25	27,4	28,1
Темп роста в возрасте 60-120 дней, мг/сутки	27,9	29,3	32,7	35,4	35,6

Несмотря на то, что самцы гигантских пресноводных креветок растут значительно быстрее, и масса половозрелых самцов превышает массу одновозрастных самок, в возрасте до 4 месяцев разница в темпе роста между самцами и самками незначительна. Это вполне объяснимо, если принять, что более крупные размеры тела самцов по сравнению с самками являются вторичным половым при-

знаком. А раз так, то этот признак (увеличенные размеры и, соответственно, более высокие темпы роста), как и другие вторичные половые признаки, формируется под действием половых гормонов. Понятно, что концентрация половых гормонов в организме будет гораздо больше тогда, когда мужские гонады достигнут своего максимального развития. В раннем возрасте влияние половых гормонов на рост еще не так выражено. Темп роста контрольных креветок через 90 дней опытов колебался в интервале 35,4– 35,6 мг/сутки, у самцов этот показатель был несколько выше, чем у самок, но различия были статистически недостоверны.

Как видно, креветки с удаленными андрогенными железами на стадии PL 30 имеют меньшую скорость роста по сравнению с креветками, оперированными на стадиях PL 40 и PL 50. Рост самцов и самок контрольных групп происходил не намного интенсивнее, чем у креветок с удаленными железами андрогена на стадии PL50, но при сравнении с креветками, у которых удалили железы на стадиях 30 – 40 дней после метаморфоза, эти различия были более заметны.

4.2. Особенности развития гонад псевдосамок гигантской пресноводной креветки

Несмотря на внешние признаки самок, не у всех «псевдосамок» развивался яичник.

Яичники псевдосамок были меньше по массе в сравнении с яичниками обычных самок. Так у шестимесячных псевдосамок масса гонад составила от 0,78 до 0,86 г, при этом значения гонадосоматического индекса были от 7,85% до 8,31%. В то же время у одновозрастных нормальных самок гонадосоматический индекс колебался в пределах 13,6– 16,1 %, что в 1,5–2 раза больше.

Что касается строения яичников на тканевом и клеточном уровнях, то у псевдосамок были обнаружены типичные по своему строению гонады, однако несколько отстававшие в своём развитии (таблица 3).

Таблица 3 – Сравнительная характеристика половых клеток «нормальных» и псевдосамок *Macrobrachium rosenbergii*

Показатели	120 дней после метаморфоза		180 дней после метаморфоза	
	Нормальные самки	псевдосамка	Нормальные самки	псевдосамка
Длина яичников, мм	6,2±0,46	4,5±0,61	9,38±0,35	8,5 ±0,43
Диаметр ооцитов малого роста, мкм	26,77 – 74,97 50,66±3,48	23,2 – 49,98 32,75±1,72	25,36 – 56,3 42,29±3,51	21,5 – 54,6 38,1±3,14
Диаметр ядер ооцитов малого роста, мкм	17,85 – 32,18 25,62±3,53	14,28 – 30,34 19,98±1,05	15,14 – 30,1 26,31±1,5	14,63 – 29,8 24,6±1,06
ЯЦО малого роста	0,417±0,04	0,637±0,06	0,456±0,02	0,472±0,03
Диаметр ооцитов большего роста, мкм	-	-	32,13 – 116 92,29±5,56	31,15 – 94,6 63,2±4,74
Диаметр ядер ооцитов большего роста, мкм	-	-	16,06 – 33,91 28,11±1,05	19,63 – 32,7 26,6±0,96
ЯЦО ооцитов большего роста	-	-	0,234±0,03	0,302±0,04

Примечание: ЯЦО – ядерно-цитаплазматическое отношение, в числителе – минимум – максимум, в знаменателе – M±m.

На стадии 120 дней средний диаметр ооцитов протоплазматического (малого) роста псевдосамки составил в $32,75 \pm 1,72$ мкм, что меньше диаметра ооцитов нормальной самки ($50,66 \pm 3,48$ мкм) в 1,5 раз ($P < 0,05$). Средний диаметр ядер ооцитов нормальной самки больше, чем средний диаметр ядер ооцитов псевдосамки в 1,2-1,3 раз. Ядерно-плазменное отношение ооцитов псевдосамки достигало у значения $0,637 \pm 0,06$, что больше аналогичного показателя одноразмерной и одновозрастной нормальной самки в 1,5 раз ($P < 0,01$). Это доказывает, что ооциты псевдосамки переходили в период протоплазматического роста позднее ооцитов нормальной самки.

На стадии PL 180 яичники и псевдосамок и нормальной самки характеризовались наличием ооцитов периода трофоплазматического роста, при этом размерные показатели ооцитов малого роста различались не существенно. Средний диаметр ооцитов периода большего роста нормальной самки оказался больше среднего диаметра таких же ооцитов псевдосамки приблизительно в 1,5 раз ($P < 0,01$). Ядерно-цитоплазматическое отношение ооцитов трофоплазматического роста псевдосамок составляло $0,302 \pm 0,04$, что существенно больше аналогичного показателя нормальных самок ($0,234 \pm 0,03$) в 1,3 раз, т.е. накопление трофических веществ в плазме клеток псевдосамки происходило медленнее по сравнению с нормальной самкой.

Таким образом, после удаления андрогенной железы у гигантских пресноводных креветок образуются особи, фенотипически не отличающиеся от обычных самок ни внешне, ни по строению гонад. Вместе с тем, было выявлено отставание в развитии гонад и половых клеток у псевдосамок по сравнению с «нормальными».

Глава 5. Влияние температуры на рост и формирование пола австралийских раков

5.1. Влияние температуры на развитие гонад австралийских раков

Изучение действия температуры на развитие гонад было проведено у раков на ранних стадиях развития, содержащихся при разных температурах, от $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ до $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$.

В возрасте 60 дней у самок опытных и контрольных групп (длина карапакса $14 \pm 0,91$ мм, общая длина $30,5 \pm 1,15$ мм) яичники были достаточно хорошо развиты. Вместе с тем, половые клетки отличались друг от друга по ряду морфометрических показателей (таблица 4). Средняя длина яичников у раков из группы низкой температуры ($2,15 \pm 0,16$ мм) была достоверно меньше, чем у высокотемпературной группы ($3,15 \pm 0,14$ мм) и у самок, содержащихся при температуре, которую принято считать оптимальной для успешного эмбриогенеза ($2,68 \pm 0,13$ мм).

При сравнении самок, содержащихся при высокой и оптимальной температурах, можно отметить, что размеры их яичников были почти одинаковы, однако средний диаметр ооцитов первого порядка у самок «высокотемпературной» группы был немного больше диаметра ооцитов самок «оптимальной» группы, хотя различия были не достоверны. В возрасте 60 дней ядерно-плазменное отношение ооцитов у самок, находившихся при высокой температуре (0,456) оказалось меньше аналогичного показателя ооцитов самок из групп оптимальной (0,465) и

низкой (0,471) температур. Таким образом, при повышенной температуре процессы созревания ооцитов ожидаемо происходят быстрее, что находит своё отражение в более быстром уменьшении отношения объёма ядра к объёму клетки.

Таблица 4 – Диаметр яичников и половых клеток равноразмерных самок при разных температурах

Показатели	Опытные группы, температура		
	30±1°C	27±1°C	24±1°C
Самки с длиной карапакса 14 мм в возрасте 60 дней			
Длина яичника, мм	3,15±0,14	2,68±0,13	2,15±0,16
Диаметр ооцитов I порядка, мкм	42,4±2,1	37,4±2,47	32,9±1,87
Диаметр ядер ооцитов I порядка, мкм	19,7±1,18	17,3±0,94	15,2±0,8
Ядерно-цитоплазм. отношение ооцитов I порядка	0,456	0,465	0,471
Самки с длиной карапакса 19 мм в возрасте 90 дней			
Длина яичника, мм	5,71±0,78	5,15±0,65	4,1±0,35
Диаметр ооцитов I порядка, мкм	69,5±3,68	63,77±3,24	42,78±2,83
Диаметр ооцитов II порядка, мкм	141,2±3,58	125,7±3,17	111,7±3,32
Диаметр ядер ооцитов I порядка, мкм	28,2±1,76	26,7±1,4	25,04±1,34
Диаметр ядер ооцитов II порядка, мкм	39,4±2,25	36,23±2,27	35,78±1,54
Ядерно-цитоплазм. отношение ооцитов I порядка	0,268±0,04	0,292±0,03	0,258±0,03
Ядерно-цитоплазм. отношение ооцитов II порядка	0,091±0,02	0,113±0,02	0,13±0,015

На стадии 90 дней (при длине карапакса самок 19-19,5 мм) в яичниках присутствовали оогонии, ооциты первого порядка и ооциты начальных фаз периода трофоплазматического роста. Размер яичника раков «низкотемпературной» по сравнению с другими был наименьшим (4,1±0,35) и, соответственно, ооциты также были самыми маленькими по сравнению с ооцитами самок других групп (P<0,05). Так, средний диаметр ооцитов первого порядка этой группы составлял 42,78 мкм, что меньше в 1,5 раз, чем у самок, содержащихся при высокой температуре, и меньше диаметра клеток оптимальной группы в 1,2 раза (P<0,001). Самый большой размер ооцитов периода трофоплазматического роста оказался в «высокотемпературной» группе (141,2±3,58 мкм), что больше ооцитов «низкотемпературной» группы на 29,5 мкм (P<0,001). Что касается размеров ядер ооцитов первого и второго порядка, то диаметр ядра увеличивался с повышением температуры воды в диапазоне 24°C до 30°C. На данной стадии ядерно-плазменное отношение ооцитов первого порядка достигло наибольшего значения 0,292±0,03 у группы самок оптимальной температуры, хотя довольно близкие значения были у «низкотемпературных» самок. В ооцитах второго порядка (ооциты трофоплазматического роста) значения ядерно-плазменного отношения были ожидаемо меньше. Интересно, что наибольшая разница по ядерно-плазменному отношению между ооцитами первого и второго порядков была у самок рака «высокотемпературной» группы. У них рассматриваемый показатель уменьшился в

2,95 раза, в то время, как у раков из двух других групп соответственно в 2,54 и 1,98 раза. Судя по этому результату, можно отметить, что под действием высокой температуры, не выходящей за пределы толерантности вида (30°C), происходит активация транспорта трофических веществ в ооциты. Образование желтка в ооцитах «высокотемпературных» самок происходит гораздо интенсивнее.

Таким образом, нами было установлено, что повышенная до 30°C температура воды способствует стимуляции развития гонад у самок австралийских раков. Гонады самцов нормально развиваются при температуре $27\pm 1^{\circ}\text{C}$. Увеличение размеров половых клеток самок при температуре $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ можно объяснить тем, что под действием высокой температуры во внутриклеточной и межклеточной жидкости может возникнуть сложное конвективное движение, что снимает ограничения диффузного движения жидкости вблизи клеток и, в свою очередь, приводит к более активному переносу веществ через мембраны.

5.2. Эффективность роста и соотношение полов у *Cherax quadricarinatus* при разных температурах содержания

Результаты исследования показали, что температура влияет не только на рост, но и на дифференцировку пола на ранних стадиях развития австралийских раков. Вместе с ростом температуры воды в диапазоне от 24 до 30°C наблюдалось ускорение процесса эмбрионального и личиночного развития. При высокой температуре продолжительность эмбриональной и личиночной стадии составила в 30-35 суток, что заметно короче, чем при низкой ($50-60$ суток) температуре 24 градуса. При 27°C , т.е. при температуре, которую мы приняли считать как оптимальную, продолжительность эмбриональной и личиночной стадии составила 40-45 суток.

Кроме сокращения длительности эмбрионального и личиночного развития температура оказывает влияние на рост рачат *Cherax quadricarinatus*. В возрасте 10 дней самыми развитыми были рачата, которые росли при 27°C (длина тела — $5,58\pm 0,13$ мм, масса — $0,092\pm 0,003$ г). Размерно-весовые показатели экспериментальных групп, содержащихся при более высокой и низкой температурах инкубации были заметно меньше. Так средняя масса особей «высокотемпературной группы инкубации» колебалась от $0,058\pm 0,001$ до $0,061\pm 0,001$ г, а у «низкотемпературной группы» — от $0,068\pm 0,004$ до $0,071\pm 0,002$ г ($P < 0,001$).

В возрасте 60 дней штучная масса особей, содержащихся при температуре 27°C , оказалась выше, чем у остальных групп, и соответственно скорость роста также была выше. Более высокий темп роста при температуре 30°C по сравнению с более низкой температурой был показан в возрасте 60-90 дней.

Было выявлено влияние температуры на соотношение полов на ранних стадиях развития раков. Если посмотреть на соотношение полов при температуре инкубации и раннего выращивания $27\pm 1^{\circ}\text{C}$ градусов, то мы отмечаем не только соотношение полов, которое можно назвать оптимальным, но и наименьшее количество гермафродитов (1,8%). Некоторое преобладание самок является нормальным для австралийских раков, которые образуют семейные группы с некоторым преобладанием самок.

Отмечено преобладание самцов в результате воздействия высокой температуры. Так, при температуре инкубации и выращивания на уровне 30°C относительное количество самцов больше по сравнению с группой, которую можно назвать контрольной, почти на 10%. Одновременно с этим, наблюдали и самое большое количество интерсексов – $8,4 \pm 0,15\%$. Появление при высокой температуре большого количества самцов было, в общем, довольно ожидаемым результатом. Но вместе с тем, оказалось, что почти такое же количество самцов было и при выращивании при температуре 24°C причём влияние оказала температура на этапе выращивания молоди, а не эмбрионального развития.

Сведения о соотношении полов раков при различных температурных условиях эмбриогенеза и выращивания молоди показаны на рисунке 1.

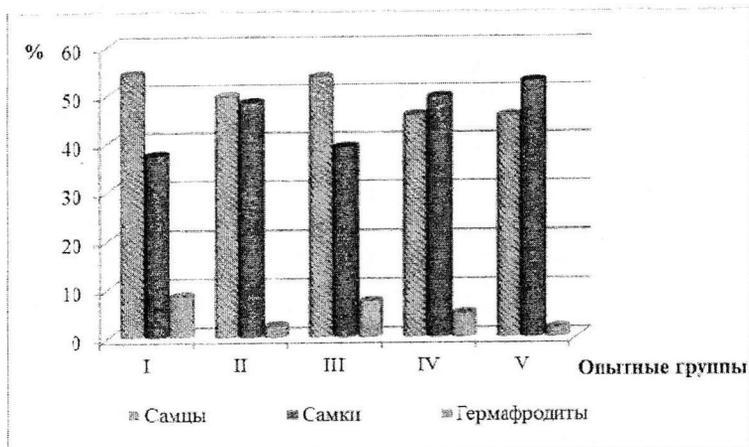


Рис. 1. Отношение полов австралийских раков при разных температурах.

I – опытная группа с температурой инкубации $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и температурой содержания рачат $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$,
 II – опытная группа с температурой инкубации $30 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и температурой содержания рачат $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$,
 III – опытная группа с температурой инкубации $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и температурой содержания рачат $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$,
 IV – опытная группа с температурой инкубации $24 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и температурой содержания рачат $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$,
 V – опытная группа с температурой инкубации $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ и температурой содержания рачат $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$

Во всех опытных группах отмечалось некоторое количество гермафродитов. Больше всего гермафродитов было, как уже отмечалось выше, в тех случаях, когда преобладали самцы. Преобладание самцов при одновременном увеличении доли интерсексов – свидетельство несомненного влияния внешнего фактора (в данном случае, температуры) на дифференцировку пола. У тех раков, которые после воздействия температуры при эмбриональном развитии, отличной от оптимальной, на выращивание были помещены в аквариумы с оптимальной температурой 27°C , количество самцов и гермафродитов было незначительно больше по сравнению с группой оптимальной температуры.

Результаты проведенных нами исследований влияния температуры на формирование половой функции австралийских раков находят подтверждение в

работам M. S. De Vock и L. S. Lopez Greco (2010), однако если упомянутые учёные показали, что инверсия пола по мужской линии происходит у самок, выращиваемых в условиях высоких температур ($31 \pm 1^\circ\text{C}$), то наши результаты свидетельствуют, что изменение пола по мужской линии может происходить не только при высокой температуре, но под влиянием низкой температуры на ранних стадиях развития.

5.3. Характеристика половой системы гермафродитов *Cherax quadricarinatus*

При культивировании раков ряд исследователей отмечали появление интерсексов, т.е. особей, обладающих одновременно мужскими и женскими половыми признаками (Борисов и др., 2013). В наших экспериментах были выявлены гермафродиты трёх типов: самка с одной мужской гонопорой (женский гермафродит), самец с одной женской гонопорой (мужской гермафродит) и особи, характеризующиеся одновременным наличием двух мужских и двух женских гонопор (бисексуальный гермафродит).

Количество самок с одной мужской гонопорой (женский гермафродит) составило $5,6 \pm 0,1\%$ при высокой температуре (30° при эмбриональном развитии и последующем выращивании) и $4,93 \pm 0,1\%$ при воздействии низкой температуры. Это свидетельствует о том, что под воздействием неоптимальной температуры самки австралийских раков имеют тенденцию к изменению пола по мужскому типу. У остальных групп также были выявлены те или иные незначительные различия в соотношении разных типов гермафродитов.

Настоящим исследованием показано, что развитие половой системы интерсекса раков зависит от температуры. У женских гермафродитов (образовавшихся при содержании оптимальной температуры 27°C) были обнаружены большей частью нормальные яичники, которые практически не отличались от яичников обычных самок, т.е. такой гермафродит физиологически является самкой (рис. 2 С). Вместе с тем, у некоторых женских гермафродитов, которые сформировались под влиянием как высокой, так и пониженной температуры, можно было наблюдать наличие семенника (рис. 2 А, Б). В гонадах таких гермафродитов одновременно присутствовали мужские и женские половые клетки. Размер семенника при этом был больше размера яичника женского гермафродита.

В яичниках некоторых гермафродитов-самок наблюдалось небольшое количество сперматогониев. Они были расположены в пустом пространстве между ооцитами. Интересно, что и мужские и женские половые клетки таких гермафродитов внешне выглядели как обычные половые клетки.

Созревание яичника женского гермафродита происходило стадийно, как и у нормальных самок. Т.е., несмотря на наличие элементов семенника, такая особь должна при окончательном созревании функционировать как обычная самка.

У мужского гермафродита всех групп формируется только семенник. По исследованию A. Sagi et al. (1996), такие гермафродиты имеют генотип самца. Поэтому развитие женских половых клеток у особей мужского и бисексуального гермафродитов обычно не наблюдается.

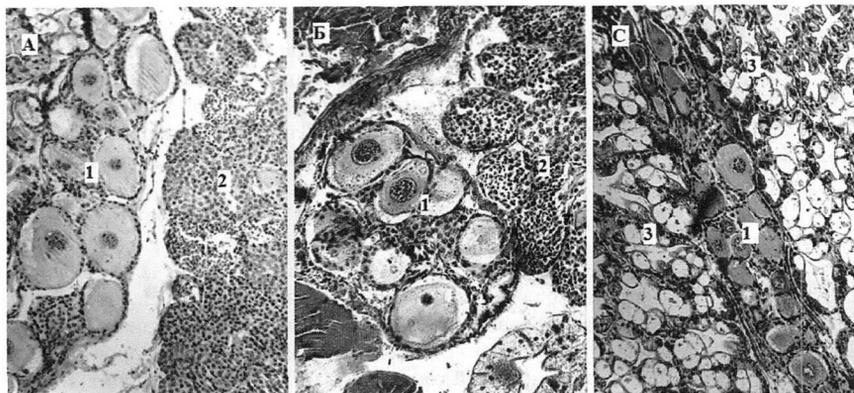


Рис. 2. Строение гонад женских гермафродитов рака высокотемпературной (А), низкотемпературной (Б) и оптимальной (С) опытных групп. Окуляр. 22, объектив 40. Гематосилин-эозин. 1 – яичник, 2 – семенник, 3 – печень.

Развитие гонад бисексуального гермафродита определяется в основном генотипом. Гонады такого гермафродита представлены либо только семенником, либо только яичником, либо одновременным наличием семенника и яичника. Аналогичные результаты также были получены Н. S. Yeh и D. B. Rouse (1995), A. Shechter, E.D. Aflalo (2005) и J. V. Fernanda (2007).

Обнаружение «третьего» пола, особенно мужского гермафродита, у *Cherax quadricarinatus* раскрывает новый путь исследования механизмов инверсии пола, показывает, какими способами в практических целях возможно регулировать соотношение полов австралийского рака, например, при искусственном культивировании.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования показали, что дифференциация гонад по мужскому или женскому пути развития у гигантских пресноводных креветок начинается на стадии 30-60 дней после метаморфоза, и у австралийских раков – в возрасте 20-40 дней. Применение технологий, с помощью которых возможна инверсия пола, например, влияние повышенной температуры или использование удаления андрогенной железы будет наиболее эффективно до достижения молодью раков этого возраста. Следовательно, настоящее исследование может явиться теоретической основой широкого применения технологий по изменению пола некоторых десятиногих раков в аквакультуре.

Нами впервые были изучены особенности развития гонад и возможность инверсии пола гигантских пресноводных креветок путем удаления андрогенной железы на разных стадиях в условиях искусственных экосистем. В процессе выполнения работы была усовершенствована методика образования «псевдосамок» креветок. Спустя три месяца после выполнения микрохирургии были получены

положительные результаты по транссексуализации самцов в самок. Показано, что у псевдосамок не проявлялись вторичные мужские половые признаки и гонопоры были расположены на основании третьей пары переоподов. Их яичники получили полное развитие в возрасте 3–4 месяцев после метаморфоза. В данном исследовании мы не пытались подвергнуть проверке успешность размножения псевдосамок, так как в мире уже существует много различных исследований по вопросу получения стада креветок с большим процентом самцов (100%) из псевдосамок (Sagi et al, 1986, 2005; Aflalo et al, 2006; Wikrom Rungsin et al, 2006). Нашей задачей было исследование того, насколько успешно протекает гаметогенез «псевдосамок», подтвердив тем самым положение, что хотя пол раков детерминирован генетически, развитие гонад по мужскому или женскому типу определяется гормональным воздействием на определённых стадиях развития.

Таким образом, определение стадии зрелости гонад в конкретных условиях выращивания позволит повысить долю успешно произведённых псевдосамок, что значительно удешевит и упростит данную биотехнологию.

Результаты проведенных нами исследование влияния температуры на изменение половой функции у самок австралийских раков находят подтверждение и в работах M. S. De Vock и L. S. Lopez Greco (2010). Результаты проведенных исследований показали способность транссексуализации у *Cherax quadricarinatus* на ранних стадиях развития под действием температуры. Длительность эмбриональной и личиночной стадии уменьшается с повышением температуры. При высокой и низкой температурах ($30 \pm 1^\circ\text{C}$ и $24 \pm 1^\circ\text{C}$) количество самцов и гермафродитов достигало наибольшего количества. Установлено, что повышенная температура способствует стимуляции развития гонад у самок австралийских раков по мужскому типу. Показано, что температура не оказывает влияние на изменение пола самок по мужскому типу в возрасте более 40 дней.

Таким образом, результаты, представленные в данной работе, позволяют выявить ряд закономерностей становления репродуктивной системы таких представителей десятиногих раков, как *Cherax quadricarinatus* и *Macrobrachium rosenbergii*, которые могут быть применены при исследовании процессов размножения раков и креветок в природной среде, при оценке и прогнозе численности их естественных популяций. Кроме того, результаты работы могут быть востребованы специалистами, занимающимися усовершенствованием технологий культивирования десятиногих раков в искусственных условиях.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что зачатки гонад гигантской пресноводной креветки *Macrobrachium rosenbergii* закладываются между сердцем и печенью в возрасте 55 – 60 дней после метаморфоза. Мужские и женские гонады получают своё окончательное развитие на стадии PL 50-90, и манипуляции, приводящие к инверсии пола, возможны только в данном интервале развития. Показано, что яичники пресноводной креветки в своём развитии проходят через пять стадий.
2. Выявлено, что дифференцировка пола у австралийских раков *Cherax quadricarinatus* начинается в возрасте 20 при длине тела самцов и самок $24,3 \pm 1,7$ и

24,5±2,06 мм соответственно. Установлено, что у самцов характерной особенностью созревания гамет является асинхронность в связи с неоднократным участием самцов в размножении в течение одного сезона. Для семенников закономерным является формирование сперматогенных долек, каждая из которых содержит полевые клетки только одной стадии зрелости.

3. Выявлена асинхронность развития и созревания ооцитов у австралийских раков *Cherax quadricarinatus* ооциты, которая проявляется в период трофоплазматического роста на третьей стадии зрелости яичников. При переходе яичников в V стадию зрелости не все ооциты одновременно заканчивают большой рост, поэтому после отложения икры яичник переходит не в VI, а в III стадию зрелости.

4. Показано, что креветки *Macrobrachium rosenbergii* с удаленными андрогенными железами на стадии 30 дней после метаморфоза имеют меньшую скорость роста по сравнению с креветками, оперированными на стадиях PL 40 и PL 50. Рост самцов и самок контрольных групп происходил ненамного интенсивнее, чем у креветок с удаленными железами на стадиях PL50, но при сравнении с креветками, у которых удалили железы на стадиях 30 – 40 дней после метаморфоза, эти различия становятся более заметными. Выявленные различия доказывают положительное влияние гормона андрогенной железы на рост креветок.

5. Выявлено, что гонады псевдосамок креветок *Macrobrachium rosenbergii* имеют типичные черты строения нормальных яичников. Вместе с тем, развитие гамет псевдосамок на стадии 120 дней после метаморфоза отстает от формирования яичников обычных самок, что проявляется в достоверно большем значении ядерно-плазменного отношения ооцитов периода малого роста (0,637±0,06) по сравнению с нормой (0,417±0,04). Это доказывает, что ооциты псевдосамки переходили в период протоплазматического роста позднее ооцитов нормальной самки. К окончанию гаметогенеза гонады псевдосамок практически не отличались от яичников обычных самок.

6. Установлено, что семенники у австралийских раков *Cherax quadricarinatus* начинают формироваться в возрасте 38 – 40 дней, яичник позже – в возрасте 40 – 45 дней. При повышении температуры до 30°C по сравнению с оптимальной (27°C) продолжительность эмбрионального развития раков уменьшается почти вдвое с 50 – 60 до 30 – 35 дней.

7. Доказано, что как повышение, так и снижение температуры по сравнению с оптимальной 27°C при раннем постэмбриональном развитии австралийского рака *Cherax quadricarinatus* оказывает заметное влияние на формирование пола и появление гермафродитов. Так, при температуре 30±1°C возрастает количество самцов на 9%, при этом было выявлено образование 8,4% гермафродитов.

8. Установлено образование трех типов гермафродитов австралийского рака *Cherax quadricarinatus*: мужского, женского и бисексуального. Выявлено, что у особой мужского развитие женских половых клеток не происходит. Становление гонад женского гермафродита происходит независимо от наличия семенника, и не отличается от развития репродуктивной системы самок.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Результаты проведенных исследований формирования репродуктивной системы гигантской пресноводной креветки и австралийского рака предлагаются использовать при оценке и прогнозе численности их естественных популяций, в том числе тех, которые эксплуатируются промыслом.

2. Выявленные особенности прохождения половых циклов целесообразно использовать при совершенствовании биотехники культивирования гигантской пресноводной креветки и австралийского рака в искусственных условиях.

3. Рекомендовать при товарном выращивании австралийского рака применять содержание молоди при температуре 30°C в течение первых 30 дней, что позволит увеличить долю самцов и, соответственно, товарную массу.

ОСНОВНЫЕ ПУБЛИКАЦИИ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, периодических изданиях, включенных в перечень ВАК РФ

1. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В.Н. Производство «псевдосамок» у гигантских пресноводных креветок *Macrobrachium rosenbergii* удалением андрогенной железы / Нгуен Тхи Туэт, В.Н. Крючков // Рыбное хозяйство. Вестник Астрахан. гос. техн. ун-та. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2013. – № 2. – С. 166-171.

2. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В. Н. Изменение пола гигантских пресноводных креветок *M. rosenbergii* (De Man, 1879) удалением андрогенной железы / Нгуен Тхи Туэт, В. Н. Крючков // Естественные науки. Вестник Астраханского государственного университета. – 2013. – № 3. – С. 106 – 114.

3. Нгуен Тхи Туэт. Характеристика зрелости половых желез самок австралийских раков *Cherax quadricarinatus* / Нгуен Тхи Туэт // Научный журнал «Фундаментальные исследования». – Москва: Издательский дом «Академия естествознания», 2014. – № 8 (3). – С. 641-645.

4. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В. Н. Особенности развития гонад у австралийских раков *Cherax quadricarinatus* (Von Martens, 1868) / Нгуен Тхи Туэт, В. Н. Крючков // Естественные науки. Вестник Астраханского государственного университета. – 2014. – № 2 (47). – С. 55 – 61.

5. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В.Н. Влияние температуры на развитие гонад австралийских раков *Cherax quadricarinatus* / Нгуен Тхи Туэт, В.Н. Крючков // Рыбное хозяйство. Вестник Астрахан. гос. техн. ун-та. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2014. – № 3. – С. 110-115.

Публикации в других научных изданиях

6. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В.Н. Способность изменения пола у гигантской пресноводной креветки (*Macrobrachium rosenbergii*) в аквакультуре / Нгуен Тхи Туэт В.Н. Крючков // Биология и геоэкология: Тез. докладов Международной научной конференции профессорско-преподавательского состава Астрахан. гос. техн. ун-та (57 ППС). – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2013. Режим доступа: <http://astu.org/Pages/Show/839>.

7. Ключов В.Н., Нгуен Тхи Туэт. Технология изменения пола гигантских пресноводных креветок для органической аквакультуры / В.Н. Ключов, Нгуен Тхи Туэт // Сельскохозяйственные науки и агропромышленный комплекс на рубеже веков: Сборник материалов II Международной научно-практической конференции. – Новосибирск: ООО агентство «СИБПРИНТ», 2013. – С. 92-95.

8. Нгуен Тхи Туэт. Способы изменения пола у десятиногих раков *Decapoda* (Latreille, 1802) в аквакультуре / Нгуен Тхи Туэт // Естественные и математические науки в современном мире: Сборник материала VII Международной заочной научно-практической конференции. – Новосибирск: Изд-во «СибАК», 2013. – С. 30-34.
9. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В. Н. Особенности развития половой системы у гигантских пресноводных креветок *M. rosenbergii* (De Man, 1879) // Наука и образование – 2013: Материалы международной научно – технической конференции / Техника и технология переработки гидробионтов и сельскохозяйственного сырья. Мурманск: ФГОУВПО «МГТУ», 2013. – С. 1155 – 1159.
10. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В. Н. Эффективность монокультивирования самцов десятиногих раков // Теоретические и практические проблемы развития современной науки: Сборник материалов 3-й международной науч. практ. конф. – Махачкала: ООО «Апробация», 2013. – С. 44 – 47.
11. Nguyen Thi Tuyet, Kryuchkov Victor Nickolaevich. Characteristics of the gonads of males maturing Australian crayfish *Cherax quadricarinatus* / Nguyen Thi Tuyet, Kryuchkov Victor Nickolaevich // Proceedings of the 2nd International conference on Eurasian scientific development. «East West» Association for Advanced Studies and Higher Education GmbH. Vienna (Австралия), 2014. – С. 3 – 7.
12. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В.Н., Мельник И.В. Влияние температуры на рост и изменение пола у австралийских раков *Cherax quadricarinatus* / Нгуен Тхи Туэт, В. Н. Крючков // Научный журнал-магистрант. – Краснодар, 2014. – № 5-6. – С. 4-8.
13. Нгуен Тхи Туэт, Крючков В.Н. Особенности развития половой системы у некоторых десятиногих раков (на примере *Cherax quadricarinatus* и *Macrobrachim rosenbergii*) / Нгуен Тхи Туэт В.Н. Крючков // Биология и геоэкология: Тезисы докладов Международной научной конференции профессорско-преподавательского состава Астрахан. гос. техн. ун-та (58 ППС). Астрахань: Изд-во АГТУ, 2014. Режим доступа: <http://astu.org/Pages/Show/839>

Подписано в печать 11.11.14 г. Тираж 100 экз. Заказ № 575
Типография ФГБОУ ВПО «АГТУ», тел. 61-45-23
г. Астрахань, Татищева 16ж.